HU 0002254 99 B1

(19) HU

MAGYAR KÖZTÁRSASÁG
Magyar Szabadalmi Hivatal

(11) Lajstromszám: 225 499 (13) B1

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: **P 96 02458**
(22) A bejelentés napja: **1995. 03. 03.**

(40) A közzététel napja: **1997. 09. 29.**
(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi Közlöny és Védjegyértesítőben: **2007. 01. 29.**

(51) Int. Cl.: ***C07D 261/04*** *(2006.01)*
A61K 31/42 *(2006.01)*
A61P 11/06 *(2006.01)*
C07D 261/18 *(2006.01)*
C07D 413/04 *(2006.01)*
C07F 9/653 *(2006.01)*
C07D 413/12 *(2006.01)*
C07D 261/20 *(2006.01)*
C07D 261/08 *(2006.01)*
A61P 29/00 *(2006.01)*

(86) A nemzetközi (PCT) bejelentési szám:
PCT/EP 95/00784
(87) A nemzetközi közzétételi szám: **WO 9524397**

(30) Elsőbbségi adatok:
P 44 08 084.0 1994. 03. 10. DE

(72) Feltalálók:
Schleyerbach, Rudolf, Hofheim/Taunus (DE);
Anagnostopulos, Hiristo, Wiesbaden (DE);
Schwab, Wilfried, Wiesbaden (DE);
Bartlett, Robert Ryder, Darmstadt (DE);
Weithmann, Klaus Ulrich, Hofheim/Taunus (DE)

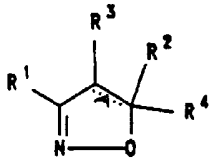
(73) Jogosult:
HOECHST Aktiengesellschaft,
Frankfurt/Main (DE)

(74) Képviselő:
Karácsonyi Béla, ADVOPATENT Szabadalmi és Védjegy Iroda, Budapest

(54) **3,5-Diszubsztituált és 3,4,5-triszubsztituált 2-izoxazolinok és -izoxazolok, eljárás előállításukra, és az ezeket tartalmazó gyógyszerkészítmények**

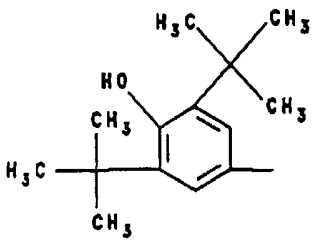
(57) Kivonat

A találmány (I) általános képletű



(I)

vegyületre és/vagy fiziológiásan elviselhető sójára és/vagy sztereoizomer formájára vonatkozik, a képletben R^1 és R^2 egyikének a jelentése



(II)

képletű csoport,
másikának a jelentése heterogyűrűs csoport, helyettesített alkil- vagy alkenilcsoport,
–A– jelentése adott esetben jelen levő kötés,
R^4 jelentése 1. hidrogénatom vagy
2. 1–6 szénatomos alkilcsoport, vagy
R^2 és R^4 együtt a szénatommal, amelyhez kapcsolódnak, egy 3, 4 vagy 5 szénatomból álló gyűrűt alkot, és
R^3 jelentése 1. hidrogénatom vagy
2. hidroxi-(1–4 szénatomos alkil)-csoport.

A vegyületek gyulladás, asztma, reumás megbetegedések, autoimmunbetegségek kezelésére alkalmas gyógyszerkészítmény előállítására használhatók.

HU 225 499 B1

A leírás terjedelme 38 oldal

A jelen találmány gyulladások, asztma, reumás megbetegedések és autoimmunbetegségek megelőzésére és/vagy kezelésére alkalmas gyógyászati készítményekre vonatkozik.

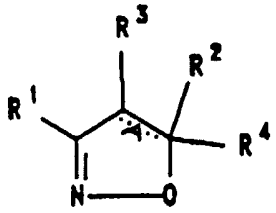
A nem szteroid gyulladásellenes gyógyszerek, például az acetil-szalicilsav és indometacin hatásmódja már ismert. Ez a ciklooxigenázenzim gátlásán alapul, amely a sok sejtben előforduló enzimek egyike, és amely a gyulladáskeltő prosztaglandinok előállításáért felelős.

Az is ismeretes, hogy az ilyen ciklooxigenázgátlók a reuma gyógyításában használhatók (EP 245 825). Időközben bebizonyosodott, hogy a prosztaglandinok a nemkívánatos hatások mellett kívánatos sejtvédő tulajdonságot is mutathatnak, például a trombocitákban, a gyomor-bélrendszerben és a vesében. Minden ciklooxigenázgátló ezért nemkívánatos mellékhatással is rendelkezik, ilyen a vérzésidő meghosszabbítása, gyomorfekély előidézése és a veseműködés gátlása.

Ezért előnyös lenne a prosztaglandinok helyett a leukotriének és a citokinek csoportjába tartozó különösen hatékony gyulladásközvetítőket, mint az interleukin 1α-t és interleukin 1β-t, az oxigéngyököket és a proteázokat képződésük elleni blokád létrehozásával gátolni.

Azt találtuk, hogy az (I) általános képletű vegyület lényegében gátlóhatást nem fejt ki a ciklooxigenázra, de a fehérvérsejtből a leukotriének, citokinek, oxigéngyökök és proteázok képződését gátolja, valamint a modellkísérletekben az asztmára, az autoimmunbetegségekre és reumás megbetegedésekre hatást gyakorol.

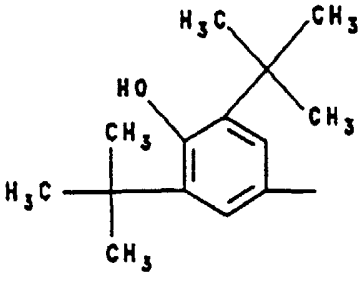
A találmány



(I)

általános képletű vegyületre és/vagy fiziológiásan elviselhető sójára és/vagy sztereoizomer formájára vonatkozik; a képletben az

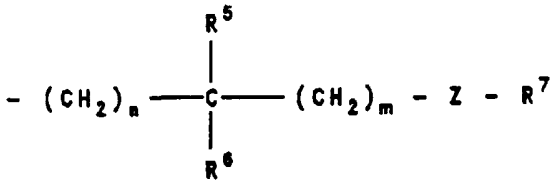
R^1 vagy R^2 csoport jelentése egy



(II)

képletű csoport, és az R^1 és R^2 csoport másikának a jelentése:

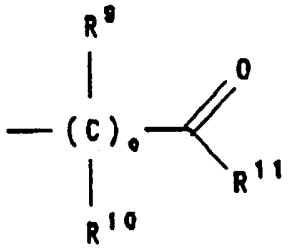
a) piridilcsoport,
b) tienilcsoport,
c) tiazolilcsoport,
d) egy



(III)

általános képletű csoport, a képletben

n értéke 0, 1, 2, 3, 4, 5 vagy 6,
m értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4,
Z jelentése 1. –O– vagy
2. –NH–,
R^5 és R^6 jelentése egymástól függetlenül
1. hidrogénatom,
2. 1–4 szénatomos alkilcsoport,
3. 2–4 szénatomos alkenilcsoport,
4. fenilcsoport vagy
5. hidroxilcsoport, és
R^7 jelentése
1. hidrogénatom,
2. aminosavmaradékként glicil-, fenil-alanil- vagy tirozincsoport,
3. trifluor-metil-szulfonil-csoport,
4. –O–P(O)$(OH)_2$ csoport,
5. fenil- vagy 1–6 szénatomos alkilcsoporttal egyszeresen vagy kétszeresen észterezett –O–P(O)$(OH)_2$ csoport, vagy
6. egy



(IV)

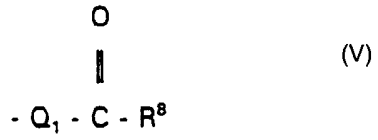
általános képletű csoport, a képletben

o értéke 0 vagy 1,
R^9 és R^{10} jelentése egymástól függetlenül
1. hidrogénatom vagy
2. 1–4 szénatomos alkilcsoport, és
R^{11} jelentése
1. hidroxilcsoport,
2. –O-(1–4 szénatomos alkil)-csoport,
3. 1–20 szénatomos alkilcsoport,
4. 1–7 szénatomos alkilcsoport, amely egymástól függetlenül
4.1 karboxilcsoporttal,
4.2 hidroxilcsoporttal,
4.3 –O-acetil-csoporttal vagy
4.4 =O csoporttal
egyszeresen vagy többszörösen helyettesített,
5. karboxilcsoport,
6. –C(=O)–O-(1–4 szénatomos alkil)-csoport,
7. karboxi-metil-amino-csoport,

8. (1–4 szénatomos alkoxi)-karbonil-metil-amino-csoport,
9. N-hidroxi-N-(1–4 szénatomos alkil)-amino-csoport,
10. N-(1H-tetrazol-5-il)-amino-csoport,
11. 5-metil-izoxazol-4-il-csoport,
12. 1-ciano-2-hidroxi-1-propenil-csoport,
13. fenilcsoport,
14. fenilcsoport, amely egy
    14.1 (1–4 szénatomos alkil)–$NR^{12}R^{13}$ általános képletű csoporttal egyszeresen vagy többszörösen helyettesített, ahol
    R^{12} és R^{13} együtt a nitrogénatommal, amelyhez kapcsolódnak, egy 5–7 tagú telített heterogyűrűt alkot, amely további heteroatomként egy kén-, oxigén- vagy nitrogénatomot tartalmaz, és adott esetben a második nitrogénatomon 1–4 szénatomos alkilcsoporttal helyettesített, vagy

R^6 és R^7 összekapcsolódik és együtt 1–3 $–CH_2–$ csoportot alkot,

e) egy



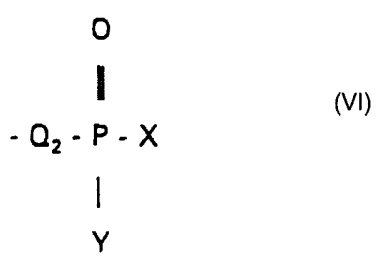
(V)

általános képletű csoport, a képletben

Q_1 jelentése
1. $–(CH_2)_m–$ általános képletű csoport, amelyben m értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4, vagy
2. –CH=CH– csoport, és

R_8 jelentése
1. hidrogénatom,
2. 1–4 szénatomos alkilcsoport,
3. hidroxilcsoport,
4. –O-(1–4 szénatomos alkil)-csoport,
5. aminocsoport,
6. N-(1H-tetrazol-5-il)-amino-csoport, vagy
7. N-(3,5-dimetil-4-hidroxi-benzil)-amino-csoport, vagy

f) egy



(VI)

általános képletű csoport, a képletben

Q_2 jelentése
1. $–(CH_2)_m–$ általános képletű csoport, amelyben m értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4, vagy
2. –CH=CH– csoport, és

X és Y jelentése egymástól függetlenül
1. 1–4 szénatomos alkilcsoport,
2. –O-(1–4 szénatomos alkil)-csoport,
3. hidroxilcsoport,

–A– jelentése adott esetben jelen levő további kötés, azzal a megszorítással, hogy A további kötés jelentése R^4 jelenlétét kizárja,

R^4 jelentése 1. hidrogénatom vagy
2. 1–6 szénatomos alkilcsoport, vagy

R^2 és R^4 együtt a szénatommal, amelyhez kapcsolódnak, egy 3, 4 vagy 5 szénatomból álló gyűrűt alkot, és

R^3 jelentése
1. hidrogénatom vagy
2. hidroxi-(1–4 szénatomos alkil)-csoport.

Az (I) általános képletű vegyületek a gyógyszerekben optikai izomerek, diaszteromerek, racemátok vagy ezek elegyeiként fordulhatnak elő. A megnevezett alkil- vagy alkanoilcsoportok egyenes vagy elágazó láncúak is lehetnek.

A jelen találmány értelmében az 5–7 tagú heterogyűrű például pirrol, piridin, azepin, tiazol, izotiazol, oxazol, izoxazol, pirazol, imidazol, tiazin, 1,2-oxazin, 1,3-oxazin, morfolin, piridazin, pirimidin, pirazin, 1,2-tiazepin, 1,3-tiazepin, 1,4-tiazepin, 1,2-oxazepin, 1,3-oxazepin, 1,4-oxazepin, 1,2-diazepin, 1,3-diazepin és 1,4-diazepin teljesen hidrogénezett formája. Különösen a pirrolidin-, piperidin-, morfolin-, piperazin- és az N-metil-piperazin-heterociklusokat említjük.

Az aminosav fogalmába a vegyületek sztereoizomer formáit, például a D-formáját és az L-formáját is beleértjük. Az L-aminosavak az előnyösek. Az aminosavmaradékok a megfelelő aminosavakból vezethetők le. Az aminosavak rövidített írása a szokásos írásmódot követi. Az aminosavcsoport egy amidkötésen keresztül kapcsolódik az –NH– csoporthoz vagy egy észtercsoporton keresztül az –O– csoporthoz. A Gly, a Phe és a Tyr aminosavcsoportok előnyösek.

Előnyös az olyan (I) általános képletű vegyület és/vagy fiziológiásan elviselhető sója és/vagy sztereoizomer formája, amelyben

R^1 vagy R^2 csoport jelentése egy (II) képletű csoport, és az R^1 és R^2 másikának a jelentése az alábbi:

a) 2-piridilcsoport,
b) 4-piridilcsoport,
c) tien-3-il-csoport,
d) 2-tiazolilcsoport,
e) egy (III) általános képletű csoport, a képletben
   n értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4,
   m értéke 0 vagy 1,
   Z jelentése 1. –O– vagy
   2. –NH–,
   R^5 és R^6 jelentése egymástól függetlenül
   1. hidrogénatom,
   2. 1–2 szénatomos alkilcsoport,
   3. fenilcsoport vagy
   4. hidroxilcsoport, vagy
   R^6 és R^7 összekapcsolódik és együtt egy metilén-csoportot alkot, vagy
   R^7 jelentése

1. hidrogénatom,
2. trifluor-metil-szulfonil-csoport,
3. glicil-, fenil-alanil- vagy tirozincsoport,
4. egy (IV) általános képletű csoport, a képletben
   o értéke 0 vagy 1,
   R^9 és R^{10} jelentése egymástól függetlenül
   1. hidrogénatom vagy
   2. metilcsoport,
   R^{11} jelentése
   1. hidroxilcsoport,
   2. –O-(1–4 szénatomos alkil)-csoport,
   3. 1–18 szénatomos alkilcsoport,
   4. 1–6 szénatomos alkilcsoport, amely egymástól függetlenül
      4.1 karboxilcsoporttal,
      4.2 hidroxilcsoporttal vagy
      4.3 –O-acetil-csoporttal egyszeresen vagy többszörösen helyettesített,
   5. karboxilcsoport,
   6. –C(=O)–O-(1–4 szénatomos alkil)-csoport;
   7. karboxi-metil-amino-csoport,
   8. (1–4 szénatomos alkoxi)-karbonil-metil-amino-csoport,
   9. N-hidroxi-N-metil-amino-csoport,
   10. N-(1H-tetrazol-5-il)-amino-csoport,
   11. 5-metil-izoxazol-4-il-csoport,
   12. 1-ciano-2-hidroxi-1-propenil-csoport vagy
   13. fenilcsoport, amely
      13.1 4-(4-morfolino-metil)-csoporttal egyszeresen helyettesített,

f) egy (V) általános képletű csoport, amelyben
   Q_1 jelentése
   1. $-(CH_2)_m-$ általános képletű csoport, amelyben m értéke 0, 1 vagy 2, vagy
   2. –CH=CH– csoport, és
   R^8 jelentése
   1. hidrogénatom,
   2. metilcsoport,
   3. hidroxilcsoport,
   4. –O-(1–2 szénatomos alkil)-csoport,
   5. aminocsoport,
   6. N-(1H-tetrazol-5-il)-amino-csoport vagy
   7. N-(3,5-dimetil-4-hidroxi-benzil)-amino-csoport, vagy
g) egy (VI) általános képletű csoport, amelyben
   Q_2 jelentése
   1. $-(CH_2)_m-$ általános képletű csoport, amelyben m értéke 0, 1 vagy 2,
   2. –CH=CH– csoport, és
   X és Y jelentése egymástól függetlenül
   1. metilcsoport,
   2. –O-(1–2 szénatomos alkil)-csoport,
   3. hidroxilcsoport,

–A– jelentése adott esetben jelen levő további kötés, azzal a megszorítással, hogy A további kötés jelentése R^4 jelenlétét kizárja,

R^4 jelentése 1. hidrogénatom vagy
2. 1–2 szénatomos alkilcsoport, vagy

R^2 és R^4 együtt a szénatommal, amelyhez kapcsolódnak, egy 3, 4 vagy 5 szénatomból álló gyűrűt alkot, és

R^3 jelentése
1. hidrogénatom,
2. metilcsoport vagy
3. hidroxi-metil-csoport.

Különösen előnyös egy olyan (I) általános képletű vegyület, és/vagy fiziológiásan elviselhető sója és/vagy sztereoizomer formája, ahol a képletben az
R^1 vagy R^2 csoport jelentése egy (II) képletű csoport, és az R^1 és R^2 csoport másikának a jelentése az alábbi:

a) 2-piridilcsoport,
b) 4-piridilcsoport,
c) tien-3-il-csoport,
d) 2-tiazolilcsoport,
e) egy (III) általános képletű csoport, a képletben
   n értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4,
   m értéke 0 vagy 1,
   Z jelentése 1. –O– vagy
   2. –NH–,
   R^5 és R^6 jelentése egymástól függetlenül
   1. hidrogénatom,
   2. 1–2 szénatomos alkilcsoport vagy
   3. fenilcsoport, vagy
   R^6 és R^7 összekapcsolódik és együtt egy metilén-csoportot alkot, vagy
   R^7 jelentése
   1. hidrogénatom,
   2. trifluor-metil-szulfonil-csoport,
   3. glicil- vagy fenil-alanil-csoport, vagy
   4. egy (IV) általános képletű csoport, a képletben
      o értéke 0 vagy 1,
      R^9 és R^{10} jelentése egymástól függetlenül
      1. hidrogénatom vagy
      2. metilcsoport,
      R^{11} jelentése
      1. hidroxilcsoport,
      2. –O-metil- vagy –O-etil-csoport,
      3. 1–18 szénatomos alkilcsoport,
      4. 1–6 szénatomos alkilcsoport, amely egymástól függetlenül
         4.1 karboxilcsoporttal,
         4.2 hidroxilcsoporttal vagy
         4.3 –O-acetil-csoporttal egyszeresen vagy többszörösen helyettesített,
      5. karboxilcsoport,
      6. –C(=O)–O-(1–2 szénatomos alkil)-csoport,
      7. karboxi-metil-amino-csoport,
      8. (1–4 szénatomos alkoxi)-karbonil-metil-amino-csoport,
      9. N-hidroxi-N-metil-amino-csoport,
      10. N-(1H-tetrazol-5-il)-amino-csoport,
      11. 5-metil-izoxazol-4-il-csoport,
      12. 1-ciano-2-hidroxi-1-propenil-csoport,

f) egy (V) általános képletű csoport, amelyben
Q_1 jelentése
1. $-(CH_2)_m-$ általános képletű csoport, amelyben m értéke 0, 1 vagy 2, vagy
2. –CH=CH– csoport, és
R^8 jelentése
1. hidrogénatom,
2. metilcsoport,
3. hidroxilcsoport,
4. –O-metil-csoport,
5. aminocsoport,
6. N-(1H-tetrazol-5-il)-amino-csoport vagy
7. N-(3,5-dimetil-4-hidroxi-benzil)-amino-csoport, vagy

g) egy (VI) általános képletű csoport, amelyben
Q_2 jelentése
1. $-(CH_2)_m-$ általános képletű csoport, amelyben m értéke 0 vagy 2, vagy
2. –CH=CH– csoport, és
X és Y jelentése egymástól függetlenül
1. metilcsoport,
2. –O-(1–2 szénatomos alkil)-csoport vagy
3. hidroxilcsoport,

–A– jelentése adott esetben jelen levő további kötés, azzal a megszorítással, hogy A további kötés jelentése R^4 jelenlétét kizárja,

R^4 jelentése 1. hidrogénatom vagy
2. metilcsoport, vagy

R^2 és R^4 együtt a szénatommal, amelyhez kapcsolódnak, egy 3, 4 vagy 5 szénatomból álló gyűrűt alkot, és

R^3 jelentése
1. hidrogénatom vagy
2. hidroxi-metil-csoport.

Egészen különösen előnyösek az 1. táblázatban szerkezeti képlettel megadott vegyületek.

A találmány szerinti (I) általános képletű 2-izoxazolin- vagy 2-izoxazolvegyületet és/vagy fiziológiásan elviselhető sóját és/vagy sztereoizomer formáját a következőkben leírt módon állíthatjuk elő:

a) egy primer nitrovegyületből izocianáttal és katalitikus mennyiségű trietil-aminnal, vagy egy megfelelő aldoxim klórozásával kapott hidroxámsav-kloridból egy szerves vagy szervetlen bázissal a megfelelő nitril-oxidot állítjuk elő, és ezt a közbenső nitril-oxidot tisztítás nélkül egy megfelelően helyettesített olefinnel vagy alkinnal 1,3-dipoláris cikloaddícióval egy (I) általános képletű 2-izoxazolinná vagy -izoxazollá alakítjuk, és a keletkezett terméket adott esetben kristályosítással vagy kromatográfiásan tisztítjuk, vagy

b) egy a) vagy o) eljárással előállított (I) általános képletű karbonsav-észtert vagy egy h) vagy k) eljárással utólagosan bevezetett észtercsoportot karbonsavvá hidrolizálunk, vagy

c) egy a) vagy o) eljárással előállított (I) általános képletű karbonsav-alkil-észtert, egy megfelelően helyettesített primer vagy szekunder aminnal a megfelelő amiddá alakítunk, vagy

d) egy a) vagy o) eljárással előállított (I) általános képletű foszfinsav-monoalkil- vagy foszfonsav-dialkil-észtert foszfonsav-félészterré, foszfonsavvá vagy foszfinsavvá hidrolizálunk,

e) egy b) eljárással előállított karbonsavat aktivált savszármazékká alakítunk, majd alkohollal észterezünk vagy primer vagy szekunder aminnal amiddá vagy egy N-alkilezett hidroxil-aminnal a megfelelő hidroxil-amiddá alakítunk, vagy

f) egy a), b), h), e), o) vagy g) eljárásban közbenső termékként kapott vegyületbe bevezetett vagy magával hozott N- vagy O-védőcsoportot lehasítunk, vagy egy bevezetett vagy magával hozott karbonsav-, foszfinsav-, foszfonsav- vagy foszforsav-észtert elszappanosítunk, és így egy (I) általános képletű vegyületet kapunk, vagy

g) egy f) vagy o) eljárással kapott, szabad aminocsoportot tartalmazó vegyületet izocianáttal reagáltatva a megfejelő karbamidszármazékká, vagy egy aktivált karbonsavszármazékkal vagy egy N-védett aminosavval a megfelelő amiddá, vagy egy szulfonsav-kloriddal a megfelelő szulfonamiddá alakítunk,

h) egy a), o) vagy f) eljárással kapott, szabad alkoholcsoportot tartalmazó vegyületet izocianáttal a megfelelő uretánná, vagy egy a karboxilcsoportján aktivált, adott esetben további funkciós csoportokat hordozó karbonsavszármazékkal vagy egy megfelelő N-védett aminosavszármazékkal a megfelelő észterré, vagy diketénnel a megfelelő 3-oxo-butiráttá, vagy egy halogénvegyülettel, például α-halogén-karbonsavval a megfelelő éterré alakítunk, vagy

i) egy a), o) vagy f) eljárással kapott, primer vagy szekunder alkoholcsoportot tartalmazó vegyületet a megfelelő aldehiddé vagy ketonná oxidálunk, vagy

k) egy i) eljárással előállított karbonilvegyületet egy bázissal és dialkil-foszfono-ecetsav-észterrel a megfelelő krotonsavszármazékká, vagy tetraalkil-metilén-difoszfonáttal a megfelelő transz-2-(dialkoxi-foszfono)-vinil-származékká alakítunk, vagy

l) egy, a cikloaddíció során bevezetett epoxidcsoportot a megfelelő 1,2-diollá alakítunk,

m) egy g) eljárással előállított amidot, amely 3H-izoxazol-gyűrűt tartalmaz, egy bázissal kezelve, gyűrűnyílás révén a megfelelő helyettesített 2-ciano-3-hidroxi-krotonsavamiddá alakítunk, vagy

n) egy a)–m) eljárással előállított, (I) általános képletű vegyületet, amely a kémiai szerkezete következtében enantiomer formában fordul elő, enantiomertiszta savval vagy bázissal történő sóképzéssel, királis állófázison végzett kromatografálással vagy királis enantiomertiszta vegyületekkel, így aminosavakkal történő származékká alakítással, az ily módon kapott diasztereomerek elválasztásával, és a királis segédcsoport lehasításával tiszta enantiomerrekre választunk szét, vagy

o) egy királis vagy racém olefinből cikloaddícióval kapott (I) általános képletű 2-izoxazolin-diasztereomerelegyet oszlopkromatográfiás úton szilikagél adszorbensen tiszta diasztereomerekre választunk szét, vagy

p) az a)–o) eljárással előállított (I) általános képletű vegyületet vagy tiszta izomer formájában elkülönítjük, vagy savas vagy bázisos csoportok jelenléte esetében

adott esetben fiziológiásan elviselhető sóvá alakítjuk, vagy

q) egy h) eljárással előállított vegyületet, amely egy további funkciós csoportot tartalmaz, például halogén-metil-csoportot hordoz, egy primer vagy szekunder aminnal aminálunk vagy egy alkohollal éterezünk.

A fiziológiásan elviselhető sókat, a sóképzésre hajlamos (I) általános képletű vegyületből, ezen belül annak sztereoizomer formáiból, önmagában ismert módon állítjuk elő. A karbonsavak, foszfonsavak és foszfinsavak, valamint, a foszfonsav-félészterek bázikus reagenssel, így hidroxidokkal, karbonátokkal, hidrogén-karbonátokkal, alkoholátokkal, valamint ammóniával vagy szerves bázisokkal, például trimetil- vagy trietil-aminnal, etanol-aminnal vagy bázikus aminosavakkal, például lizinnel, ornitinnel vagy argininnel stabil alkáli-, alkáliföldfém- vagy adott esetben helyettesített ammóniumsókat képeznek. Amennyiben az (I) általános képletű vegyületek az R^1 vagy R^2 csoportban bázikus csoportot tartalmaznak, erős savakkal szintén stabil savaddíciós sókat alkotnak. Erre a célra a szervetlen és szerves savak, így a hidrogén-klorid, hidrogén-bromid, kénsav, foszforsav, metánszulfonsav, benzolszulfonsav, p-toluolszulfonsav, 4-bróm-benzolszulfonsav, ciklohexil-amido-szulfonsav, trifluor-metil-szulfonsav, ecetsav, oxálsav, borkősav vagy trifluor-ecetsav jön szóba.

Az 1,3-dipoláris cikloaddícióhoz kiindulási anyagként használt nitril-oxid előállítását és reagáltatását egy aktuális monográfiában írják le (K. P. G. Torsell: Nitrile Oxides, Nitrones and Nitronates in Organic Synthesis, VCH Veriagsgesellschaft, Weinheim, 1988). Az előző lépéshez szükséges hidroxamoil-halogenideket az irodalomból ismert eljárással, a megfelelő aldoxim halogénezésével, vagy a klór-oximino-ecetsav-észterek esetében egy glicin-alkil-észter diazotálásos reakcióján keresztül állíthatjuk elő [G. S. Skinner, J. Am. Chem. Soc. 64 (1924), 731]. Amikor az aldoxim klórozására terc-butil-hipokloritot használunk, a megfelelő hidroxamoil-klorid elkülönítésétől eltekinthetünk. A szintén alkalmazott nitrovegyületek részben az irodalomból ismertek, részben az irodalomban elvileg leírt módszerekkel előállíthatók, például a 4-nitro-vajsav-észtert nitro-metánnak akrilsavszármazékra történő fluorid- vagy báziskatalizált addíciójával kaphatjuk (D. W. Chasar, Synthesis 1982, 841–42; N. Ono, Synthesis 1984, 226–227). Ha bázisként 1,8-diaza-biciklo[5.4.0]undec-7-ént (DBU) használunk, és a reakciót speciális módon vezetjük, az irodalomból ismert hozamot lényegesen megjavíthatjuk, valamint a rendszerint nehezen elválasztható melléktermékként megjelenő biszaddukt keletkezését is messzemenően gátoljuk.

A továbbiakban reakciópartnerként szolgáló adott esetben helyettesített alkén- vagy alkinszármazékok többnyire az irodalomból ismertek vagy meg is vásárolhatók. A megfelelő útmutatásokat a példáknál adjuk meg. A könnyen oligomerizálódó nitril-oxidot, előnyösen „in situ", az olefin vagy acetilén reakciópartner jelenlétében állítjuk elő, közbenső elkülönítés nélkül. Amikor az előállítás nitrovegyületből Mukaiyama szerint történik, a dehidratáláshoz előnyösen aromás izocianátot, például fenil-izocianátot vagy diizocianátobenzolt használunk. Emellett ajánlatos egy, a reakciópartnerrel szemben közömbös aprotikus oldószerben vagy eloszlatószerben dolgozni, ilyen az etil-acetát, dimetil-formamid, dimetil-acetamid, dialkil-éter, tetrahidrofurán, halogénezett szénhidrogének, például a metilén-diklorid, kloroform vagy diklór-etán, szénhidrogének, mint a hexán, ciklohexán, benzol, toluol vagy más helyettesített aromás vegyület, emellett azonban az említett oldószerek elegyei is szóba jönnek. A nitril-oxidnak hidroxamoil-halogenidből történő előállításához szerves vagy szervetlen bázisokat, így tercier aminokat, alkáli-karbonátokat vagy -hidroxidokat használunk. Szerves bázisok alkalmazása esetén előnyösen az előzőekben említett, adott esetben halogénezett alifás vagy aromás szénhidrogénekben vagy alifás vagy gyűrűs éterekben, és szervetlen bázisok használatakor kétfázisú oldószerelegyekben, például etil-acetát/víz vagy metilén-diklorid/víz elegyben is dolgozhatunk. A nitril-oxid előállítását és a cikloaddíciót rendszerint –2 °C és +80 °C közötti, előnyösen azonban mégis 0 °C és +50 °C közötti hőmérsékleten végezzük.

A cikloaddíció során magával vitt vagy a további reakcióban később bevezetett alkil-észtert a megfelelő karbonsavvá rendszerint vizes alkálival, amelyet ekvimoláris mennyiségben vagy feleslegben alkalmazunk, vizes oldatban, vagy amennyiben az addukt vízben rosszul oldódik, vizes-szerves oldószerelegyben szappanosítjuk el, ahol a víz-alkohol elegy különösen jól bevált.

Az (I) általános képletű vegyületben az R^1 vagy R^2 helyettesítőben magával vitt amino-, alkohol- vagy karbonsav-védőcsoportok eltávolítása főként a peptidkémiában ismert módszerekkel történik, például az előnyösen alkalmazott terc-butoxi-karbonil-csoport esetében egy savas, például alkoholos hidrogén-kloriddal vagy trifluor-ecetsavval végzett hasítás különösen előnyben részesül, míg a kevés szénatomos alkil-észtert előnyösen alkáli segítségével hasítjuk. A foszfonsav- és foszfinsav-észtert a megfelelő szabad savvá körülmények között, előnyösen vízmentes közegben, például hidrogén-bromiddal szerves savban, így ecetsavban alakítjuk át, vagy trimetil-bróm-szilánt vagy trimetil-jód-szilánt alkalmazunk aprotikus oldószerben, amihez előnyösen halogénezett szénhidrogént adunk. A reakció-hőmérsékletet kíméletes hasítás esetén előnyösen 0 °C és 50 °C között választjuk. A foszfonsav-félészter előállítására a foszfonsav-diésztert rendszerint alkalikus hidrolízisnek vetjük alá.

Az olyan (I) általános képletű vegyületeket, amelyekben az R^1 vagy R^2 csoport szabad karbonsavcsoportot tartalmaz, a karboxilcsoport megfelelő aktiválása után primer és szekunder aminokkal, valamint N-alkilezett hidroxil-aminnal vagy 5-amino-tetrazollal önmagában ismert módon a megfelelő amidokká alakíthatjuk.

Az R^1 vagy R^2 csoportban szabad alkohol- vagy aminocsoportot tartalmazó (I) általános képletű vegyületek aktivált savszármazékokkal, így savhalogenidekkel vagy -anhidridekkel a megfelelő észter- vagy amid-

származékká alakíthatók. N-védett aminosavakból kiindulva a megfelelő észterek és amidok is megkaphatók. Az aminosavkomponens aktiválására ebben az esetben előnyösen a peptidkémiából ismert eljárásokat, például a hidroxi-benzotriazol/diciklohexil-karbodiimid módszert [W. König, R. Geiger, Chem. Ber. 103 (1970), 2034–2040] vagy a propán-foszfonsavanhidrid (PPA) segítségével történő aktiválást használhatjuk, ekkor oldószerként az alifás és gyűrűs éterek mellett a klórozott szénhidrogének, valamint a dimetil-formamid is alkalmazásra kerülhet. Segédbázisként tercier aminok, így a trietil-amin, az N-etil-morfolin vagy a piridin előnyös. A reakciót –10 °C és +50 °C közötti, előnyösen 0 °C és +20 °C közötti hőmérsékleten végezzük.

Amennyiben a védett formában levő acilszármazékot szabad amino- vagy karbonsavcsoportot tartalmazó formává kívánjuk alakítani, a megfelelő védőcsoportokat egyenként vagy együtt, a fentebb már leírt módon eltávolíthatjuk.

Azokból az (I) általános képletű vegyületekből, amelyek az R^1 vagy R^2 csoportban szabad alkohol- vagy aminocsoportot tartalmaznak, egy megfelelően helyettesített izocianátra történő addícióval uretán- vagy karbamidszármazékot állíthatunk elő. Az adott esetben az izocianátaddíció során magával vitt vagy további funkciós csoportként bevezetett észtercsoportokat, amint azt az előzőekben leírtuk, a megfelelő karbonsavcsoporttá alakíthatjuk.

A primer vagy szekunder alkoholcsoportot tartalmazó vegyületeket egyszerű módon, „Swern-oxidáció"-ként ismert eljárással, dimetil-szulfoxiddal és oxalil-kloriddal a megfelelő aldehiddé vagy ketonná oxidálhatjuk. Ebben az esetben megfelelő reakcióvezetéssel, alacsonyabb hőmérsékleten a mellékreakciókat, így a fenolgyűrű oxidálódását vagy a 2-izoxazolingyűrű lebomlását elkerülhetjük. Az így kapott karbonilvegyületeket bázissal és CH-savas vegyületekkel, így dialkil-foszfono-ecetsav-alkil-észterekkel vagy tetraalkil-metilén-difoszfonáttal kondenzáció révén a megfelelő helyettesített transz-olefinné alakíthatjuk.

Amikor az (I) általános képletű vegyületek diasztereoizomer vagy enantiomer formában fordulnak elő, és a kiválasztott szintézissel ezek elegyeit kapjuk, a tiszta sztereoizomerekre történő szétválasztást egy adott esetben királis hordozóanyagon végzett komatografálással, vagy amennyiben a racém (I) általános képletű vegyület sóképzésre hajlamos, egy optikailag aktív bázissal vagy savval, mint segédanyaggal képezett diasztereomer sók frakcionált kristályosításával valósíthatjuk meg. A rendszerint racém formában képződő, az 5-helyzetben aszimmetriás szénatommal rendelkező 2-izoxazolinenantiomerek vékonyréteg- vagy oszlopkromatográfiás elválasztásához királis állófázisként például módosított szilikagél hordozók (úgynevezett Pirkle-fázisok), valamint nagy molekulájú szénhidrátok, például triacetil-cellulóz alkalmazható. Analitikai célokra a megfelelő, a szakember által ismert származékképzés, valamint gázkromatográfiás módszerek, királis állófázison, szintén alkalmazhatók. A racém karbonsavak, foszfonsavak és foszfinsavak enantiomerjeinek elválasztására egy optikailag aktív, rendszerint a kereskedelemben kapható bázist, például (–)nikotint, (+)- és (–)-fenil-etil-amint, kininbázisokat, L-lizint vagy L- és D-arginint használhatunk, amelyek különböző oldhatóságú diasztereomer sókat képeznek, a nehezebben oldódó komponenst szilárd anyagként elkülönítjük, a könnyebben oldódó diasztereomert az anyalúgból kicsapjuk, és az így nyert diasztereomer sókból a tiszta enantiomert kinyerjük.

Elvileg hasonló módon alakíthatjuk tiszta enantiomerekké az olyan racém (I) általános képletű vegyületeket is, amelyek bázikus, például aminocsoportot tartalmaznak, ehhez optikailag aktív savakat, így (+)-kámfor-10-szulfonsavat, Dés L-borkősavat, D- és L-tejsavat vagy (+)- és (–)mandulasavat használunk. Olyan királis vegyületeket, amelyek alkohol- vagy aminocsoportot tartalmaznak, megfelelő aktivált vagy adott esetben N-védett enantiomertiszta aminosavakkal a megfelelő észterré vagy amiddá, vagy fordítva, királis karbonsavakat karboxilcsoporton védett enantiomertiszta aminosavakkal amiddá, vagy enantiomertiszta hidroxi-karbonsavakkal, például tejsavval, a megfelelő királis észterré alakíthatunk. Ezután az enantiomertiszta formába hozott aminosav- vagy alkoholmaradékokban levő királitást az izomerek elválasztására használhatjuk, amikor is a most már jelen levő diasztereomereket kristályosítással vagy megfelelő állófázison történő kromatografálással elválasztjuk, és azután a királis molekularészt alkalmas módszerekkel ismét lehasítjuk.

A találmány gyógyszerkészítményre is vonatkozik, amelyre jellemző, hogy legalább egy (I) általános képletű vegyület és/vagy egy sztereoizomer formában levő (I) általános képletű vegyület és/vagy egy (I) általános képletű vegyület fiziológiásan elviselhető sójának hatásos mennyiségét gyógyászatilag megfelelő és fiziológiásan elviselhető hordozóanyagokkal, adalék anyagokkal és/vagy ható- és segédanyagokkal együtt tartalmazza. A találmány szerinti gyógyszerkészítmény intravénásan, parenterálisan, topikálisan, rektálisan vagy orálisan adagolható.

A találmány szerinti gyógyszerkészítmény előnyösen asztmatikus megbetegedések, gyulladások és autoimmunbetegségek megelőzésére és/vagy kezelésére alkalmas.

Idetartoznak például a reumatikus megbetegedések, az izom, ízület vagy gyomor-bél traktus akut és krónikus gyulladásai, allergiás légúti megbetegedések, a pszoriázis vagy autoimmunbetegségek, például szisztémás lupus erythematosus (SLE), II típusú cukorbaj, myasthenia gravis, Sjögren-szindróma, dermatomyositis, sclerodermia vagy a sclerosis multiplex (MS).

A találmány egy találmány szerinti gyógyszerkészítmény előállítására alkalmas eljárást is magában foglal, amelyre jellemző, hogy legalább egy (I) általános képletű vegyületet gyógyászatilag alkalmas és fiziológiásan elviselhető hordozóval és adott esetben alkalmas ható-, adalék vagy segédanyaggal megfelelő adagolási formává alakítunk.

Megfelelő szilárd vagy folyékony galenikus készítményformák például a granulátum, por, drazsé, tabletta,

(mikro)kapszula, kúp, szirup, ivólé, szuszpenzió, emulzió, csepp vagy injektálható oldat, valamint a késleltetett hatóanyag-leadású formák, amelyek előállításához szokásos segédanyagokat, így hordozó-, szétesést elősegítő, kötő-, bevonó-, duzzasztó-, síkosító- vagy kenőanyagokat, aromaanyagokat, édesítőszert és oldáskönnyítőszert alkalmazunk. Gyakran használt segédanyagként például a magnézium-karbonátot, titán-dioxidot, laktózt, mannitot és más cukrot, talkumot, tejfehérjét, zselatint, keményítőket, cellulózt és származékait, állati és növényi olajokat, így a csukamájolajat, a napraforgó-, földimogyoró- vagy szezámoljat, a polietilénglikolt és az oldószert, így a steril vizet és az egy- vagy többértékű alkoholt, például a glicerint említjük.

A gyógyászati készítményeket előnyösen dózisegységekben állítjuk elő és adagoljuk, ahol minden egység hatóanyagként a találmány szerinti (I) általános képletű vegyület egy meghatározott dózisát tartalmazza. A szilárd dózisegyégek, így tabletták, kapszulák, drazsék vagy kúpok esetében ez a dózis 1000 mg is lehet, előnyösen azonban 50 és 300 mg közötti, és az ampulla formájú injekciós oldatok esetében 300 mg, előnyösen azonban 10 és 100 mg közötti.

Egy kb. 70 kg testtömegű beteg kezelésére – az (I) általános képletű vegyület hatékonyságától függően – ember és állat esetében a napi dózis kb. 50–3000 mg hatóanyag, előnyösen mintegy 150–1000 mg, orális adagolás esetén, és mintegy 50–1000 mg, előnyösen mintegy 100–300 mg intravénás alkalmazáskor. Esetenként azonban ennél nagyobb és kisebb napi dózist is alkalmazhatunk. A napi dózist egy alkalommal, egyetlen dózisegység formájában vagy több kisebb dózisegységben, valamint több részre osztott dózis formájában, meghatározott időközönként adagolhatjuk. Végül az (I) általános képletű vegyületeket és/vagy adott esetben fiziológiásan elviselhető sóikat az előbb említett, galenikus adagolási formák előállításakor más alkalmas hatóanyagokkal, például vérkeringés-javító szerrel, vérlemezkeaggregáció-gátlóval, trombocitaaggregáció-gátlóval, kalciumantagonista, trombózisellenes, hiperlipidémiaellenes, idegvédő, analgetikus, szedatív, depresszióellenes, gyulladásellenes, anginaellenes hatású szerekkel, kardiotóniás, aritmiaellenes, diuretikus, magasvérnyomás-ellenes, ezen belül β-receptor- és kalciumblokkoló hatású anyagokkal, plazmaexpanderrel és más érgyógyászati szerekkel együtt formálhatjuk.

A következőkben leírt példák szerint előállított vegyületek szerkezeti képleteit az olvadásponttal és az ^{1}H–NMR-spektrum-adatokkal együtt az 1. táblázatban foglaltuk össze. A sztereoizomer formák bemutatásakor a szerkezetben a relatív kongifurációt tüntettük fel. Az NMR-spektrumban szereplő δ-értékeket ppm-ben adtuk meg.

1. példa

4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil-5-(hidroximetil)-2-izoxazolin

a) 4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-benzaldoxim

Az oximot 4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-benzaldehidből kiindulva, az irodalomból ismert eljárással (Houben–Weyl: Meth. d. Org. Chem., Rd X/4, 55 S f) állítjuk elő.

b) 1,3-Dipoláris cikloaddíció nitril-oxiddal

24,9 g (0,1 mol) a) lépésben előállított aldoximot 250 ml metilén-dikloridban oldunk, az oldathoz hűtés közben 12,0 g (0,11 mol) terc-butil-hipokloritot csepegtetünk, és az adagolás befejezése után a keverést még szobahőmérsékleten 45 percig folytatjuk. Ezután lassan, 6 óra alatt 11,6 g (0,2 mol) allil-alkoholt, majd 150 ml metilén-dikloridban oldott 16,7 ml (0,12 mol) trietil-amint adunk cseppenként az elegyhez, amelyet ezt követően egy éjszakán át keverünk, vízzel, híg vizes citromsavoldattal és nátrium-klorid-oldattal mosunk, nátrium-szulfáton szárítunk és csökkentett nyomáson bepárolunk. A terméket terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk, így 13,1 g kristályos anyagot kapunk.

A következő 1. táblázatban leírt példák közül a 2., 5., 8., 9., 10., 11., 12., 13., 14., 15., 16., 17., 18., 19., 20., 21., 22., 23., 24., 25., 26., 27., 28., 28., 30., 31., 32., 35., 44., 48., 66., 67., 68., 69., 78., 79. és a 80. példa szerinti vegyületet az 1. példához hasonló módon, az in situ előállított nitril-oxidnak a megfelelő olefinre vagy alkinre történő cikloaddíciójával állítjuk elő.

Az olajosan kiváló nyerstermékeknél a szilikagélen terc-butil-metil-éter és petroléter vagy etil-acetát és petroléter elegyével történő kromatografálás és az azt követő kristályosítás vált be.

Az 1. táblázatban felsorolt példák szerinti vegyületek szintézisével kapcsolatos sajátosságok:

2. példa

Az olefinkomponens szintézisét az EP 0220573 szabadalmi leírásban ismertetik.

8. példa

3-Vinil-tiofén: CAS-Nr. 13679-64-6

11. példa

Cikloaddíció akrilsav-metil-észterre. Az amiddá alakítás telített metanolos ammóniaoldat feleslegével, szobahőmérsékleten történik.

14. példa

Cikloaddíció N-(3,5-dimetil-4-hidroxi-benzil)-metakrilamidra (a szintézist a 3820899 számú német szabadalmi leírásban ismertetik).

15. példa

Mivel a cikloaddíció nem sztereoszelektív, a termék diasztereomerelegy formájában képződik.

16–17. példák

A butadién-monoxidra történő cikloaddíció eredményeként keletkező racém eritro/treo diasztereomerelegyet szilikagélen kromatográfiásan, petroléter és etil-acetát 9:1 térfogatarányú elegyével eluálva és azután kristályosítással választjuk szét a disztereomerekre (16. példa: racém eritroizomer, 17. példa racém treoizomer).

18–20. példák

A butén-3-olra történő cikloaddíció során keletkezett racém eritro/treo diasztereomerelegyet (18. példa) szilikagélen kromatografálva, eluálószerként petroléter és terc-butil-metil-éter 5:1 térfogatarányú elegyét használva választjuk szét diasztereomerekre (19. példa: racém eritroizomer, 20. példa racém treoizomer).

21–22. példák

Az 1-butén-3-ol-acetátra történő cikloaddíció során keletkező racém eritro/treo diasztereomerelegyet szilikagélen kromatográfiásan, petroléter és etil-acetát 19:1 térfogatarányú elegyével eluálva választjuk szét diasztereomerekre (21. példa: racém eritroizomer, 22. példa: racém treoizomer).

23. példa

A cikloaddíciót akrilsav-terc-butil-észterrel végezzük. A terc-butil-észter-csoportot trifluor-ecetsavval, metilén-dikloridban, szobahőmérsékleten hasítjuk le. A terméket bepárlás után terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk.

35. példa

A szintézis alkinkomponensét az EP 0220573 számú európai szabadalmi leírásban ismertetik.

48. példa

A cikloaddíciót N-(terc-butoxi-karbonil)-propargil-aminnal végezzük. Az N-védőcsoportot azután trifluor-ecetsavval hasítjuk le. A terméket trifluor-acetát formájában metanol és terc-butil-metil-éter elegyéből kristályosan kapjuk. A szabad bázishoz úgy jutunk, hogy a híg vizes nátrium-hidroxid-oldatból metilén-dikloriddal extraháljuk, a szerves fázist szárítjuk és bepároljuk.

78. példa

A cikloaddíciót 6-heptén-2,4-diollal végezzük. A termékek terc-butil-metil-éter és petroléter elegyével eluálva szilikagélen kromatografáljuk, és azután a fenti oldószerből többszöri átkristályosítással az NMR-spektrum alapján izomertiszta terméket kapunk.

79. és 80. példa

A cikloaddíciót feleslegben vett 1,6-heptadién-4-ollal végezzük az 1. példában leírthoz hasonló módon. A diasztereoizomereket szilikagél adszorbensen kromatográfiásan, petroléter és etil-acetát 6:1-től 2:1 térfogatarányig változó összetételű gradienselegyével eluálva választjuk el. A treo/eritro izomerek hozzárendelése az NMR-spektrum alapján nem lehetséges.

3. példa

2-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-5-il-metoxi}-metil-propionsav

4,0 g (0,0095 mol) 2. példa szerinti terméket 80 ml metanolban oldunk, az oldathoz 25 ml 1 n vizes nátrium-hidroxid-oldatot adunk, és az elegyet az elszappanosítás befejezése után (vékonyréteg-kromatográfiás ellenőrzés) 25 ml 1 n sósavval megsavanyítjuk. A kivált terméket szűrjük, vízzel mossuk és szárítjuk. Hozam: 3,0 g.

4. példa

N-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-5-il-metoxi-karbonil}-glicin

a) Reagáltatás izocianáttal

5,5 g (0,018 mol) 1. példa szerinti terméket 5 ml metilén-dikloridban oldunk, az oldathoz 3,2 g (0,025 mol) etil-izociano-acetátot és kb. 4 csepp trietil-amint adunk, majd az elegyet keverés közben 50–60 °C-on melegítjük. A reakció befejeződése után (vékonyréteg-kromatográfiás ellenőrzés) az elegyet bepároljuk, és szilikagélen terc-butil-metil-éter és petroléter elegyével eluálva kromatografáljuk. Hozam: 7,2 g olajos termék.

b) Az etil-észter elszappanosítása

A 7,2 g a) lépés szerinti terméket a 3. példában leírt módon, feleslegben vett 1 n nátrium-hidroxid-oldattal elszappanosítjuk, és az elegy savanyítása után kristályos formában elkülönítjük. Hozam: 4,56 g.

6. példa

3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-5-il-foszfonsav

5,0 g (0,013 mol) 5. példa szerinti terméket szobahőmérsékleten kb. 100 ml 33%-os jégecetes hidrogén-bromid-oldattal kezelünk a reakció teljes végbemeneteléig (vékonyréteg-kromatográfiás ellenőrzés). A bepárlás után kapott maradékot terc-butil-metil-éterrel kikeverjük. Hozam: 3,15 g.

7. példa

3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-5-il-foszfonsav-monometil-észter

5,0 g (0,013 mol) 5. példa szerinti terméket szobahőmérsékleten 100 ml metanolban oldunk, az oldathoz 30 ml 1 n nátrium-hidroxid-oldatot adunk, és az elegyet 15 órán át keverjük (vékonyréteg-kromatográfiás ellenőrzés). 1 n sósavval történő savanyítás után metilén-dikloriddal extraháljuk, vízzel és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A maradékot terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk. Hozam: 3,4 g.

21. és 22. példa (alternatív szintézis)

Ecetsav-1-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-5-il}-etil-észter (eritro-, illetve treoizomer)

2,5 g (0,008 mol) 19. vagy 20. példa szerinti terméket 100 ml metilén-dikloridban és 6 ml piridinben oldunk. Az oldathoz 125 mg 4-(dimetil-amino)-piridint adunk, és jeges hűtés közben 1,35 ml (0,024 mol) acetil-kloridot csepegtetünk 10 ml metilén-dikloriddal készült oldat formájában. A reakció befejeződése után (vékonyréteg-kromatográfiás ellenőrzés) az elegyet vízzel, vizes kálium-hidrogén-szulfát-oldattal és vízzel mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A visszamaradó olajat terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk.

33. példa

{1-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-5-il}-1-metil-etoxi}-ecetsav-etil-észter

10,0 g (0,03 mol) 29. példa szerinti terméket 40 ml abszolút dimetil-formamidban oldunk, és az oldatot védőgáz alatt és jéghűtés közben 1,06 g (0,044 mol) nátrium-hidrid 30 ml abszolút dimetil-formamiddal készült szuszpenziójához csepegtetjük. Az elegyet hűtés nélkül még 30 percig keverjük, majd 10,8 g (0,044 mol) bróm-ecetsav-etil-észter 30 ml abszolút dimetil-formamiddal készült oldatát csepegtetjük hozzá, és a keverést további 4 órán át folytatjuk. A reakcióelegyet jégre öntjük, etil-acetáttal extraháljuk, vízzel mossuk, szárítjuk és bepároljuk. Az olajos maradékot petroléterből kristályosítjuk. Hozam: 6,8 g.

34. példa

{1-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il}-1-metil-etoxi}-ecetsav

3,7 g (0,009 mol) 33. példa szerinti terméket a 3. példában leírthoz hasonló módon elszappanosítunk. Hozam: 2,9 g.

36. példa

2-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-metoxi}-2-metil-propionsav

9,5 g (0,023 mol) 35. példa szerinti terméket a 3. példában leírthoz hasonló módon elszappanosítunk. Hozam: 6,6 g.

37. példa

N-Metil-hidroxamoil-2-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-metoxi}-2-metil-propionát

4,0 g (0,01 mol) 36. példa szerinti terméket az irodalomban leírthoz (EP 0 199 151) hasonló módon oxálsav-kloriddal és N-metil-hidroxil-aminnal reagáltatunk. A terméket terc-butil-metil-éterből kristályosítjuk. Hozam: 2,7 g.

38. példa

2-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-metoxi}-N-(1H-tetrazol-5-il)-izobutiramid

6,0 g (0,015 mol) 36. példa szerinti terméket a J. Org. Chem., 34 (1969), 2766–2767 irodalmi helyen leírthoz hasonló módon 1,7 ml (0,015 mol) szilícium-tetrakloriddal és 1,25 g (0,015 mol) 5-amino-tetrazollal abszolút piridinben reagáltatunk. A terméket terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk. Hozam: 3,9 g.

39. példa

N-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-metoxi-karbonil}-glicin-etil-észter

14,0 g (0,046 mol) 24. példa szerinti terméket a 4a) példában leírthoz hasonló módon reagáltatunk. A visszamaradó olajat szilikagélen, terc-butil-metil-éter és petroléter 1:4 térfogatarányú elegyével eluálva kromatográfiásan tisztítjuk. Hozam: 16,4 g.

40. példa

N-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-metoxi-karbonil}-glicin

7,1 g (0,06 mol) 39. példa szerinti terméket a 3. példában leírthoz hasonló módon elszappanosítunk. Hozam: 4,1 g.

41. példa

N-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-propoxi-karbonil}-glicin-etil-észter

8,0 g (0,024 mol) 26. példa szerinti terméket a 4a) példában leírthoz hasonló módon reagáltatunk. A visszamaradó olajat terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítva tisztítjuk. Hozam: 6,1 g.

42. példa

N-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-propoxi-karbonil}-glicin

4,0 g (0,0089 mol) 41. példa szerinti terméket a 3. példában leírthoz hasonló módon elszappanosítunk. Hozam: 2,8 g.

43. példa

N-{2-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-etoxi-karbonil}-glicin

6,25 g 25. példa szerinti terméket a 4a) példában leírthoz hasonló módon reagáltatunk. A visszamaradó terméket a 3. példában leírtak szerint elszappanosítjuk, szilikagélen, terc-butil-metil-éterrel eluálva kromatográfiásan, majd terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből végzett kristályosítással tisztítjuk. Hozam: 3,8 g.

45. példa

3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-propionsav

4,3 g (0,011 mol) 44. példa szerinti terméket a 3. példában leírthoz hasonló módon elszappanosítunk. Hozam: 3,0 g.

46. példa

3-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il}-N-(1H-tetrazol-5-il)-propionsavamid

7,0 g (0,02 mol) 45. példa szerinti terméket a 38. példában leírthoz hasonló módon szilícium-tetrakloriddal és 5-amino-tetrazollal abszolút piridinben reagáltatunk. A terméket terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk. Hozam: 6,5 g.

47. példa

{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il}-akrilsav

a) Aldehid előállítása Swern-oxidációval

25,4 g (0,2 mol) oxalil-kloridot 250 ml abszolút metilén-dikloridban védőgáz alatt –60 °C-ra hűtünk, és azután 31,2 ml (0,44 mol) dimetil-szulfoxidot csepegtetünk hozzá 20 ml abszolút metilén-dikloriddal készült oldat formájában. 30 perc eltelte után 30,3 g (0,1 mol) 24. példa szerinti termék 200 ml abszolút metilén-dikloriddal és 20 ml dimetil-formamiddal készült oldatát –50 °C-on 45 perc alatt a fenti elegyhez csepegtetjük,

majd 20 percig keverjük. 55,6 ml (0,4 mol) trietil-amin hozzáadása után a hűtést megszüntetjük, az elegyet 1 órán át szobahőmérsékleten keverjük, vízzel, híg vizes citromsavoldattal és nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A visszamaradó olajat szilikagélen, terc-butil-metil-éter és petroléter 1:9 térfogatarányú elegyével eluálva kromatográfiásan tisztítjuk, és petroléterből kristályosítjuk. Hozam: 18,4 g.

b) Olefin előállítása

0,77 g (0,032 mol) nátrium-hidridet 40 ml abszolút tetrahidrofuránban védőgáz alatt 0 °C-ra hűtünk, az elegyhez 5,05 g (0,024 mol) dietil-foszfono-ecetsav-metil-észter 50 ml abszolút tetrahidrofuránnal készült oldatát csepegtetjük, a képződött szuszpenziót 0 °C-on 1 órán át keverjük, majd 4,8 g (0,016 mol) 47a) példa szerinti termék 50 ml abszolút tetrahidrofuránnal készült oldatát adjuk hozzá cseppenként. Az elegyet még 2 órán át keverjük, jeges vízbe öntjük, több alkalommal metilén-dikloriddal extraháljuk, vízzel mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A terméket terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk. Hozam: 4,2 g.

c) Elszappanosítás

3,7 g (0,01 mol) 47b) példa szerinti terméket a 3. példában leírthoz hasonló módon elszappanosítunk. Hozam: 3,3 g.

49. példa

N-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-metil}-trifluor-metánszulfonamid

3,6 g (0,012 mol) bázis formában levő 48. példa szerinti terméket 50 ml abszolút metilén-dikloridban oldunk, az oldatot jéggel hűtjük, és 3,95 g (0,014 mol) trifluor-metánszulfonsavanhidridet és azután 2,2 ml (0,017 mol) N-etil-morfolint csepegtetünk hozzá, egy éjszakán át keverjük, vízzel, híg vizes citromsavoldattal és nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A visszamaradó olajat szilikagélen, terc-butil-metil-éter és petroléter 3:1 térfogatarányú elegyével eluálva kromatográfiásan tisztítjuk. Hozam: 2,1 g.

50. példa

N-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-metil}-oxamidsav-etil-észter

9,1 g (0,03 mol) bázis formában levő 48. példa szerinti terméket abszolút tetrahidrofuránban, jeges hűtés közben 3,9 ml (0,035 mol) klór-formil-hangyasav-etil-észterrel és 9,7 ml (0,07 mol) trietil-aminnal a J. Med. Chem. 34 (1991), 600 irodalmi helyen leírthoz hasonló módon acilezünk. Jeges víz hozzáadása után a reakcióelegyet etil-acetáttal extraháljuk, az extraktumot vízzel, híg vizes citromsavoldattal és nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A visszamaradó olajat terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk. Hozam: 9,1 g.

51. példa

N-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-metil}-oxamidsav

5,0 g (0,012 mol) 50. példa szerinti terméket a 4b) példában leírthoz hasonló módon elszappanosítunk. Az olajosan kiváló terméket metilén-dikloriddal extraháljuk, az extraktumot vízzel és nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A visszamaradó amorf terméket terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk. Hozam: 3,4 g.

52. példa

5-Metil-izoxazol-4-karbonsav-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-ixoxazol-5-il-metil}-amid

5,0 g (0,0165 mol) bázis formában levő 48. példa szerinti terméket 80 ml abszolút tetrahidrofuránban jeges hűtés mellett 2,2 ml (0,017 mol) N-etil-morfolinnal együtt oldunk, az oldathoz 2,5 g (0,017 mol) 5-metil-izoxazol-3-il-karbonsav-klorid 10 ml tetrahidrorurán-nal készült oldatát csepegtetjük, és az elegyet 5 órán át szobahőmérsékleten keverjük. Ezután jeges vizet adunk hozzá, majd a metilén-dikloriddal kapott extraktumot vízzel, híg vizes citromsavoldattal és nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A kapott olajat szilikagélen, terc-butil-metil-éter és petroléter 1:1 térfogatarányú elegyével eluálva kromatográfiásan tisztítjuk, és petroléterből kristályosítjuk. Hozam: 4,9 g.

53. példa

2-Ciano-3-hidroxi-but-2-én-karbonsav-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-metil}-amid

4,0 g (0,01 mol) 52. példa szerinti terméket 50 ml abszolút tetrahidrofuránban oldunk, az oldathoz jeges hűtés közben 20 ml 1 n nátrium-hidroxid-oldatot adunk, a reakció befejeződése után (vékonyréteg-kromatográfiás ellenőrzés) az elegyet 22 ml 1 n sósavval megsavanyítjuk, metilén-dikloriddal extraháljuk, mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A visszamaradó anyagot terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk. Hozam: 3,3 g.

54. példa

{3-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-metil}-ureido}-ecetsav-etil-észter

14,2 g (0,047 mol) bázis formában levő 48. példa szerinti terméket 6,5 g (0,05 mol) etil-izociano-acetáttal keverés közben 50–80 °C-on melegítünk. A reakció befejeződése után (vékonyréteg-kromatográfiás ellenőrzés) az elegyet bepároljuk, és a terméket terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk. Hozam: 11,3 g.

55. példa

L-Fenil-alanil-N-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-metil}-amid-hidroklorid

a) Acilezés N-(terc-butoxi-karbonil)-fenil-alaninnal

5,3 g (0,02 mol) N-(terc-butoxi-karbonil)-fenil-alanint 100 ml vízmentes tetrahidrofuránban oldunk, az oldathoz 4,5 g (0,022 mol) diciklohexil-karbodiimidet és 3,1 g (0,02 mol) 1-hidroxi-benzotriazol-hidrátot adunk, és az elegyet 45 percig keverjük. A kivált karbamidot kiszűrjük. A szűrlethez 2,3 ml (0,018 mmol) N-etil-morfolint adunk, majd 6,25 g (0,015 mol) 48. példa szerinti termék 50 ml tetrahidrofuránnal készült oldatát csepeg-

tetjük. További 4 óra eltelte után az elegyhez etil-acetátot adunk, 0,1 n sósavval és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A nyerstermékét szilikagélen, terc-butil-metil-éterrel eluálva kromatográfiásan tovább tisztítjuk. Hozam: 8,9 g N-(terc-butoxi-karbonil)-védett termék olaj alakjában.

b) A védőcsoport lehasítása

A védőcsoport lehasítása és a hidrokloriddá alakítás 150 ml metilén-dikloridban oldott 25 ml trifluor-ecetsavval végzett kezeléssel, bepárlással, dietil-éteres hidrogén-klorid-oldat hozzáadása után többszöri bepárlással, végül petroléterrel végzett kikeveréssel történik. Hozam: 6,3 g amorf hidroklorid.

56. példa

{3-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il-metil}-ureido}-ecetsav

6,5 g (0,015 mol) 54. példa szerinti terméket a 3. példában leírthoz hasonló módon elszappanosítunk. Hozam: 5,7 g.

57. példa

2-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il}-vinil-foszfonsav-dietil-észter

A reakciót 6,4 g (0,021 mol) 47a) példa szerinti termékből, 6,25 ml (0,025 mol) tetraetil-metilén-difoszfonátból és 9,6 ml (0,024 mol) 2,5 mólos butil-lítium-oldatból kiindulva, a J. Med. Chem. 32 (1989), 2171 irodalmi helyen megadott módon, abszolút tetrahidrofuránban végezzük. A reakcióelegyet a reakció befejeződése után jeges vízre öntjük, több alkalommal metilén-dikloriddal extraháljuk, vízzel mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A terméket terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk. Hozam: 7,9 g.

58. példa

2-{3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il}-vinil-foszfonsav

4,0 g (0,009 mol) 57. példa szerinti terméket 300 ml abszolút metilén-dikloridban védőgáz alatt, szobahőmérsékleten 3,9 ml (0,03 mol) trimetil-bróm-szilánnal a reakció teljes végbemeneteléig keverünk (vékonyrétegkromatográfiás ellenőrzés). 0,5 ml víz hozzáadása után az elegyet bepároljuk, metanollal többször felvesszük és csökkentett nyomáson ismét bepároljuk. A visszamaradó olajat terc-butil-metil-éterrel addig keverjük, amíg kristályos maradékot kapunk. Hozam: 3,0 g.

59. példa

3-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-5-acetil-izoxazol

5,0 g (0,016 mol) 28. példa szerinti terméket a 47a) példában leírthoz hasonló módon Swern-oxidációnak vetünk alá. Hozam: 3,88 g.

60. példa

3-(4-Piridil)-5-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-ixoxazolin

a) 2,6-Di(terc-butil)-4-vinil-fenol

Az olefin szintézise ismert: P. Grosso, O. Vogl: J. Macromol. Sci. Chem., A23 (1986), 1041–1056.

b) Hidroxamoil-klorid mint a nitril-oxid prekurzora

4-Piridil-hidroxamoil-klorid-hidrokloridot a Bull. Soc. Chim. France (1962) 2215 irodalmi helyen leírthoz hasonló módon, piridin-4-karbaldoxim klórozásával állítunk elő.

c) Cikloaddíció

11,6 g (0,05 mol) a) lépés szerinti és 9,7 g (0,05 mol) 60b) példa szerinti terméket 500 ml metilén-dikloridban oldunk, majd 6 óra alatt 20,9 ml (0,15 mol) trietil-amin 200 ml metilén-dikloriddal készült oldatát csepegtetjük hozzá. A feldolgozást az 1. példa szerint végezzük. Hozam: 13,1 g.

61. példa

3-(2-Tiazolil)-5-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin

5 g (0,039 mol) 2-tiazolil-karbaldoximot, amelyet A. Dondoni szerinti [Synthesis (1987), 998–1001] állítunk elő, az 1. példában leírt módon, metilén-diklorid és dimetil-formamid 1:1 térfogatarányú elegyében terc-butil-hipoklorittal klórozunk, majd 16,3 g (0,07 mol) 60a) példa szerinti olefint adunk hozzá, és az 1. példában ismertetett módon elvégezzük a cikloaddíciót. A visszamaradó olajat szilikagélen, terc-butil-metil-éter és petroléter 1:2 térfogatarányú elegyével eluálva kromatográfiásan tisztítjuk, majd metanol és kevés víz elegyéből kristályosítjuk. Hozam: 6,4 g.

62. példa

3-Karboxi-5-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-ixoxazolin

a) Hidroxamoil-klorid mint a nitril-oxid-prekurzora

A klór-oximino-ecetsav-etil-észtert glicin-etil-észterből a G. S. Skinner által leírt [J. Am. Chem. Soc. 46 (1924), 731] módszerrel állítjuk elő.

b) Cikloaddíció etoxi-karbonil-nitril-oxiddal

4,55 g (0,03 mol) 62a) példa szerinti terméket 80 ml metilén-dikloridban oldunk, és az oldatot 6 óra alatt 4,65 g (0,02 mol) 60a) példa szerinti olefin és 5,6 ml (0,04 mol) trietil-amin 100 ml metilén-dikloriddal készült oldatához csepegtetjük. A feldolgozást az 1. példa szerint végezzük. Hozam: 4,8 g.

c) Az etil-észter elszappanosítása

Az elszappanosítás és a feldolgozás a 3. példában leírthoz hasonló módon történik. 6,0 g (0,017 mol) 62b) példa szerinti termékből 3,55 g kristályos karbonsavat kapunk.

A most következő 63–65. példák cikloaddíciós lépéséhez a nitro-vajsav-komponenst Mukaiyama [J. Am. Chem. Soc., 82 (1960), 5339–5342] módszerének egy változata szerint izocianáttal dehidratáljuk. Az akrilsavszármazékból és nitro-metánból kiinduló szintézisutat a kereskedelemben nem kapható származékokra a következőkben a nitro-vajsav-terc-butil-észterre írjuk le. Megfelelően helyettesített vinil-foszfonsav- és vinil-foszrinsav-észter alkalmazása esetén ez a módszer a 4-nitro-propil-foszfinsav-származékra és -foszfonsav-származékra is átvihető.

63. példa

5-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-3-il-propionsav

a) Nitro-vajsav-(terc-butil)-észter

537 ml (3,7 mol) akrilsav-(terc-butil)-észtert 70 °C fürdőhőmérséklet mellett 2,0 liter nitro-metán és 7 ml 1,8-diaza-biciklo[5.4.0]undec-7-én (DBU) oldatához csepegtetünk, miközben az akrilsav nyomainak hatására esetleg csökkenő pH-t, megfelelő mennyiségű DBU adagolásával konstans értéken tartjuk. Az exoterm reakció lejátszódása után (a hőmérséklet 90 °C-ig emelkedik) az elegyet 60 percig hűlni hagyjuk, több alkalommal híg sósavval és vízzel mossuk, szárítjuk és csökkentett nyomáson bepároljuk, így 660 g vörösbarna olaj marad vissza, amelyet desztillációval tovább tisztítunk (Kp_5: 90 °C).

Hasonló módon állítjuk elő a következő nitrovegyületeket:

3-nitro-propil-foszfonsav-dimetil-észter és -dietil-észter (vinil-foszfonsav-észterből kiindulva),

3-nitro-propil-P-metil-foszfinsav-etil-észter (vinil-P-metil-foszfinsav-etil-észterből kiindulva).

b) Cikloaddíció

7,0 g (0,03 mol) 60a) példa szerinti olefint 0,5 ml trietil-aminnal és 6,4 g (0,04 mol) fenilén-diizocianáttal 80 ml toluolban 50 °C-on melegítünk. 7,6 g (0,04 mol) a) lépés szerinti 4-nitro-vajsav-(terc-butil)-észter és 0,2 ml trietil-amin 80 ml toluollal készült oldatát 5 óra alatt a fenti elegyhez csepegtetjük. Ezután az elegyet egy éjszakán át szobahőmérsékleten keverjük, a kivált karbamidot szívatással kiszűrjük és metilén-dikloriddal mossuk. Bepárlás után olajos nyerstermék marad vissza, amelyet szilikagélen petroléter és terc-butil-metil-éter elegyével kromatográfiásan tovább tisztítunk.

c) A karboxil-védőcsoport lehasítása

5 g (0,012 mol) b) lépés szerinti terméket 80 ml metilén-dikloridban szobahőmérsékleten 20 ml trifluor-ecetsavval a reakció befejeződéséig (kb. 3 órán át) kezelünk. Bepárlás után a maradékot terc-butil-metil-éterrel kikeverjük, ekkor 3,6 g kristályos terméket kapunk.

64. példa

5-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-3-propionsav-N-(1H-tetrazol-5-il)-amid

5,0 g (0,15 mol) 63. példa szerinti terméket a 38. példában leírt módon szilícium-tetrakloriddal és 5-amino-tetrazollal abszolút piridinben reagáltatunk. A terméket terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk. Hozam: 3,5 g.

65. példa

{2-{5-[4-Hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazolin-3-il}-etil}-metil-foszfinsav

A cikloaddíciót 3-nitro-propil-P-metil-foszfinsav-etil-észterből kiindulva a 63. példában leírt módon végezzük. A foszfin-észter-csoportot a 7. példa szerint lúgosan hasítjuk le.

70. példa

L-Fenil-alanin-1-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il}-etil-észter-hidroklorid

a) Acilezés N-(terc-butoxi-karbonil)-fenil-alaninnal

2,65 g (0,01 mol) N-(terc-butoxi-karbonil)-fenil-alanint 50 ml vízmentes tetrahidrofuránban oldunk, majd az oldathoz 1,53 g (0,01 mol) 1-hidroxi-benzotriazol-hidrátot és 2,27 g (0,011 mol) diciklohexil-karbodiimidet adunk, majd az elegyet 45 percig keverjük. Ezután 0,12 g 4-(dimetil-amino)-piridin és 3,17 g (0,01 mol) 28. példa szerinti termék 25 ml tetrahidrofuránnal készült oldatát csepegtetjük hozzá. További 2 órás keverés után a reakcióelegyhez etil-acetátot adunk, 0,1 n nátrium-hidroxid-oldattal, 0,1 n sósavval és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A nyersterméket szilikagélen, petroléter és terc-butil-metil-éter 5:1 térfogatarányú elegyével eluálva kromatográfiásan tovább tisztítjuk. Hozam: 3,15 g N-(terc-butoxi-karbonil)-védett termék.

b) A védőcsoport lehasítása

A védőcsoport lehasítáaa és a hidrokloriddá alakítás 10 ml trifluor-ecetsavval 50 ml metilén-dikloridban végzett kezeléssel, bepárlással, és dietil-éteres hidrogén-klorid-oldat hozzáadása után többszöri bepárlással, végül terc-butil-metil-éter- és petroléter elegyével végzett kikeveréssel történik. Hozam: 2,2 g.

71. és 72. példa

L-Fenil-alanin-1-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il}-etil-észter-hidroklorid

a) A védőcsoport lehasítása

3,0 g 70a) példa szerinti terméket a 70b) példában leírthoz hasonlóan trifluor-ecetsavval kezelünk. Hozam: 2,8 g nyerstermék.

b) Az izomerek elválasztása

A nyersterméket, több alkalommal szilikagélen, metilén-diklorid és terc-butil-metil-észter 1:10 térfogatarányú elegyével eluálva, 1% trietil-amin hozzáadása mellett kromatografáljuk, így diasztereomerekre választjuk szét. Hozam 0,7, illetve 0,8 g olajos termék, a magasabb Rf-értékű izomert A izomernek, az alacsonyabb Rf-értékű izomert B izomernek nevezzük. A HPLC eljárással meghatározott tisztaság 95%-nál nagyobbnak adódik. A hidrokloriddá történő átalakítást mindkét izomer esetében a 70b) példában leírt módon végezzük. Mindkét izomert metilén-diklorid és terc-butil-metil-éter elegyéből kristályosítjuk.

71. példa (A izomer): $[\alpha]_D^{20}$=+56,1° (c=1, etanol)

72. példa (B izomer): $[\alpha]_D^{20}$=–30,8° (c=1, etanol).

73. példa

L-Fenil-alanin-1-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-5-il}-etil-észter-hidroklorid

a) Acilezés N-(terc-butoxi-karbonil)-fenil-alaninnal

A szintézist 3,2 g (0,01 mol) 19. példa szerinti termékből (racém eritroizomerből) a 70a) példa szerint

végezzük. Hozam: 3,5 g N-(terc-butoxi-karbonil)-védett termék.

b) A védőcsoport lehasítása

A védőcsoportot a 70b) példában leírthoz hasonló módon hasítjuk le. Hozam: 2,8 g izomerei egy (a racém kiindulási anyag miatt).

74. és 75. példa

L-Fenil-alanin-1-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il}-etil-észter-hidroklorid

a) Az izomerek elválasztása

2,5 g 73a) példa szerinti terméket több alkalommal szilikagélen, petroléter és terc-butil-metil-éter 5:1 térfogatarányú elegyével eluálva kromatográfiásan diasztereomerekre választunk szét. Hozam: 0,6, illetve 0,7 g olajos termék, a magasabb Rf-értékű izomert A izomernek, az alacsonyabb Rf-értékű izomert B izomernek nevezzük. A HPLC eljárással meghatározott tisztaság 95%-nál nagyobbnak adódik.

b) A védőcsoport lehasíhása

A védőcsoportok lehasítása és a hidrokloriddá alakítás mindkét izomer esetében a 70b) példában leírt módon történik.

74. példa (A izomer): $[\alpha]_D^{20}$=+31,6° (c=1, etanol)

75. példa (B izomer): $[\alpha]_D^{20}$=–59,7° (c=1, etanol).

76. példa

Glicin-1-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il}-etil-észter-hidroklorid

A szintézist 2,1 g (0,012 mol) N-BOC-glicinből és 3,2 g (0,01 mol) 28. példa szerinti termékből kiindulva a 70. példának megfelelően végezzük. A védőcsoport lehasítása és a hidrokloriddá alakítás után terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből amorf szilárd terméket kapunk. Hozam: 2,6 g.

77. példa

Glicin-1-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-5-il}-etil-észter-hidroklorid

A szintézist 2,1 g (0,012 mol) N-BOC-glicinből és 3,2 g (0,01 mol) 19. példa szerinti termékből (racém eritroizomerből) kiindulva, a 70. példa szerint végezzük. A védőcsoport lehasítása és a hidrokloriddá alakítás után terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből amorf szilárd terméket kapunk. Hozam: 2,3 g.

81. példa

Hexadekánsav-1-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-5-il}-etil-észter (eritro-izomer)

3,2 g (0,01 mol) 19. példa szerinti terméket 60 ml tetrahidrofuránban oldunk. Az oldathoz 125 mg 4-(dimetil-amino)-piridint és 3,05 ml (0,024 mol) N-etil-morfolint adunk, majd jéghűtés közben 30 ml tetrahidrofuránban oldott 5,5 g (0,02 mol) hexadekánsav-kloridot csepegtetünk. A reakció befejeződése után (vékonyréteg-kromatográfiás ellenőrzés) az elegyet vízzel, vizes kálium-hidrogén-szulfát-oldattal és vízzel mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A visszamaradó olajat szilikagélen, petroléter és terc-butil-metil-éter elegyével eluálva kromatográfiásan tisztítjuk. Hozam: 1,9 g.

82. példa

Di(O-acetil)-L-borkősav-N-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxazol-5-il}-metil-amid

4,2 g (0,01 mol) 48. példa szerinti terméket, 0,12 g 4-(dimetil-amino)-piridint és 4,5 ml (0,035 mol) N-etil-morfolint 250 ml tetrahidrofuránban oldunk, és 3,3 g (0,015 mol) (+)-di(O-acetil)-L-borkősavanhidrid 60 ml tetrahidrofuránnal készült oldatát. 0,5 óra alatt szobahőmérsékleten, keverés közben az oldathoz csepegtetjük. Az elegyet még 4 órán át szobahőmérsékleten tartjuk, majd 50 ml 1 n sósavat, 500 ml vizet és 500 ml etil-acetátot adunk hozzá, a fázisokat elválasztjuk, és a szerves fázist vízzel és telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A maradékot szilikagélen terc-butil-metil-éterrel eluálva kromatografáljuk, majd terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk. Hozam: 4,9 g, $[\alpha]_D^{20}$=1,4° (c=1, etanol).

83. példa

L-Borkősav-N-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-izoxaxol-5-il}-metil-amid

1,56 g (0,03 mol) 82. példa szerinti terméket 200 ml metanolban oldunk, és az oldathoz 0,84 g (0,06 mol) finoman porított kálium-karbonátot adunk. Az elegyet egy éjszakán át keverjük, majd vizes citromsavoldattal megsavanyítjuk, és etil-acetáttal több alkalommal extraháljuk. A szárítás és bepárlás után visszamaradó olajat kristályosítjuk. Hozam: 1,25 g, $[\alpha]_D^{20}$=+21,5° (c=1, etanol).

84. példa

3-Oxo-vajsav-1-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-5-il}-etil-észter

1,8 g 19. példa szerinti terméket kb. 15 mg 4-(dimetil-amino)-piridinnel együtt 80 ml abszolút tetrahidrofuránban jeges hűtés közben oldunk, és az oldathoz 0,46 ml (0,008 mol) diketén 15 ml tetrahidrofuránnal készült oldatát csepegtetjük. 1 óra eltelte után a jégfürdőt eltávolítjuk, és az elegyet egy éjszakán át szobahőmérsékleten keverjük. Bepárlás után a maradékot víz és etil-acetát elegyével felvesszük, a szerves fázist szárítjuk és bepároljuk. Ezután terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből kristályosítjuk. Hozam: 1,05 g világossárga kristályos anyag.

85. példa

Foszforsav-difenil-1-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-5-il}-etil-észter

3,2 g (0,01 mol) 19. példa szerinti terméket 0,12 g 4-(dimetil-amino)-piridint és 1,4 ml (11 mmol) N-etil-morfolint 80 ml abszolút tetrahidrofuránban oldunk, és az oldathoz szobahőmérsékleten, 2,95 g (11 mmol) foszforsav-difenil-észter-hidroklorid 10 ml tetrahidrofuránnal készült oldatát csepegtetjük. 4 óra eltelte után vizes citromsavoldatot és etil-acetátot

adunk az elegyhez, a szerves fázist szárítjuk, bepároljuk, és a maradékot kristályosítjuk. Hozam: 4,7 g kristályos termék.

86. és 87. példa
4-(4-Morfolino-metil)-benzoesav-1-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-5-il}-etil-észter-hidroklorid

86. példa: eritroizomer és a 87. példa: treoizomer

a) 4-(Klór-metil)-benzoil-but-3-én-2-il-észter

7,2 g (0,1 mol) racém 1-butén-3-olt 20,5 g (0,108 mol) 4-(klór-metil)-benzoil-kloridot, 14 g (0,11 mol) N-etil-morfolint és 1,2 g 4-(dimetil-amino)-piridint 200 ml abszolút tetrahidrofuránban 24 órán át keverünk. Metilén-diklorid és vizes citromsavoldat hozzáadása után a fázisokat elválasztjuk, a szerves fázist vízzel mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A maradékot petroléterrel eldolgozzuk, és a kis mennyiségben kivált, szilárd anyagot kiszűrjük. A terméket bepárlás után olaj alakjában kapjuk.

b) A reagáltatást az 1. példában leírthoz hasonló módon, 7,5 g (0,03 mol) aldoximból és 7,6 g (0,034 mol) 86a) példa szerinti termékből kiindulva végezzük. Az olajosan kiváló nyersterméket, szilikagélen, petroléter és etil-acetát 9:1 térfogatarányú elegyével eluálva kromatográfiásan tovább tisztítjuk. Hozam: 3,7 g racém eritro/treo izomerelegy.

c) Reagáltatás morfolinnal

3,6 g (7,6 mmol) b) lépésben keletkezett terméket acetonban oldunk, az oldathoz 1,3 ml (0,015 mol) morfolint és 0,27 g (1,6 mmol) kálium-jodidot adunk, és az elegyet 2 napon át szobahőmérsékleten keverjük. Bepárlás után a maradékot víz és etil-acetát elegyével felvesszük, a szerves fázist vízzel mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A visszamaradó 4 g termék diasztereomerelegy (az izomerarány kb. 60:40).

d) Az izomerek elválasztása

A c) példában kapott nyersterméket kb. 200 ml terc-butil-metil-éterben oldjuk, és az oldatot 8 ml 5 mólos etanolos hidrogén-klorid-oldattal, valamint kb. 30 ml metilén-dikloriddal elegyítjük. A kivált hidrokloridot elkülönítjük, és izopropanolból átkristályosítjuk, amikor is az eritrodiasztereoizomert a kikristályosodott anyag izopropanolból történő további kristályosításával >95:5 diasztereoizomerarányig feldúsítjuk. Hozam: 0,75 g.

Az összegyűjtött anyalúgból ugyancsak többszöri kristályosítással a treodiasztereoizomert ugyanígy elkülönítjük.

88. példa
L-Tirozil-1-{3-[3,5-di(terc-butil)-4-hidroxi-fenil]-2-izoxazolin-5-il}-etil-észter racém 5,5'-eritro-izomerelegy

a) Acilezés N,O-di(terc-butoxi-karbonil)-L-tirozinnal

7,6 g (0,02 mol) N,O-di(terc-butoxi-karbonil)-L-tirozint 100 ml vízmentes tetrahidrofuránban oldunk, 2,7 g (0,02 mol) 1-hidroxi-benzotriazolt és 4,5 g (0,022 mol) diciklohexil-karbodiimidet adunk az oldathoz, és kb. 45 percig keverjük, majd a kivált karbamidot kiszűrjük. 2,3 ml (0,018 mol) N-etil-morfolin és 0,24 g (0,002 mol) dimetil-amino-piridin hozzáadása után 4,8 g (0,015 mol) 19. példa szerinti termék 80 ml tetrahidrofuránnal készült oldatát csepegtetjük az elegyhez. 24 órás szobahőmérsékleten történő keverés és etil-acetát hozzáadása után az elegyet 0,1 n nátrium-hidroxid-oldattal és 0,1 n sósavval, valamint telített nátrium-klorid-oldattal mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A nyersterméket szilikagélen, terc-butil-metil-éter és petroléter elegyével eluálva kromatográfiásan tovább tisztítjuk. Hozam: 10,6 g N-(terc-butoxi-karbonil)-védett termék olaj alakjában.

b) A védőcsoport lehasítása

A védőcsoportot a 70b) példában leírtakhoz hasonlóan hasítjuk le. A bázist felszabadítása után szilikagélen terc-butil-metil-éter, metilén-diklorid és metanol 10:9:1 térfogatarányú elegyével eluálva kromatográfiásan tovább tisztítjuk. Hozam: 1,6 g amorf szilárd anyag.

89. példa
3-[3,5-Di(terc-butil)-4-hidroxi-fenil]-5-(1,2-dihidroxi-etil)-2-izoxazolin racém eritro-izomer

2,9 g 16. példa szerinti terméket 50 ml dioxán és 10 ml víz elegyében oldunk, és az oldatot 0,75 ml 70%-os vizes perklórsav hozzáadása után 18 órán át szobahőmérsékleten keverjük. Ezután 20 ml 5%-os vizes nátrium-karbonát-oldattal és 150 ml vízzel elegyítjük, és több alkalommal etil-acetáttal extraháljuk. A szerves fázist mossuk, szárítjuk és bepároljuk. A terméket terc-butil-metil-éter és petroléter elegyéből végzett kristályosítás után tiszta formában kapjuk. Hozam: 1,3 g.

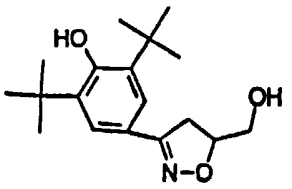
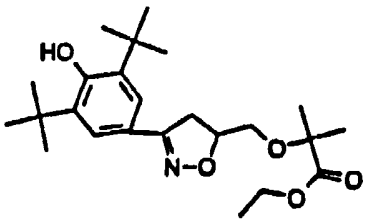
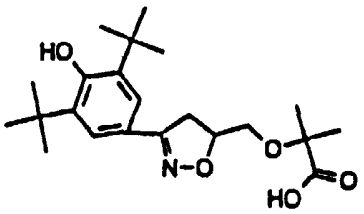
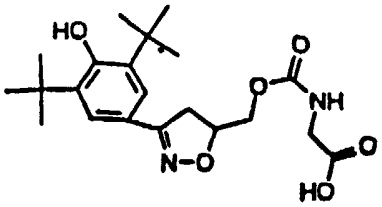
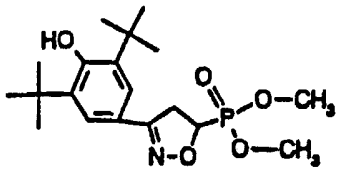
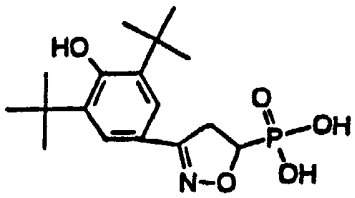
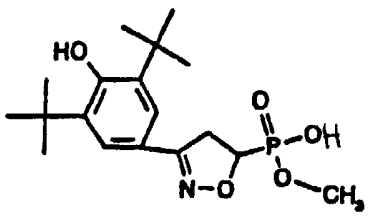
90. példa
3-[3,5-Di(terc-butil)-4-hidroxi-fenil]-5-(1,2-dihidroxi-etil)-2-izoxazolin racém treoizomer

A reakciót a 89. példában leírthoz hasonlóan, 2,4 g 17. példa szerinti termékből kiindulva végezzük. Hozam: 1,25 g kristályos termék.

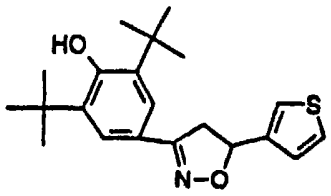
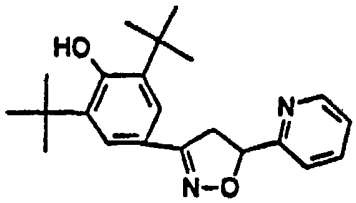
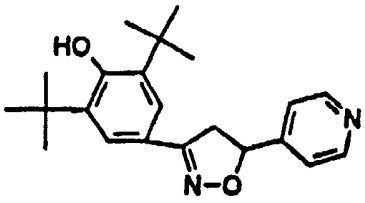
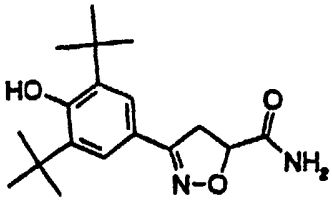
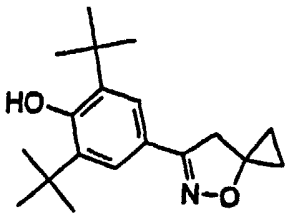
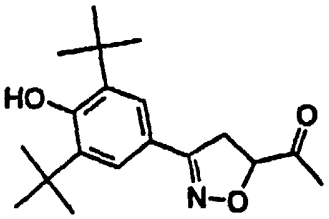
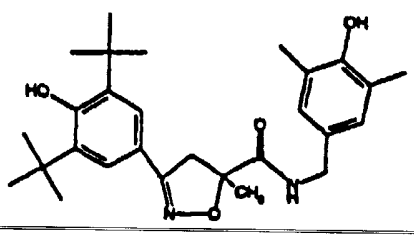
91. példa
4-(4-Metil-piperazin-1-il-metil)-benzoesav-1-{3-[4-hidroxi-3,5-di(terc-butil)-fenil]-2-izoxazolin-5-il}-etil-észter-dihidrobromid eritroizomer

A reakciót a 86. példában leírthoz hasonló módon végezzük. A diasztereoizomereket a b) lépésben frakcionált kristályosítással feldúsítjuk. A c) lépésben morfolin helyett N-metil-piperazint használunk. A hidrobromid kiválása után az izomerfeldúsulás a d) lépésben meghaladja a 95%-ot. Hozam: 1,9 g eritrotermék 4,7 g b) lépés szerinti termékből kiindulva.

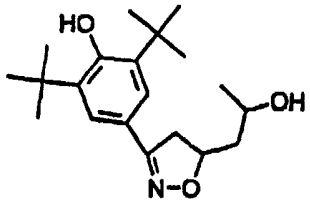
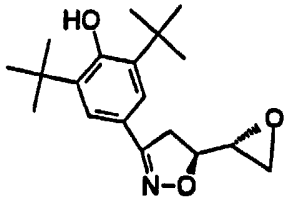
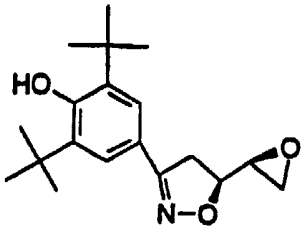
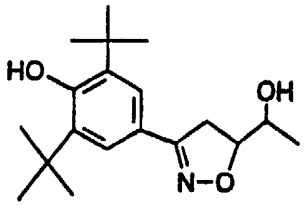
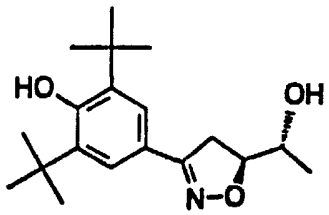
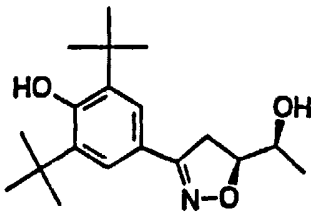
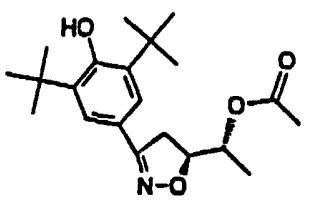
1. táblázat

Példa	Szerkezet	Oldószer	^{1}H–NMR	Olvadáspont (°C)
1.		$CDCl_3$	1,45 (s, 18H) 2,05 (tb, 1H) 3,16–3,45 (m, 2H) 3,55–3,95 (m, 2H) 4,63 (m, 1H) 6,49 (s, 1H) 7,5 (s, 2H)	132–135
2.		$CDCl_3$	1,26 (t, 3H) 1,43–1,46 (sb, 24H) 3,3–3,68 (m, 4H) 4,18 (q, 2H) 4,86 (m, 1H) 5,49 (s, 1H) 7,52 (s, 2H)	86–88
3.		$CDCl_3$	1,46 (s, 18H) 1,48 u, 1,60 (2 s, 3H) 3,15–3,52 (m, 2H) 3,61 (d, 2H) 4,89 (m, 1H) 5,50 (s, 1H) 7,50 (s, 2H)	183–186
4.		$CDCl_3$	1,39 (s, 18H) 3,05–3,70 (m, 4H) 3,95–4,19 (m, 2H) 4,82 (m, 1H) 7,40 (s, 2H) 7,58 (tb, 1H)	124–132
5.		$CDCl_3$	1,45 (s, 18H) 3,58–3,78 (m, 2H) 3,82–3,95 (2 d, 2×3H) 4,88 (m, 1H) 5,52 (sb, 2H) 7,50 (s, 2H)	196
6.		DMSO-d_6	1,39 (s, 18H) 3,25–3,85 (m, 2H) 4,62 (m, 1H) 7,39 (s, 2H) 11,0 (sb, 2H)	214 (bomlik)
7.		DMSO-d_6	1,39 (s, 18H) 3,25–3,95 (m, 5H, 3,65 d, 3H) 4,76 (m, 1H) 7,40 (s, 2H) 7,48 (sb, 1H)	183–186 (bomlik)

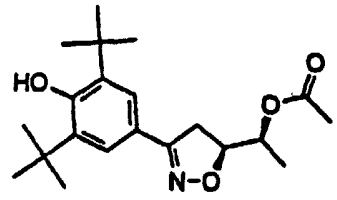
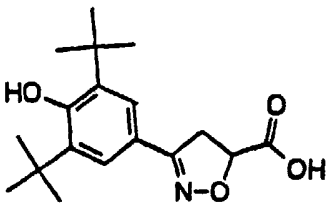
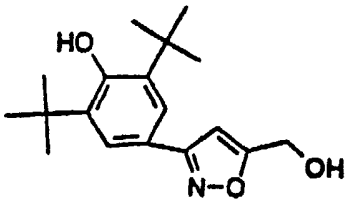
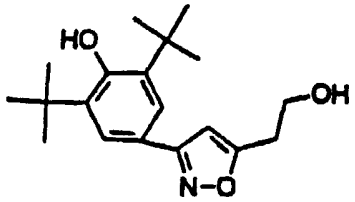
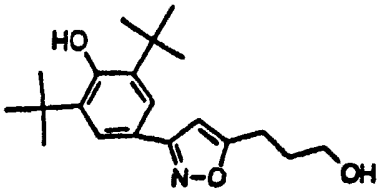
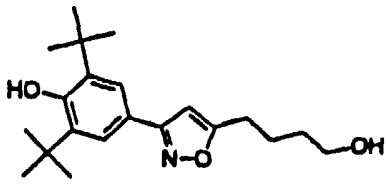
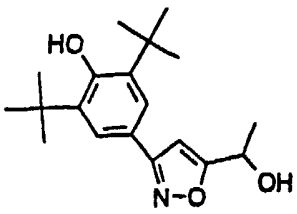
1. táblázat (folytatás)

Példa	Szerkezet	Oldószer	^{1}H–NMR	Olvadáspont (°C)
8.		DMSO-d_6	1,39 (s, 18H) 3,34–3,86 (m, 2H) 5,70 (m, 1H) 7,13 (m, 1H) 7,40–7,58 (m, 4H)	121–125
9.		DMSO-d_6	1,39 (s, 18H) 3,59–3,94 (m, 2H) 5,72 (m, 1H) 7,30–7,55 (m, 5H) 7,82 (m, 1H) 8,57 (m, 1H)	149–150
10.		DMSO-d_6	1,39 (s, 18H) 3,29–3,44 és 3,82–4,0 (2 m, 1H) 5,73 (m, 1H) 7,35–7,47 (m, 5H) 8,57 (m, 2H)	179–180
11.		DMSO-d_6	1,39 (s, 18H) 3,40–3,75 (m, 2H) 4,99 (m, 1H) 7,41 (s, 2H) 7,44 (sb, 1H) 7,60 (sb, 1H)	258–262
12.		$CDCl_3$	0,81 (m, 2H) 1,21 (m, 2H) 1,46 (s, 18H) 3,41 (s, 2H) 6,47 (s, 1H) 7,50 (s, 2H)	149–151
13.		$CDCl_3$	1,40 (s, 18H) 2,31 (s, 3H) 3,35–3,64 (m, 2H) 4,94 (m, 1H) 5,47 (s, 1H) 7,45 (s, 2H)	94
14.		$CDCl_3$	1,44 (s, 18H) 1,74 (s, 3H) 2,18 (s, 6H) 3,24 (d, 1H) 3,88 (d, 1H) 4,14–4,43 (m, 2H) 4,70 (s, 1H) 5,52 (s, 1H) 6,84 (s, 2H) 7,13 (tb, 1H) 7,47 (s, 2H)	194

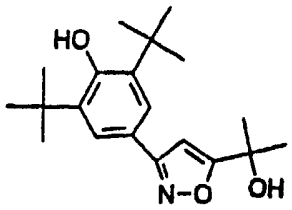
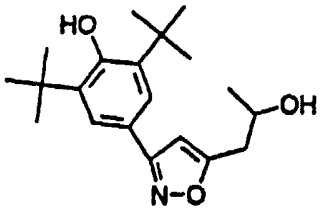
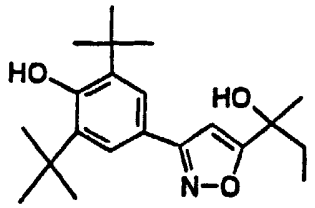
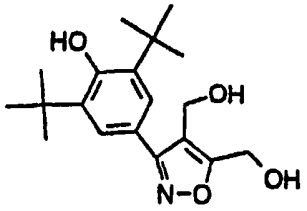
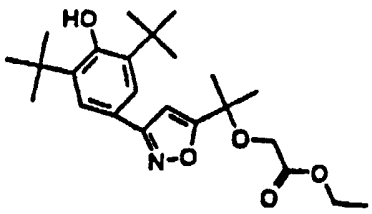
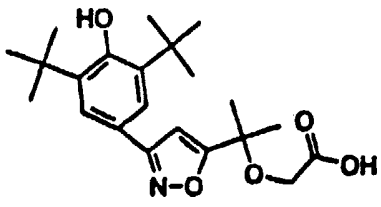
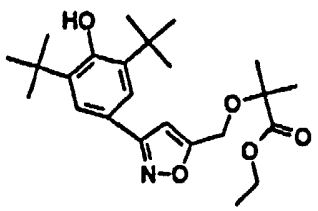
1. táblázat (folytatás)

Példa	Szerkezet	Oldószer	^{1}H–NMR	Olvadás-pont (°C)
15.		$CDCl_3$	1,34–1,28 (2 d, 3H) 1,45 (s, 18H) 1,58–2,04 (m, 3H) 2,93–3,10 és 3,38–3,58 (2 m, 1H) 4,12 és 4,90 (2 m, 1H) 5,47 és 5,48 (2 s, 0,5H) 7,49 és 7,50 (2 s, 1H)	131–133
16.		$CDCl_3$	1,46 (s, 18H) 2,72–2,89 és 3,16 (2 m, 1H) 3,21–3,52 (m, 2H) 4,61 (m, 1H) 5,50 (s, 1H) 7,51 (s, 2H)	148–153
17.		$CDCl_3$	1,45 (s, 18H) 2,84 (d, 2H) 3,18–3,57 (m, 3H) 4,73 (m, 1H) 5,48 (s, 1H) 7,49 (s, 2H)	123–126
18.		DMSO-d_6	1,06–1,11 (2 d, 3H) 1,40 (s, 18H) 3,08–3,43 (m, 2H) 3,52–3,80 (m, 1H) 4,31–4,55 (m, 1H) 4,81–4,96 (2 db, 1H, OH) 7,36 (sb, 1H) 7,40 és 7,41 (2 s, 1H)	126–146
19.		DMSO-d_6	1,07 (d, 3H) 1,39 (s, 18H) 3,15–3,41 (m, 3H) 3,62 (m, 1H) 4,38 (m, 1H) 4,90 (d, 1H) 7,38 (s, 2H)	161
20.		DMSO-d_6	1,07 (d, 3H) 1,38 (s, 18H) 3,05–3,45 (m, 3H) 3,66 (m, 1H) 4,44 (m, 1H) 4,35 (d, 1H) 7,38 (s, 2H)	134–135
21.		$CDCl_3$	1,30 (d, 3H) 1,46 (s, 18H) 2,07 (s, 3H) 3,05–3,50 (m, 2H) 4,72 (m, 1H) 6,07 (m, 1H) 6,48 (s, 1H) 7,49 (s, 2H)	149–151

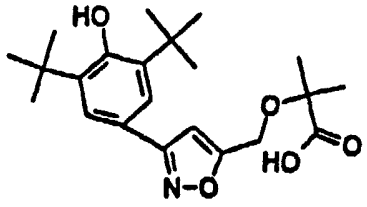
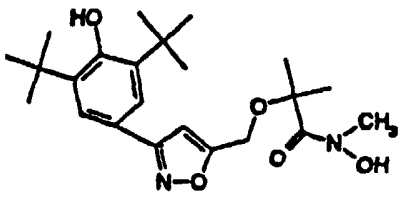
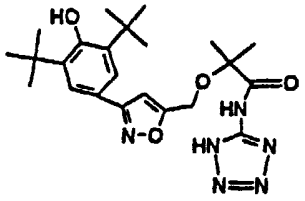
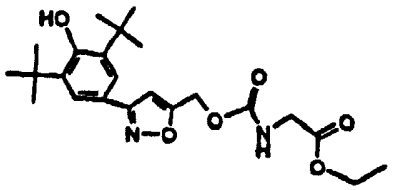
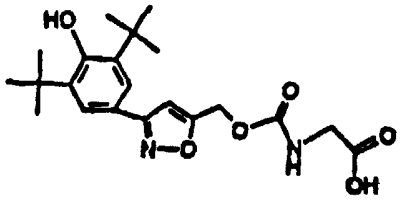
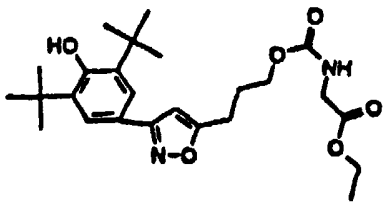
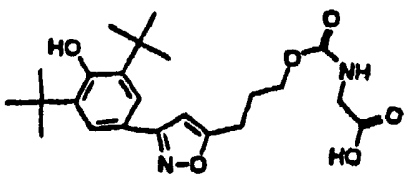
1. táblázat (folytatás)

Példa	Szerkezet	Oldószer	^{1}H–NMR	Olvadáspont (°C)
22.		$CDCl_3$	1,32 (d, 3H) 1,46 (s, 18H) 2,06 (s, 3H) 3,02–3,48 (m, 2H) 4,73 (m, 1H) 5,09 (m, 1H) 5,48 (s, 1H) 7,49 (s, 2H)	128–130
23.		MeOH-d_4	1,44 (s, 18H) 3,50–3,85 (m, 2H) 4,93 (sb, sav H) 5,13 (m, 1H) 7,50 (s, 2H)	176–178 (bomlik)
24.		MeOH-d_4	1,47 (s, 18H) 4,70 (s, 2H) 4,88 (sb, sav H) 6,67 (s, 1H) 7,62 (s, 2H)	149–155
25.		DMSO-d_6	1,42 (s, 18H) 2,92 (t, 2H) 3,75 (m, 2H) 4,90 (tb, 1H) 6,72 (s, 1H) 7,33 (sb, 1H) 7,54 (s, 2H)	125
26.		$CDCl_3$	1,48 (s, 18H) 2,02 (m, 2H) 2,91 (t, 2H) 3,75 (t, 2H) 5,43 (s, 1H) 6,26 (s, 1H) 7,59 (s, 2H)	133–135
27.		DMSO-d_6	1,3–1,59 (m, 20H) 1,71 (m, 2H) 2,77 (t, 2H) 3,41 (m, 2H) 4,45 (tb, 1H) 6,71 (s, 1H) 7,35 (sb, 1H) 7,54 (s, 2H)	82
28.		DMSO-d_6	1,36–1,53 (s, 18H és d, 3H) 4,89 (m, 1H) 5,75 (db, 1H) 6,79 (s, 1H) 7,38 (sb, 1H) 7,56 (s, 2H)	123–124

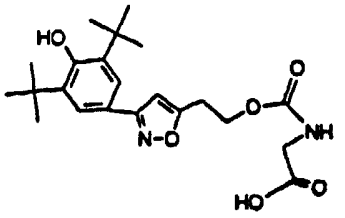
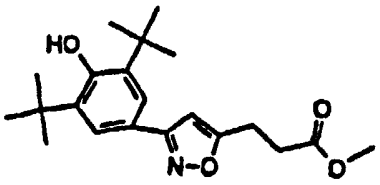
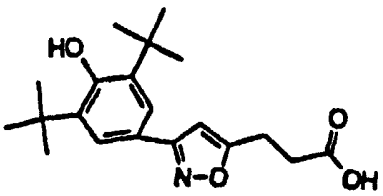
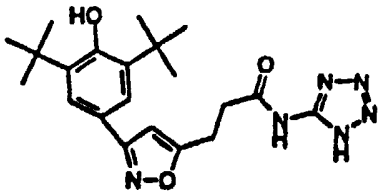
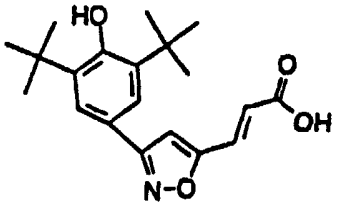
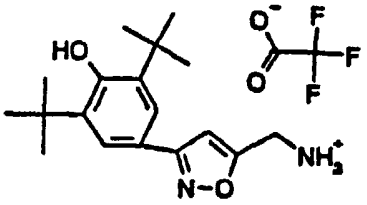
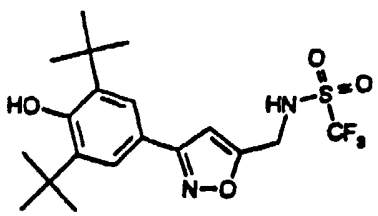
1. táblázat (folytatás)

Példa	Szerkezet	Oldószer	^{1}H–NMR	Olvadás-pont (°C)
29.		DMSO-d_6	1,43 (s, 18H) 1,52 (s, 6H) 5,62 (sb, 1H) 6,74 (s, 1H) 7,36 (sb, 1H) 7,55 (s, 2H)	142
30.		$CDCl_3$	1,32 (d, 3H) 1,48 (s, 18H) 1,80 (db, 1H) 2,95 (d, 2H) 4,24 (m, 1H) 6,44 (s, 1H) 6,36 (s, 1H) 7,60 (s, 2H)	125–132
31.		DMSO-d_6	0,62 (t, 3H) 1,44 (s, 18H) 1,48 (s, 3H) 1,80 (q, 2H) 5,50 (sb, 1H) 6,74 (s, 1H) 7,35 (sb, 1H) 7,57 (s, 2H)	150–151
32.		DMSO-d_6	1,43 (s, 18H) 4,41 és 4,63 (2 d, 2H) 5,11 és 5,52 (2 tb, 1H) 7,34 (sb, 1H) 7,66 (s, 2H)	191–195 (bomlik)
33.		$CDCl_3$	1,33 (t, 3H) 1,45 (5, 18H) 1,68 (s, 6H) 2,19 (sb, 1H) 4,32 (q, 2H) 4,37 (s, 2H) 6,43 (s, 1H) 7,67 (s, 2H)	124
34.		DMSO-d_6	1,42 (s, 18H) 1,53 (s, 6H) 4,30 (s, 2H) 5,65 (sb, 1H) 6,91 (s, 1H) 7,72 (s, 2H) 13,1 (sb, 1H)	209–210
35.		$CDCl_3$	1,30 (t, 3H) 1,47 (s, 18H) 1,53 (s, 6H) 4,23 (q, 2H) 4,65 (s, 2H) 5,48 (s, 1H) 6,54 (s, 1H) 7,61 (s, 2H)	67–68

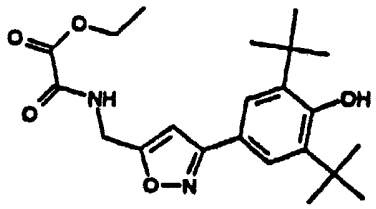
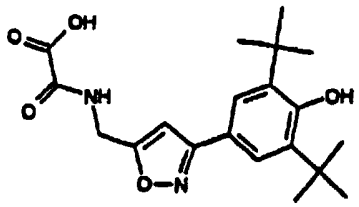
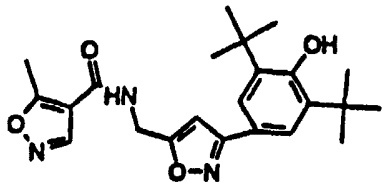
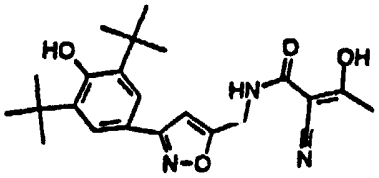
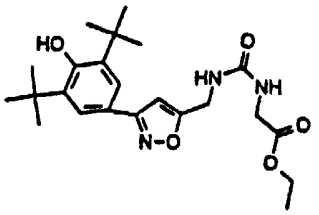
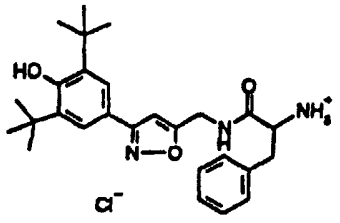
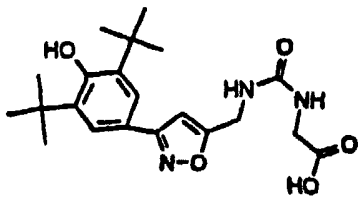
1. táblázat (folytatás)

Példa	Szerkezet	Oldószer	^{1}H–NMR	Olvadáspont (°C)
36.		$CDCl_3$	1,48 (s, 18H) 1,59 (s, 6H) 4,70 (s, 2H) 5,45 (sb, 1H) 6,54 (s, 1H) 7,61 (s, 2H)	182–185
37.		$CDCl_3$	1,48 (s, 18H) 1,59 (s, 6H) 3,60 (sb, 3H) 4,53 (sb, 2H) 5,47 (sb, 1H) 6,50 (s, 1H) 7,60 (s, 2H) 8,50 (sb, 1H)	107–113
38.		DMSO-d_6	1,43 (s, 18H) 1,54 (s, 6H) 4,69 (sb, 2H) 6,99 (s, 1H) 7,41 (sb, 1H) 7,56 (s, 2H) 11,80 (sb, 1H)	247–249 (bomlik)
39.		$CDCl_3$	1,28 (t, 3H) 1,47 (s, 18H) 3,98 (d, 2H) 4,21 (q, 2H) 5,23 (sb, 2H) 5,40 (tb, 1H) 5,46 (s, 1H) 6,58 (8, 1H) 7,60 (s, 2H)	(Olaj)
40.		DMSO-d_6	1,43 (s, 18H) 3,40 (sb, 2H) 3,71 (d, 2H) 5,20 (sb, 2H) 6,99 (s, 1H) 7,56 (s, 2H) 7,80 (tb, 1H) 12,65 (sb, 1H)	185–188
41.		$CDCl_3$	1,29 (t, 3H) 1,48 (s, 18H) 2,10 (m, 2H) 2,88 (t, 2H) 3,98 (d, 2H) 4,11–4,30 (m, 4H) 5,20 (tb, 1H) 5,44 (s, 1H) 6,27 (s, 1H) 7,59 (s, 2H)	86
42.		DMSO-d_6	1,43 (s, 18H) 1,99 (m, 2H) 2,82 (tb, 2H) 3,67 (d, 2H) 4,06 (tb, 2H) 6,77 (s, 1H) 7,33 (sb, 1H) 7,45 (tb, 1H) 7,55 (s, 2H) 12,55 (sb, 1H)	201–203

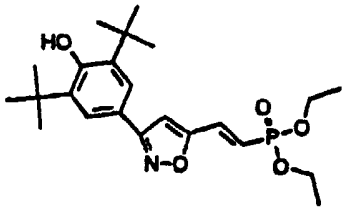
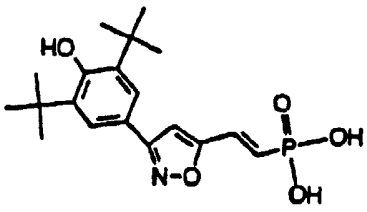
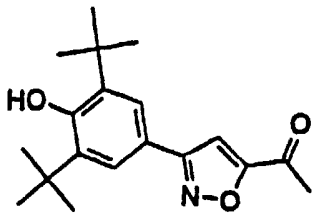
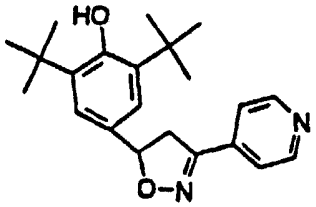
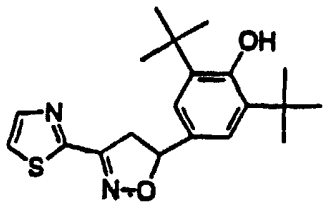
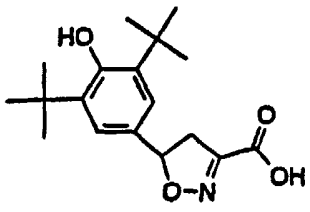
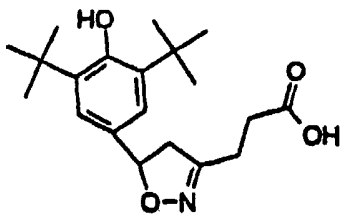
1. táblázat (folytatás)

Példa	Szerkezet	Oldószer	^{1}H–NMR	Olvadás-pont (°C)
43.		DMSO-d_6	1,42 (s, 18H) 3,10 (tb, 2H) 3,63 (d, 2H) 4,29 (tb, 2H) 6,80 (s, 1H) 7,35 (sb, 1H) 7,54 (s, 2H és tb, 1H) 12,55 (sb, 1H)	152–155
44.		$CDCl_3$	1,48 (s, 18H) 2,79 és 3,12 (2 t, 2H) 3,71 (s, 3H) 5,43 (s, 1H) 6,28 (s, 1H) 7,58 (s, 2H)	89
45.		DMSO-d_6	1,42 (s, 18H) 2,71 és 2,99 (2 t, 2H) 6,75 (s, 1H) 7,35 (sb, 1H) 7,54 (s, 2H) 12,4 (sb, 1H)	188
46.		DMSO-d_6	1,43 (s, 18H) 2,95 és 3,15 (2 tb, 2H) 6,75 (s, 1H) 7,38 (s, 1H) 7,54 (s, 2H) 12,2 (sb, 1H)	249 (bomlik)
47.		DMSO-d_6	1,44 (s, 18H) 6,65 és 7,51 (2 d, 1H) 7,49 (s, 1H) 7,60 (s, 2H) 13,0 (sb, 1H)	206–208
48.		DMSO-d_6	1,43 (s, 18H) 4,33 (s, 2H) 7,06 (s, 1H) 7,52 (sb, 1H) 7,55 (s, 2H) 8,65 (sb, sav H)	194
49.		$CDCl_3$	1,48 (s, 18H) 4,60 (s, 2H) 5,51 (s, 1H) 6,55 (s, 1H) 7,58 (s, 2H)	163–165

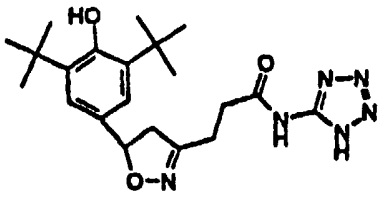
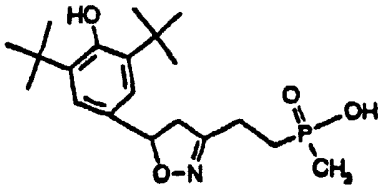
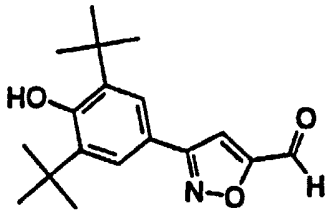
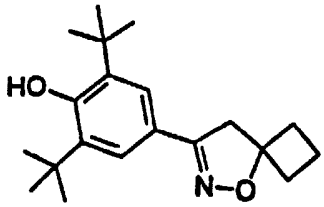
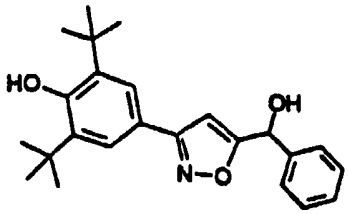
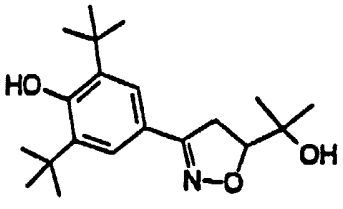
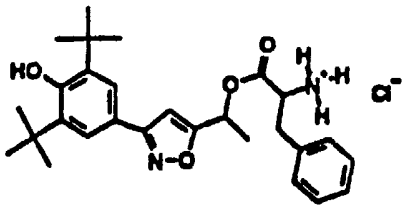
1. táblázat (folytatás)

Példa	Szerkezet	Oldószer	^{1}H–NMR	Olvadás-pont (°C)
50.		$CDCl_3$	1,35–1,50 (s, 18H és t, 3H) 4,38 (q, 2H) 4,69 (d, 2H) 5,46 (s, 1H) 6,49 (s, 1H) 7,55 (s és tb, 3H)	124–126
51.		DMSO-d_6	1,41 (s, 18H) 4,48 (d, 2H) 6,81 (s, 1H) 7,40 (sb, 1H) 7,55 (s, 2H) 9,50 (tb, 1H) 13,7 (sb, 1H)	165 (bomlik)
52.		$CDCl_3$	1,46 (s, 18H) 2,73 (s, 3H) 4,72 (d, 2H) 5,47 (s, 1H) 6,51 (s, 1H és tb, 1H) 7,57 (s, 2H) 8,41 (s, 1H)	146–148
53.		$CDCl_3$	1,47 (s, 18H) 2,31 (s, 3H) 4,67 (d, 2H) 5,46 (s, 1H) 6,46 (s, 1H) 6,51 (tb, 1H) 7,58 (s, 2H) 15,3 (sb, 1H)	178–180
54.		$CDCl_3$	1,25 (t, 3H) 1,46 (s, 18H) 4,0 (d, 2H) 4,18 (q, 2H) 4,54 (d, 2H) 5,38 (tb, 1H) 5,45 (s, 1H) 5,54 (tb, 1H) 6,47 (s, 1H) 7,57 (s, 2H)	145–150
55.		DMSO-d_6	1,44 (s, 18H) 3,0–3,22 (m, 2H) 4,07 (tb, 1H) 4,45 (db, 2H) 6,75 (s, 1H) 7,15–7,35 (m, 5H) 7,54 (8, 2H) 8,05 (sb, sav H) 9,35 (tb, 1H)	98–138 (amorf)
56.		DMSO-d_6	1,42 (5, 18H) 3,73 (d, 2H) 4,37 (d, 2H) 6,40 (tb, 1H) 6,68 (s, 1H) 6,85 (tb, 1H) 7,40 (sb, 1H) 7,53 (s, 2H)	159–165

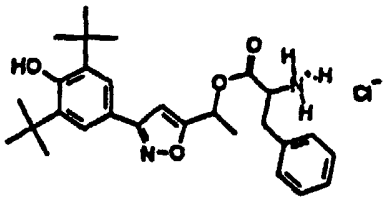
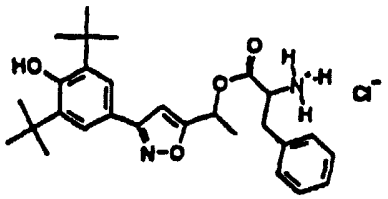
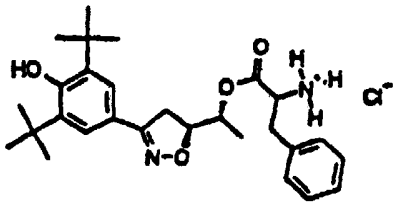
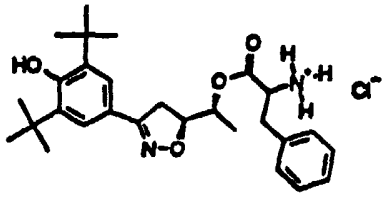
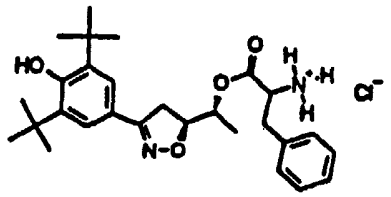
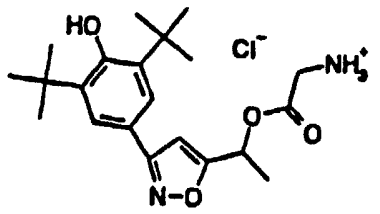
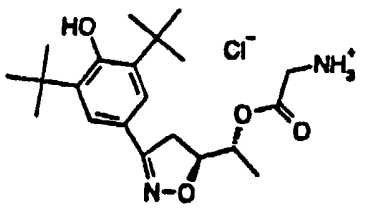
1. táblázat (folytatás)

Példa	Szerkezet	Oldószer	^{1}H–NMR	Olvadáspont (°C)
57.		DMSO-d_6	1,29 (t, 6H) 1,43 (s, 18H) 4,0–4,15 (m, 2H) 6,75 (t, 1H) 7,35 (dd, 1H) 7,47 (d, 1H) 7,59 (s, 2H)	119–125
58.		DMSO-d_6	1,44 (s, 18H) 6,68 (dd, 1H) 7,15 (dd, 1H) 7,39 (s, 1H) 7,60 (s, 2H) 9,3–10,0 (sb, sav H)	247–249 (bomlik)
59.		$CDCl_3$	1,49 (s, 18H) 2,65 (s, 3H) 5,53 (s, 1H) 7,17 (s, 1H) 7,64 (s, 2H)	161–162
60.		$CDCl_3$	1,44 (s, 18H) 3,25–3,41 és 3,60–3,75 (2 m, 1H) 5,31 (s, 1H) 5,71 (m, 1H) 7,17 (s, 2H) 7,57 és 8,70 (2 m, 2H)	191–193
61.		DMSO-d_6	1,39 (s, 18H) 3,35–3,55 és 3,81–3,99 (2 m, 1H) 5,73 (m, 1H) 7,11 (s, 1H) 7,16 (s, 2H) 7,92 és 8,02 (2 d, 2H)	89–91
62.		$CDCl_3$	1,44 (s, 18H) 3,17–3,33 és 3,51–3,67 (2 m, 1H) 5,33 (sb, 1H) 5,78 (m, 1H) 7,13 (s, 2H) 6,7–7,5 (sb, sav H)	151–153
63.		$CDCl_3$	1,43 (s, 18H) 2,60–2,82 (m, 4H) 2,90–3,05 és 3,20–3,38 (2 m, 1H) 5,25 (sb, 1H) 5,49 (m, 1H) 7,13 (s, 2H) 6,1–7,6 (sb, sav H)	171–174

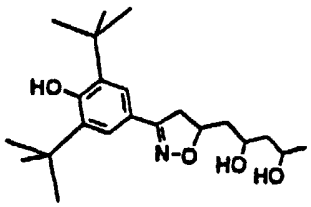
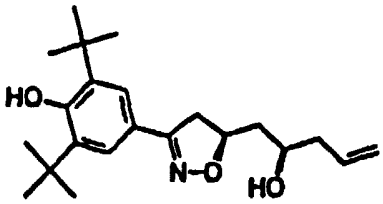
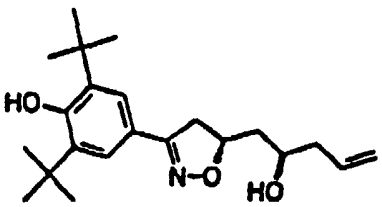
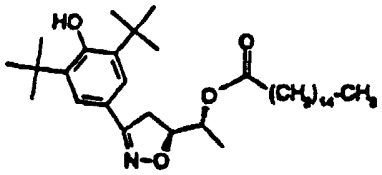
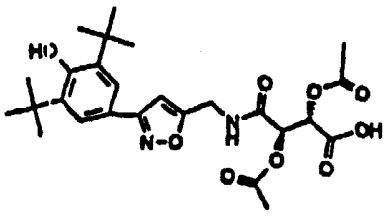
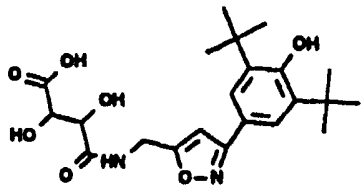
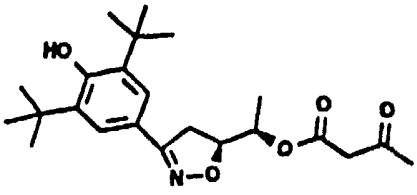
1. táblázat (folytatás)

Példa	Szerkezet	Oldószer	^{1}H–NMR	Olvadáspont (°C)
64.		$CDCl_3$	1,20 (s, 18H) 2,47–2,88 (m, 5H) 3,06–3,25 (m, 1H) 4,25 (sb, sav H) 5,28 (m, 1H) 6,89 (s, 2H)	220–224
65.		$CDCl_3$	1,43 (s, 18H) 1,53 (d, 3H) 2,0–2,21 (m, 2H) 2,55–2,79 (m, 2H) 2,90–3,05 és 3,20–3,39 (2 m, 1H) 5,35 (sb, sav H) 5,48 (m, 1H) 7,13 (s, 2H)	182–164 (bomlik)
66.		$CDCl_3$	1,49 (s, 18H) 5,54 (s, 1H) 7,25 (s, 2H) 10,02 (s, 1H)	127
67.		$CDCl_3$	1,35–1,95 (m, 2H és s, 16H) 2,1–2,3 (m, 2H) 2,45–2,67 (m, 2H) 3,39 (s, 2H) 6,46 (s, 1H) 7,49 (s, 2H)	121–122
68.		$CDCl_3$	1,47 (s, 18H) 2,8 (sb, 1H) 5,45 (sb, 1H) 5,95 (s, 1H) 6,44 (s, 1H) 7,3–7,5 (m, 5H) 7,59 (s, 2H)	140
69.		$CDCl_3$	1,23 és 1,35 (2 s, 3H) 1,45 (s, 18H) 2,06 (sb, 1H) 3,15–3,43 (m, 2H) 4,53 (m, 1H) 5,48 (sb, 1H) 7,50 (s, 2H)	139
70.		DMSO-d_6	1,3–1,65 (2 s, 18H és 2d, 3H) 2,95–3,3 (m, 2H) 4,42 (tb, 1H) 5,9–6,13 (m, 1H) 6,98 és 7,02 (2s, 1H) 7,1–7,55 (m, 5H és 2s, 2H) 8,4 (sb, 3H)	105–125 (bomlik)

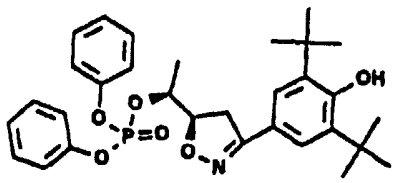
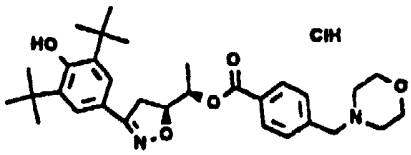
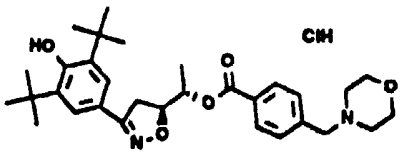
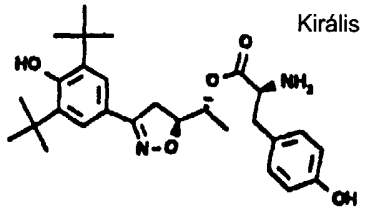
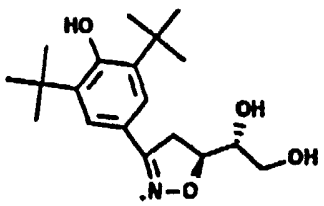
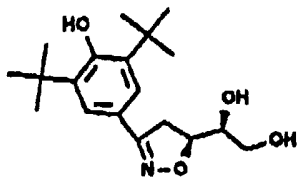
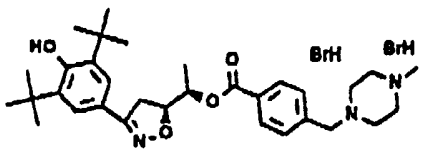
1. táblázat (folytatás)

Példa	Szerkezet	Oldószer	^{1}H–NMR	Olvadáspont (°C)
71.		DMSO-d_6	1,3–1,45 (s, 18H és d, 3H) 3,04–3,3 (m, 2H) 4,38 (tb, 1H) 5,93–6,08 (m, 1H) 7,11 (s, 1H) 7,28–7,41 (m, 5H) 7,56 (s, 2H) 8,4 (sb, 3H)	105–115 (bomlik)
72.		DMSO-d_6	1,43 (s, 18H) 1,63 (d, 3H) 3,0–3,25 (m, 2H) 4,41 (tb, 1H) 6,05–6,14 (m, 1H) 7,0 (s, 1H) 7,1–7,28 (m, 5H) 7,56 (s, 2H) 8,72 (sb, 3H)	190
73.		DMSO-d_6	1,02 és 1,23 (2, d, 1,5H) 1,35 és 1,40 (2 s, 9H) 2,85–3,57 (m, 4H) 4,1–4,3 (m, 1H) 4,54–4,78 (m, 1H) 4,95–5,15 (m, 1H) 7,1–7,48 (m, 5H és 2d, 2×1H) 8,55 (sb, 3H)	210–215
74.		DMSO-d_6	1,02 (d, 3H) 1,40 (s, 18H) 2,90–3,50 (m, 4H) 4,1–4,25 (m, 1H) 4,58–4,73 (m, 1H) 4,90–5,04 (m, 1H) 7,1–7,31 (m, 6H) 7,37 (s, 2H) 8,79 (sb, 3H)	207
75.		DMSO-d_6	1,23 (d, 3H) 1,35 (s, 18H) 2,95–3,06 (d, 2H) 3,20–3,57 (m, 2H) 4,25 (t, 1H) 4,63–4,78 (m, 1H) 5,08–5,15 (m, 1H) 7,1–7,3 (m, 5H) 7,38 (s, 2H) 8,40 (sb, 3H)	193
76.		DMSO-d_6	1,43 (s, 18H) 1,66 (d, 3H) 3,93 (sb, 2H) 6,13 (q, 1H) 7,17 (s, 1H) 7,45 (sb, 1H) 7,57 (s, 2H) 8,60 (sb, 3H)	70–85 (bomlik)
77.		DMSO-d_6	1,23 (d, 3H) 1,40 (s, 18H) 3,22–3,90 (m, 4H) 4,65–4,85 (m, 1H) 5,0–5,18 (m, 1H) 7,40 (s, 2H) 7,47 (sb, 1H) 8,40 (sb, 3H)	90–110 (bomlik)

1. táblázat (folytatás)

Példa	Szerkezet	Oldószer	^{1}H–NMR	Olvadáspont (°C)
78.		$CDCl_3$	1,22 (d, 3H) 1,45 (s, 18H) 1,50–2,05 (m, 4H) 2,97–3,12 és 3,40–3,57 (2 m, 1H) 3,2–3,8 (sb, 2H) 4,0–4,28 (m, 2H) 4,82–5,02 (m, 1H) 5,50 (s, 1H) 7,49 (s, 2H)	144–145
79.		$CDCl_3$	1,45 (s, 18H) 1,50–2,0 (m, 2H) 2,2–2,35 (m, 2H) 2,6 (sb, 1H) 3,07–3,16 és 3,40–3,56 (2 m, 1H) 3,85–4,05 (m, 1H) 4,8–5,0 (m, 1H) 5,08–5,23 (m, 2H) 5,50 (s, 1H) 5,7–5,95 (m, 1H) 7,49 (s, 2H)	103–105
80.		$CDCl_3$	1,45 (s, 18H) 1,55–2,45 (m, 5H) 2,95–3,10 és 3,40–3,56 (2 m, 1H) 3,91–4,05 (m, 1H) 4,87–5,05 (m, 1H) 5,08–5,23 (m, 2H) 5,48 (s, 1H) 5,7–5,95 (m, 1H) 7,49 (s, 2H)	115–118
81.		$CDCl_3$	0,88 (t, 3H) 1,16–1,7 (m, 27 H s, 18H, 1,46) 2,3 (t, 2H) 3,05–3,25 és 3,3–3,47 (2 m, 1H) 4,6–4,75 (m, 1H) 4,98–5,12 (m, 1H) 6,48 (s, 1H) 7,48 (8, 2H)	Olaj
82.		$CDCl_3$	1,47 (s, 18H) 2,06 és 2,21 (2 s, 3H) 4,45–4,81 (m, 2H) 5,48 (sb, 1H) 5,64 és 5,83 (2 d, 2H) 6,49 (s, 1H) 6,85 (t, 1H) 7,56 (8, 2H)	88–92 (bomlik)
83.		DMSO-d_6	1,43 (s, 18H) 4,30–4,51 (m, 4H) 6,69 (s, 1H) 7,39 (sb, 1H) 7,52 (s, 2H) 8,48 (tb, 1H)	125–154
84.		$CDCl_3$	1,34 (d, 3H) 1,46 (s, 9H) 2,25 (s, 3H) 3,13–3,49 (m, 2H) 3,45 (s, 2H) 4,62–4,77 (m, 1H) 5,03–5,18 (m, 1H) 5,49 (sb, 1H) 7,49 (s, 2H)	102

1. táblázat (folytatás)

Példa	Szerkezet	Oldószer	^{1}H–NMR	Olvadáspont (°C)
85.		DMSO-d_6	1,31 (d, 3H) 1,40 (s, 18H) 3,18–3,60 (m, 2H) 4,69–4,95 (m, 2H) 7,13–7,48 (m, 12H)	118
86.		DMSO-d_6	1,32 (d, 3H) 1,38 (s, 18H) 2,95–3,98 (m, 10H) 4,38 (sb, 2H) 4,76–4,91 (m, 1H) 5,19–5,28 (m, 1H) 7,40 (s, 2H) 7,43 (sb, 1H) 7,73 (d, 2H) 7,94 (d, 2H) 11,79 (sb, 1H)	241–243 (bomlik)
87.		DMSO-d_6	1,32–1,45 (d, 3H s, 18H) 2,95–4,00 (m, 10H) 4,40 (db, 2H) 4,74–4,91 (m, 1H) 5,09–5,23 (m, 1H) 7,41 (s, 2H) 7,43 (sb, 1H) 7,76 (d, 2H) 8,00 (d, 2H) 11,50 (sb, 1H)	248–255 (bomlik)
88.	 Királis	$CDCl_3$	1,25 és 1,30 (2 d, 1,5H) 1,41 és 1,44 (2 s, 9H) 2,65–3,71 (m, 5H) 4,65–4,82 (m, 1H) 5,04–5,22 (m, 1H) 5,49 (sb, 1H) 6,55–6,68 (m, 2H) 6,85–6,97 (m, 2H) 7,47 és 7,49 (2 s, 1H)	110–135
89.		DMSO-d_6	1,41 (s, 9H) 3,26–3,63 (m, 5H) 4,52–4,71 (m, 1H és sb, 1H) 5,02 (d, 1H) 7,37 (s, 1H) 7,41 (s, 2H)	155
90.		DMSO-d_6	1,40 (s, 9H) 3,14–3,52 (m, 5H) 4,56–4,72 (m, 2H) 4,85 (d, 1H) 7,36 (s, 1H) 7,39 (s, 2H)	129
91.		DMSO-d_6	1,32 (d, 3H) 1,41 (s, 18H) 2,87 (sb, 3H) 3,10–3,68 (m, 10H) 4,27 (sb, 2H) 4,79–4,92 (m, 1H) 5,21–5,33 (m, 1H) 7,45 (s, 2H) 7,47 (sb, 1H) 7,61 (d, 2H) 7,96 (d, 2H) 10,0 (sb, 1H)	195–198

Hatástani vizsgálatok

Az (I) általános képletű vegyületek értékes gyulladásellenes, asztmaellenes és immunmoduláló tulajdonságát, valamint jó elviselhetőségét a következő kísérletekben vizsgáltuk, amelyek elismerten különösen jól megfelelnek az ilyen reumaellenes hatású vegyületek hatásminőségének értékelésére.

Perifériás humán vérből állítottunk elő polimorfonukleáris leukocitákat (PMNL) az 1. és 2. vizsgálat elvégzéséhez. Úgy jártunk el, hogy 10 ml humán vért 10 ml HBSS-sel (Serva) hígítottunk, és 15 ml Lymphoprep (Dr. Molter GmbH, Heidelberg) készítmény rárétegzése után 25 percig 400×g mellett (1600 fordulat/perc sebességgel, Minifuge 2 készülékben, Heraeus, Osterode) centrifugáltunk. Három fázis képződött: a felső plazmából és trombocitákból, a középső Lymphoprepből állt. Ezen két réteg között egy fehér mononukleáris sejtekből álló gyűrű alakult ki. Az alsó fázist eritrociták alkották, ezt egy fehér PMNL-réteg fedte. A felső fázist, valamint a Lymphoprep réteget és a fehér gyűrűt egy fecskendővel óvatosan eltávolítottuk. Az ott maradó csapadékot 15 ml, MP16-tal készült 3%-os dextránoldatban (móltömeg 485 000, Sigma, Deisenhofen) óvatosan ismét szuszpendáltuk, majd szobahőmérsékleten egy órán át állni hagytuk. Eközben az eritrociták leülepedtek, míg a PMNL a felülúszóban maradt. Ezt a felülúszót elválasztottuk, azonos térfogatú PM16-tal hígítottuk, és 15 percig 400×g-n centrifugáltuk. Amennyiben a PMNL-csapadék eritocitákkal erősen szennyezett, egy hipotóniás lízis elvégzése szükséges. Ehhez a csapadékot 750 µl vízben újraszuszpendáljuk, a szuszpenziót pontosan 15 másodperc elteltével 7 ml PM16-tal hígítjuk, és 10 percig 400×g-n centrifugáljuk. Szükséges esetben ezt a lízist még egy alkalommal megismételjük. Egyébként a PMNL-csapadékot egy alkalmas közegben szuszpendáljuk.

1. vizsgálat

Proteolitikus hatás felszabadítása

250 µl PMNL-t (5×10^6 sejt/ml PBS 7,5 mM glükózzal) 1 µl vizsgálandó anyaggal 20 percig 37 °C-on inkubáltunk. Ezután 1 µl Cytochalasin B-t (5 µg/ml vizsgálandó elegy) adtunk az elegyhez, és további 5 percig 37 °C-on inkubáltuk. 1 µl szövetnekrózisfaktor-alfa (TNF; 30 ng/ml vizsgálandó elegy) hozzáadása után az inkubálást 5 percig folytattuk. A felszabadítást 1 µl fMLP (10 nmol/l vizsgálandó elegy) hozzáadásával indítottuk. A mintát 60 percig 37 °C-on tartottuk, majd a reakciót a minta 0 °C-ra történő hűtésével leállítottuk. A mintát centrifugáltuk, a felülúszót elválasztottuk és befagyasztottuk. A Cytochalasin B-t és az fMLP-t DMSO-ban oldottuk, és pufferes TNF-fel hígítottuk. A felülúszóból 50 µl-t egy 96 mérőhelyes mikrotiterlemezen 175 µl pufferrel (100 mM HEPES pH 7,5, 500 mM NaCl) elegyítettük. 25 µl szubsztrát-(MeO-szukcinil-L-Ala-L-Ala-L-Pro-L-Val-p-nitroanilid) oldat hozzáadása után 405 nm-en mértük minden üreg extinkcióját 0, 5, 10, 15, 30 és 60 perc eltelte után.

2. vizsgálat

Oxigéngyökök felszabadítása

A PMNL-t 7,5 nM glükózzal kiegészített Dulbeccos PBS-ben szuszpendáltuk (5×10^6 sejt/ml). Vigyázni kell, hogy a PMNL eritrocitáktól mentes legyen. Egy félmikroküvettában 100 µl PMNL-t, 700 µl PRS+glükózt és 100 µl Cytochrom C-t (9,38 mg/ml PBS+glükóz) elegyítettünk. Az fMLP indukálta oxigénfelszabadításhoz 100 µl PMNL-t, 500 µl PBS+glükózt, 100 µl Cytochalasin B-t (1×10^{-6} M), 100 µl TNF-et (0,05 ng) és 100 µl Cytochrom C-t (9,38 mg/ml PBS+glükóz) elegyítettünk. A méréseket egy kétsugaras Perkin–Elmer 552 S típusú fotométerben 550 nm-es hullámhossznál végeztük. A méréstartomány 0–1 extinkciósegység volt. A küvettákat 37 °C-ra termosztáltuk. A referenciaküvetta a fentiek mellett még 10 µl SOD-ot (6 mg SOD/ml PRS+glükóz) tartalmazott. 5 perc eltelte után a reakciót 100 µl 1×10^{-7} M fMLP-vel indítottuk.

3. vizsgálat

Fehérvérsejtek LTB_4-képzése

Fehérvérsejtek előállítása

40 ml humán vért 8 ml 6%-os dextránoldattal (480 000 móltömegű dextrán PM16-ban) elegyítettünk. A elegyet szobahőmérsékleten 1 órán át állni hagytuk, majd a fehérvérsejtekből álló felülúszót elválasztottuk, azonos térfogatú PM16-tal hígítottuk, és 15 percig 300×g-n (1600 fordulat/perc) centrifugáltuk. A csapadékot ezután mintegy 5-6 ml PM16-ban szuszpendáltuk, és a sejtszámot Coulter Counterben történő meghatározás után 10^7 sejt/ml-re állítottuk be.

A kiindulási elegy 0,24 ml sejtszuszpenzióból, 0,03 ml 20 mM $CaCl_2$/5 mM $MgCl_2$ oldatból és 5 µl vizsgálandó anyagból állt. 15 perces 37 °C-on végzett előinkubálás után a reakciót 0,03 ml A231 87/glutationnal (100 µg A23187/ml; 15,4 µg glutation/ml) indítottuk. Az inkubálást 37 °C-on 5 percig végeztük, majd a minta azonnali 0 °C-ra való hűtésével befejeztük. Ezután az elegyet egy Eppendorff centrifugában 0 °C-on 2 percig centrifugáltuk, és a felülúszót elválasztottuk, majd kromatográfiásan vizsgáltuk.

Nagynyomású folyadékkromatográfia (HPLC): a HPLC-berendezés egy Kratos pumpából (Spectroflow 400), egy hűtött automata mintainjektorból (RT 7041, Biotronik) egy 75 µl-es mintatartóval, egy Nucleosil C_{18} oszlopból (100·3 mm, 5 µm részecskeméret, Chrompack), egy Spectroflow 757 UV-detektorból (Kratos) (hullámhossz: 280 nm, méréstartomány 0,1 AUFS, időállandó 0,5 s) és egy Spectra-Physics integrátorból (SP 4270) állt. A futtatóelegy (725 ml metanol, 275 ml víz és 0,1 ml ecetsav) 0,7 ml/perc sebességgel, kb. 10^7 Pa nyomáson haladt át az oszlopon.

Észrevételek: szükségesnek mutatkozik a tényleges mérések megkezdése előtt egy kontrollpróbát mérni. Ennél a beállított méréstartományt leellenőrizhetjük, és adott esetben megváltozhathatjuk. Kényszerítően szükséges a vizsgálandó anyagot a mindenkori vizsgálati koncentrációban (például 10^{-5} M) PM16-ban a sejtinkubátum előtt megmérni, mivel a vizsgálandó anyag az LTB_4-csúcsot átfedheti.

Amennyiben ez a helyzet, egy alacsonyabb koncentrációt kell választani.

4. vizsgálat

Citokin szabaddá tételének stimulálása

Mononukleáris sejtek előállítása humán vérből

10 ml humán vért, amelyet 1 ml 3,8%-os nátrium-citrát-oldattal stabilizáltunk, 10 ml PM16-tal (Serva, Heidelberg) hígítottunk, és 15 ml Lymphoprep (Dr. Molter GmbH, Heidelberg) készítményt rétegeztünk rá. A mintát 40 percig 400×g-n (1600 fordulat/perc, Minifuge 2, Heraeus, Osterode) szobahőmérsékleten centrifugáltuk. A mononukleáris sejtek fehér gyűrűként a Lymphoprep/plazma határán láthatók. Ezt a gyűrűt egy fecskendővel óvatosan eltávolítottuk, azonos térfogatú PM16-tal hígítottuk, és 10 percig 400×g-n centrifugáltuk. A csapadékot mintegy 10 ml RPMI 1640-nel (+300 mg/l L-glutamin, Gibco, Eggenstein) mostuk (Wallis 1986). A sejteket ezután mintegy 1 ml RPMI 1640-ben (+300 mg/l L-glutamin+25 mM HEPES+100 μg/ml sztreptomicin+100 μg/ml penicillin) ismét szuszpendáltuk, a sejtsűrűséget egy Coulter Counter JT (Coulter Diagnostios) számlálóval meghatároztuk, és 5×10^6/ml értékre beállítottuk. A sejtek jellemzően 90% limfocitából és 10% monocitából állnak.

230 μl mononukleáris sejtet 10 μl vizsgálandó anyaggal (10 μM DMSO/víz 1/10 elegyben) és 10 μl lipopoliszacharidal (LPS; 500 μg 1 ml DMSO-ban oldva és a kísérlet megkezdése előtt vízzel tízszeresre hígítva, Salmonella abortus equiből, Sigma, Deisenhofen) 20-22 órán át 37 °C-on, 5% CO_2 jelenlétében (az IL–6 esetében 5 órán át) inkubáltunk. A mintát jégfürdőben 0 °C-ra hűtöttük, és egy Sigma centrifugában centrifugáltuk (2 perc, 2000 fordulat/perc). A felülúszó egy részletét ELISA-val (enzyme linked immunosorbent assay) (Biermann, Bad Nauheim) vizsgáltuk. Az IL rövidítés az interleukint, a TNF a tumornekrózisfaktor-alfát jelenti.

5. vizsgálat

Ciklooxigenázfüggő trombocitaaggregáció

Vérlemezkékben gazdag plazma (PRP): humán vérhez térfogata 1/10-ének megfelelő térfogatú 3,8%-os nátrium-citrát-oldatot adtunk a koaguláció gátlására. Ezután az elegyet 20 percig 105×g-n centrifugáltuk, és a felülúszót (PRP) eltávolítottuk. Egy PAP4 aggregométerben (BioData) 200 μl PRP-t 30 μl vizsgálandó anyaggal 10 percig 37 °C-on előinkubáltunk. A vizsgálandó anyagot szerves oldószerben oldottuk, és az oldatot pufferrel (50 mM Tris-HCl, pH 8,0; 90 mM NaCl) 1:30 arányban hígítottuk. Az aggregációt 20 μl 5 mg/ml koncentrációjú arachidonsavval váltottuk ki. Az aggregáció alatt a mintát 800-as percenkénti fordulatszámmal kevertük.

Az 1–3. vizsgálatok eredményeit a 2. táblázatban foglaltuk össze. A táblázat adatai a vizsgálandó anyag kiindulási koncentrációját μM-ban és mellette a mért maradékaktivitást a 100%-nak tekintett kontroll %-ában mutatják. A 4. vizsgálatban emellett az interleukint is megadjuk.

2. táblázat

Példa	1. vizsg.	2. vizsg.	3. vizsg.	4. vizsg.	5. vizsg.
1.			10 μM 92		10 μM 93
3.					100 μM 98
5.					100 μM 98
7.					100 μM 95
8.			10 μM 15 1 μM 93		100 μM 91
9.	100 μM 64		10 μM 0 1 μM 56	IL–1 10 μM 73 IL–6 10 μM 93 TNFα 10 μM 63	100 μM 92
10.			10 μM 20 1 μM 89	TNFα 10 μM 78	100 μM 98
13.	100 μM 20 10 μM 77	25 μM 22 10 μM 65			10 μM 98
14.					10 μM 100
18.				IL–1α 100 μM 36 10 μM 89	
19.	100 μM 20 10 μM 78	10 μM 94			10 μM 100
20.					10 μM 100
24.				IL–1 10 μM 86	10 μM 94
25.			10 μM 29 1 μM 85	IL–1α 10 μM 62 ILβ 10 μM 93 TNFα 10 μM 82	10 μM 86

2. táblázat (folytatás)

Példa	1. vizsg.	2. vizsg.	3. vizsg.	4. vizsg.	5. vizsg.
26.				TNFα 10 μM 88	10 μM 94
27.					100 μM 97
28.	10 μM 59 1 μM 97	25 μM 8 10 μM 60	10 μM 0 1 μM 14	IL–1α 10 μM 93	10 μM 93
31.					100 μM 100
32.	100 μM 34 10 μM 72 1 μM 84				
34.					100 μM 98
35.				IL–1α 10 μM 84	100 μM 94
36.			10 μM 93		100 μM 87
38.				IL–1α 1 μM 89 IL–1β 1 μM 85	100 μM 90
39.					100 μM 98
41.	100 μM 78	50 μM 36 5 μM 75	10 μM 13	TNFα 10 μM 89	100 μM 95
43.			10 μM 93		100 μM 99
44.					10 μM 99
45.					100 μM 98
46.				IL–1α 1 μM 77 IL–1β 1 μM 85 TNFα 10 μM 79	100 μM 90
47.	100 μM 17 10 μM 38 1 μM 85			IL–1α 10 μM 72 1 μM 89 TNFα 10 μM 64	
49.	100 μM 19 10 μM 23 1 μM 88	50 μM 12 5 μM 80	10 μM 0 1 μM 90	IL–6 1 μM 91 TNFα 10 μM 91	
57.					100 μM 99
58.					100 μM 99
59.	100 μM 35 10 μM 61 1 μM 91	10 μM 48 1 μM 135			
60.			10 μM 88		
61.	100 μM 80		10 μM 3	IL–1α 1 μM 94 TNFα 10 μM 68	100 μM 94
63.	100 μM 66 10 μM 88	50 μM 79	10 μM 91	IL–1α 10 μM 75 IL–1β 10 μM 77	
64.	100 μM 72 10 μM 96			IL–1 10 μM 68 1 μM 85 IL–1 10 μM 82	100 μM 97
70.		10 μM 22			
71.	10 μM 42 1 μM 79				25 μM 97
72.	10 μM 51 1 μM 82				25 μM 100
73.		10 μM 9 1 μM 100			25 μM 100
74.	10 μM 64				25 μM 95
75.	10 μM 49 1 μM 89				25 μM 98

2. táblázat (folytatás)

Példa	1. vizsg.	2. vizsg.	3. vizsg.	4. vizsg.	5. vizsg.
76.	100 μM 9 10 μM 68				25 μM 99
77.	100 μM 30 10 μM 74				25 μM 100
78.					50 μM 94
79.					100 μM 96
80.					50 μM 97
81.					100 μM 100
82.					100 μM 93
85.					100 μM 94

A táblázat magyarázata a 9. példa esetében: 100 μl 9. példa szerinti gátlóanyag hozzáadása után a proteolitikus aktivitás 64%-a szabadul fel (1. vizsgálat). Gátlóanyag nélkül 100%-nak megfelelő proteolitikus hatás válik szabaddá.

Eredmények

A találmány szerinti vegyületek hatásos gyulladásgátlók, mivel jelentős biológiai hatást mutatnak proteolitikus hatás (1. vizsgálat) és aktív oxigén (2. vizsgálat) szabaddá válásának, valamint a humán leukocita-rendszerben a leukotrién B4 szintézisének (4. vizsgálat) gátlójaként. Humán rendszerben a különféle citokinek mononukleáris sejtekből való szabaddá válását szintén gátolják. Különösen a ciklooxigenázfüggő humán trombocitarendszerre nem fejtenek ki a vegyületek gátlóhatást (5. vizsgálat). Nem kívánt mellékhatások (a vérzésidő meghosszabbodása, gasztrointesztinális fekélyképződés, vesetoxicitás), amelyek a ciklooxigenáz gátlására vezethetők vissza, következésképpen nem várhatók.

6. vizsgálat

Arthritisellenes hatás vizsgálata adjuváns-arthritis modell segítségével

Vizsgálati állatként Wistar-Lewis törzshöz tartozó (Mollegaard, Dánia) hím patkányokat használtunk. A testtömegük 160 és 200 g közötti volt. 0,1 ml Freund-féle adjuváns (=6 mg mycobacterium-butiricum-szuszpenzió, Difco Lab./Detroit, Mich. USA, nehéz fehér parraffinolaj, Merck, Darmstadt, 1 ml-ében) szubplantáris injekciója a faroktőbe adva a kísérlet 10–14. napján immunpatológiai folyamatokhoz, krónikus gyulladáshoz, különösen arthritises és periarthritises tünetekhez vezetett más testhelyeken (szekunder lézió). Az állatok Altromin-R (Altrogge cég, Lage) standard tápot és csapvizet szabadon fogyaszthattak. Az állatokat a 14. naptól a kísérlet végéig 60 mg/kg kodeinnel érzéstelenítettük. A vizsgálandó anyagot naponta (összesen 17 napon át), az adjuváns alkalmazásának napjától kezdve orálisan, CMC-szuszpenzióként 1 ml/100 g testtömeg injekció-térfogatban adagoltuk. Az első és a 18. napon mindként hátsó mancs térfogatát és a testtömeget meghatároztuk. A hatás kritériumául a mancstérfogat növekedésének csökkenése szolgált a kezeletlen kontrollcsoporttal szemben, ahol a két hátsó mancs átlagát vettük. Az eredményeket a 3. táblázatban foglaltuk össze.

7. vizsgálat

Az asztmaellenes hatás vizsgálata

Az asztmaellenes hatás vizsgálatához érzéstelenített tengerimalacokat használtunk, amelyeknek a jugularis vénájába helyezett kanül adott lehetőséget a PAF injektálására. A vizsgálandó készítményt szintén intravénásan (iv.) 5 perccel a PAF adagolása előtt ugyanazon a vénás kanülön át juttattuk a véráramba, vagy intraduodenálisan (id.) a nyombél egy műtéti úton létrehozott és kanüllel ellátott nyílásába adagoltuk, 15 perccel a PAF beadása előtt. A készítmény beadása előtt és után a légcső tágasságát egy over-flowpneumonogramm segítségével regisztráltuk. Értékelés: ED_{50} mg/kg id. a PAF által indukált asztmás rohammal szemben. Az eredményeket a 3. táblázatban foglaltuk össze.

8. vizsgálat

Tumorsejt-proliferáció gátlása

A vizsgálandó anyagok sejtproliferációt gátló hatásának meghatározásához 20-10-5S tumorsejtvonalat használtunk (az ATCC-től (American Type Culture Collection) származó hibridóma-sejtvonal, amely egér-T-sejtekkel szembeni antitestet termel). A sejteket szérummentes körülmények között CG-közegben [Cell-Growth-Medium=Tscove-ATL (+albumin+transzferrin+lipid); Vitromex cég, Vilshofen] 37 °C-on és 5% CO_2 jelenlétében tenyésztettük. A vizsgálathoz csak a növekedés logaritmikus fázisában levő sejteket használtunk. A vizsgálandó anyagokat különböző (1–50 μM) koncentrációban 4×10^3 20-10-5S sejttel együtt, kerek aljú mikrotiterlemezre pipettáztuk (össztérfogat a közeggel együtt 200 μl). 48 órás inkubációs idő után (37 °C és 5% CO_2) a lemezekbe 25 μl tricium-timidint (=0,25 μCi/vizsgálandó anyag, specifikus aktivitás 23 Ci/mM) adtunk. A következő 16 óra alatt a radioaktív jelzésű timidin a növekedő sejtek DNS-ébe beépült. A keveréket üvegszűrőn szívatással szűrtük,

és a beépült radioaktivitást egy β-számlálóval (Beta-Plate-System 1205, Wallac cég) határoztuk meg. Az IC_{50}-értékeket (50%-os gátlási koncentráció) a beépült radioaktivitás és a pozitív kontroll (vizsgálati elegy vizsgálandó anyag nélkül) alapján számítottuk, és a 3. táblázatban foglaltuk össze.

3. táblázat

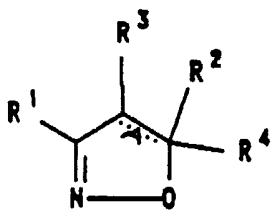
Példa	6. vizsg.		7. vizsg.	8. vizsg.
	Dózis (mg/kg)	Mancstérfogat (%-os gátlás)	ED_{50} (mg/kg)	$I\mu_{50}$ (μM)
1.	50	70	10–50 id.	5–10
3.				10
4.				30
5.			<10 id.	
6.			ca. 50 id.	
7.			10–30 id.	
8.	50	67	ca. 10 id	<5
9.			ca. 50 id.	
11.				<5
12.	50	82		10
13.	50	84	ca. 50 id.	6.10
14.			10–50 id.	
15.	50	60		8–15
16.				30
17.				8–15
18.				5–10
19.	25	85		<5
20.	25	67	ca. 50 id.	<5
22.	50	74		
24.	50	43		<5
25.	50	44	3–10 id.	<5
26.				<5
27.	50	71		<5
28.	50	74		<5
29.				<5
30.	50	63		5–10
33.				<5
37.				<5
39.				30
40.			1–3 id.	<5
41.				<5
42.				5–10
44.				5–10
45.				5–10
47.			10–50 id.	5–10
48.	50	60	10–50 id.	5–10
49.			ca. 50 id.	5–10
52.			3–10 id.	<5
53.	25	48	10–50 id.	8–10

3. táblázat (folytatás)

Példa	6. vizsg.		7. vizsg.	8. vizsg.
	Dózis (mg/kg)	Mancstérfogat (%-os gátlás)	ED_{50} (mg/kg)	$I\mu_{50}$ (HM)
54.			1–3 id.	5–10
55.	50	47		<5
56.			ca. 50 id.	
57.				<5
59.			1–3 id.	30
66.	25	59		<5
67.	50	53		<5
69.	50	83		5–10
70.	25	59		5
71.	25	66		5–10
72.	25	60		5–10
73.	50	73		
74.	25	60		5–10
75.	25	76		5–10
76.	50	70		20
77.	50	82		20
78.				5–10
79.				5–10
80.				5–10
81.	50	67		
83.	50	39		
84.	25	49		
85.				<5
86.	20	70		<5
87.	20	50		<5
88.				10
89.	50	36		20
90.	50	36		30

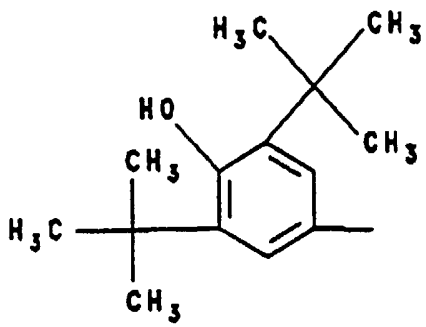
SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. (I) általános képletű vegyület



(I)

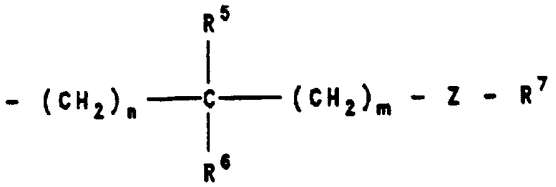
és/vagy fiziológiásan elviselhető sója és/vagy sztereoizomer formája; a képletben az
R^1 vagy R^2 csoport jelentése egy



(II)

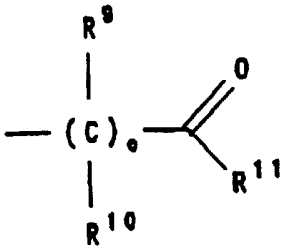
képletű csoport, és az R^1 és R^2 csoport másikának a jelentése:
a) piridilcsoport,

b) tienilcsoport,
c) tiazolilcsoport,
d) egy



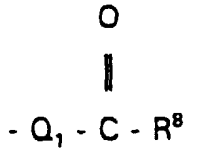
(III)

általános képletű csoport, a képletben
n értéke 0, 1, 2, 3, 4, 5 vagy 6,
m értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4,
Z jelentése 1. –O– vagy
2. –NH–,
R^5 és R^6 jelentése egymástól függetlenül
1. hidrogénatom,
2. 1–4 szénatomos alkilcsoport,
3. 2–4 szénatomos alkenilcsoport,
4. fenilcsoport vagy
5. hidroxilcsoport, és
R^7 jelentése
1. hidrogénatom,
2. aminosavmaradékként glicil-, fenil-alanil- vagy tirozincsoport,
3. trifluor-metil-szulfonil-csoport,
4. $–O–P(O)(OH)_2$ csoport,
5. fenil- vagy 1–6 szénatomos alkilcsoporttal egyszeresen vagy kétszeresen észterezett $–O–P(O)(OH)_2$ csoport, vagy
6. egy



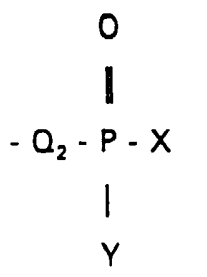
(IV)

általános képletű csoport, a képletben
o értéke 0 vagy 1,
R^9 és R^{10} jelentése egymástól függetlenül
1. hidrogénatom vagy
2. 1–4 szénatomos alkilcsoport, és
R^{11} jelentése
1. hidroxilcsoport,
2. –O-(1–4 szénatomos alkil)-csoport,
3. 1–20 szénatomos alkilcsoport,
4. 1–7 szénatomos alkilcsoport, amely egymástól függetlenül
4.1 karboxilcsoporttal,
4.2 hidroxilcsoporttal,
4.3 –O-acetil-csoporttal vagy
4.4 =O csoporttal
egyszeresen vagy többszörösen helyettesített,
5. karboxilcsoport,
6. –C(=O)–O-(1–4 szénatomos alkil)-csoport,
7. karboxi-metil-amino-csoport,
8. (1–4 szénatomos alkoxi)-karbonil-metil-amino-csoport,
9. N-hidroxi-N-(1–4 szénatomos alkil)-amino-csoport,
10. N-(1H-tetrazol-5-il)-amino-csoport,
11. 5-metil-izoxazol-4-il-csoport,
12. 1-ciano-2-hidroxi-1-propenil-csoport,
13. fenilcsoport,
14. fenilcsoport, amely egy
14.1 (1–4 szénatomos alkil)–$NR^{12}R^{13}$ általános képletű csoporttal egyszeresen vagy többszörösen helyettesített, ahol
R^{12} és R^{13} együtt a nitrogénatommal, amelyhez kapcsolódnak, egy 5–7 tagú telített heterogyűrűt alkot, amely további heteroatomként egy kén-, oxigén- vagy nitrogénatomot tartalmaz, és adott esetben a második nitrogénatomon 1–4 szénatomos alkilcsoporttal helyettesített, vagy
R^6 és R^7 összekapcsolódik és együtt 1–3 $–CH_2–$ csoportot alkot,
e) egy



(V)

általános képletű csoport, a képletben
Q_1 jelentése
1. $–(CH_2)_m–$ általános képletű csoport, amelyben m értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4, vagy
2. –CH=CH– csoport, és
R_8 jelentése
1. hidrogénatom,
2. 1–4 szénatomos alkilcsoport,
3. hidroxilcsoport,
4. –O-(1–4 szénatomos alkil)-csoport,
5. aminocsoport,
6. N-(1H-tetrazol-5-il)-amino-csoport, vagy
7. N-(3,5-dimetil-4-hidroxi-benzil)-amino-csoport, vagy
f) egy



(VI)

általános képletű csoport, a képletben

Q_2 jelentése
1. $-(CH_2)_m-$ általános képletű csoport, amelyben m értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4, vagy
2. –CH=CH– csoport, és

X és Y jelentése egymástól függetlenül
1. 1–4 szénatomos alkilcsoport,
2. –O-(1–4 szénatomos alkil)-csoport,
3. hidroxilcsoport,

–A– jelentése adott esetben jelen levő további kötés, azzal a megszorítással, hogy A további kötés jelentése R^4 jelenlétét kizárja,

R^4 jelentése 1. hidrogénatom vagy
2. 1–6 szénatomos alkilcsoport, vagy

R^2 és R^4 együtt a szénatommal, amelyhez kapcsolódnak, egy 3, 4 vagy 5 szénatomból álló gyűrűt alkot, és

R^3 jelentése
1. hidrogénatom vagy
2. hidroxi-(1–4 szénatomos alkil)-csoport.

2. Az 1. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyület, a képletben az

R^1 vagy R^2 csoport jelentése egy (II) képletű csoport, és az R^1 és R^2 másikának a jelentése az alábbi:

a) 2-piridilcsoport,
b) 4-piridilcsoport,
c) tien-3-il-csoport,
d) 2-tiazolilcsoport,
e) egy (III) általános képletű csoport, a képletben
n értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4,
m értéke 0 vagy 1,
Z jelentése 1. –O– vagy
2. –NH–,
R^5 és R^6 jelentése egymástól függetlenül
1. hidrogénatom,
2. 1–2 szénatomos alkilcsoport,
3. fenilcsoport vagy
4. hidroxilcsoport, vagy

R^6 és R^7 összekapcsolódik és együtt egy metilén-csoportot alkot, vagy

R^7 jelentése
1. hidrogénatom,
2. trifluor-metil-szulfonil-csoport,
3. glicil-, fenil-alanil- vagy tirozincsoport,
4. egy (IV) általános képletű csoport, a képletben
o értéke 0 vagy 1,
R^9 és R^{10} jelentése egymástól függetlenül
1. hidrogénatom vagy
2. metilcsoport,

R^{11} jelentése
1. hidroxilcsoport,
2. –O-(1–4 szénatomos alkil)-csoport,
3. 1–18 szénatomos alkilcsoport,
4. 1–6 szénatomos alkilcsoport, amely egymástól függetlenül
4.1 karboxilcsoporttal,
4.2 hidroxilcsoporttal vagy
4.3 –O-acetil-csoporttal
egyszeresen vagy többszörösen helyettesített,
5. karboxilcsoport,
6. –C(=O)–O-(1–4 szénatomos alkil)-csoport,
7. karboxi-metil-amino-csoport,
8. (1–4 szénatomos alkoxi)-karbonil-metil-amino-csoport,
9. N-hidroxi-N-metil-amino-csoport,
10. N-(1H-tetrazol-5-il)-amino-csoport,
11. 5-metil-izoxazol-4-il-csoport,
12. 1-ciano-2-hidroxi-1-propenil-csoport vagy
13. fenilcsoport, amely
13.1 4-(4-morfolino-metil)-csoporttal egyszeresen helyettesített,

f) egy (V) általános képletű csoport, amelyben
Q_1 jelentése
1. $-(CH_2)_m-$ általános képletű csoport, amelyben m értéke 0, 1 vagy 2, vagy
2. –CH=CH– csoport, és

R^8 jelentése
1. hidrogénatom,
2. metilcsoport,
3. hidroxilcsoport,
4. –O-(1–2 szénatomos alkil)-csoport,
5. aminocsoport,
6. N-(1H-tetrazol-5-il)-amino-csoport vagy
7. N-(3,5-dimetil-4-hidroxi-benzil)-amino-csoport, vagy

g) egy (VI) általános képletű csoport, amelyben
Q_2 jelentése
1. $-(CH_2)_m-$ általános képletű csoport, amelyben m értéke 0, 1 vagy 2,
2. –CH=CH– csoport, és

X és Y jelentése egymástól függetlenül
1. metilcsoport,
2. –O-(1–2 szénatomos alkil)-csoport,
3. hidroxilcsoport,

–A– jelentése adott esetben jelen levő további kötés, azzal a megszorítással, hogy A további kötés jelentése R^4 jelenlétét kizárja,

R^4 jelentése 1. hidrogénatom vagy
2. 1–2 szénatomos alkilcsoport, vagy

R^2 és R^4 együtt a szénatommal, amelyhez kapcsolódnak, egy 3, 4 vagy 5 szénatomból álló gyűrűt alkot, és

R^3 jelentése
1. hidrogénatom,
2. metilcsoport vagy
3. hidroxi-metil-csoport.

3. Az 1. vagy 2. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyület, amelyben az

R^1 vagy R^2 csoport jelentése egy (II) képletű csoport, és az R^1 és R^2 csoport másikának a jelentése az alábbi:

a) 2-piridilcsoport,
b) 4-piridilcsoport,
c) tien-3-il-csoport,
d) 2-tiazolilcsoport,
e) egy (III) általános képletű csoport, a képletben
n értéke 0, 1, 2, 3 vagy 4,

m értéke 0 vagy 1,
Z jelentése 1. –O– vagy
2. –NH–,
R^5 és R^6 jelentése egymástól függetlenül
1. hidrogénatom,
2. 1–2 szénatomos alkilcsoport vagy
3. fenilcsoport, vagy
R^6 és R^7 összekapcsolódik és együtt egy metilén-csoportot alkot, vagy
R^7 jelentése
1. hidrogénatom,
2. trifluor-metil-szulfonil-csoport,
3. glicil- vagy fenil-alanil-csoport, vagy
4. egy (IV) általános képletű csoport, a képletben
o értéke 0 vagy 1,
R^9 és R^{10} jelentése egymástól függetlenül
1. hidrogénatom vagy
2. metilcsoport,
R^{11} jelentése
1. hidroxilcsoport,
2. –O-metil- vagy –O-etil-csoport,
3. 1–18 szénatomos alkilcsoport,
4. 1–6 szénatomos alkilcsoport, amely egymástól függetlenül
4.1 karboxilcsoporttal,
4.2 hidroxilcsoporttal vagy
4.3 –O-acetil-csoporttal egyszeresen vagy többszörösen helyettesített,
5. karboxilcsoport,
6. –C(=O)–O-(1–2 szénatomos alkil)-csoport,
7. karboxi-metil-amino-csoport,
8. (1–4 szénatomos alkoxi)-karbonil-metil-amino-csoport,
9. N-hidroxi-N-metil-amino-csoport,
10. N-(1H-tetrazol-5-il)-amino-csoport,
11. 5-metil-izoxazol-4-il-csoport,
12. 1-ciano-2-hidroxi-1-propenil-csoport,

f) egy (V) általános képletű csoport, amelyben
Q_1 jelentése
1. $–(CH_2)_m–$ általános képletű csoport, amelyben m értéke 0, 1 vagy 2, vagy
2. –CH=CH– csoport, és
R^8 jelentése
1. hidrogénatom,
2. metilcsoport,
3. hidroxilcsoport,
4. –O-metil-csoport,
5. aminocsoport,
6. N-(1H-tetrazol-5-il)-amino-csoport vagy
7. N-(3,5-dimetil-4-hidroxi-benzil)-amino-csoport, vagy

g) egy (VI) általános képletű csoport, amelyben
Q_2 jelentése
1. $–(CH_2)_m–$ általános képletű csoport, amelyben m értéke 0 vagy 2, vagy
2. –CH=CH– csoport, és
X és Y jelentése egymástól függetlenül
1. metilcsoport,
2. –O-(1–2 szénatomos alkil)-csoport vagy
3. hidroxilcsoport,
–A– jelentése adott esetben jelen levő további kötés, azzal a megszorítással, hogy A további kötés jelentése R^4 jelenlétét kizárja,
R^4 jelentése 1. hidrogénatom vagy
2. metilcsoport, vagy
R^2 és R^4 együtt a szénatommal, amelyhez kapcsolódnak, egy 3, 4 vagy 5 szénatomból álló gyűrűt alkot, és
R^3 jelentése
1. hidrogénatom vagy
2. hidroxi-metil-csoport.

4. Gyógyászati készítmény, amely legalább egy 1., 2. vagy 3. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületnek és/vagy fiziológiásan elviselhető sójának és/vagy sztereoizomer formájának hatásos mennyiségét fiziológiásan elfogadható segéd- és hordozóanyagokkal, adott esetben további adalék anyagokkal és/vagy más hatóanyagokkal együtt tartalmazza.

5. Legalább egy 1., 2. vagy 3. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyület alkalmazása asztmatikus megbetegedések, gyulladások és/vagy autoimmunbetegségek megelőzésére és kezelésére alkalmas gyógyászati készítmény előállítására.

7. Eljárás a 4. igénypont szerinti gyógyászati készítmény előállítására, *azzal jellemezve,* hogy legalább egy 1., 2. vagy 3. igénypont szerinti (I) általános képletű vegyületet és/vagy fiziológiásan elfogadható sóját és/vagy sztereoizomer formáját fiziológiásan elfogadható segéd- és hordozóanyagokkal és adott esetben további adalék anyagokkal és/vagy más hatóanyagokkal alkalmas adagolási formává alakítunk.