

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

2002 - 2828

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **15.02.2001**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **21.02.2000**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/00400467**

(33) Země priority: **EP**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **13.11.2002**
(Věstník č. 11/2002)

(86) PCT číslo: **PCT/GB01/00624**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO01/062742**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 239/26

C 07 D 401/12

C 07 D 213/64

C 07 D 213/74

C 07 D 241/12

C 07 D 241/16

A 61 K 31/506

A 61 P 19/00

(71) Přihlašovatel:

ASTRAZENECA AB, Södertälje, SE;

(72) Původce:

Barlaam Bernard Christophe, Reims Cedex, FR;

Dowell Robert Ian, Macclesfield, GB;

Finlay Maurice Raymond Verschoyle, Macclesfield, GB;

Newcombe Nicholas John, Macclesfield, GB;

Tucker Howard, Macclesfield, GB;

Waterson David, Macclesfield, GB;

(74) Zástupce:

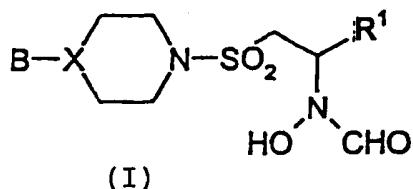
Hakr Eduard Ing., Přístavní 24, Praha 7, 17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Deriváty N-hydroxyformamidů substituované piperidinem a piperazinem jako inhibitory metaloproteináz a způsob jejich přípravy

(57) Anotace:

Popisují se sloučeniny obecného vzorce I vhodné jako inhibitory metaloproteináz, zejména jako inhibitory MMP13.



Deriváty N-hydroxyformamidů substituované piperidinem a piperazinem jako inhibitory metaloproteináz a způsob jejich přípravy

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká sloučenin využitelných při inhibici metaloproteináz a zejména farmaceutických kompozic obsahujících tyto sloučeniny a jejich použití.

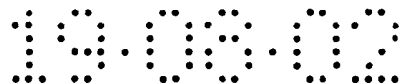
Dosavadní stav techniky

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou inhibitory jedné nebo více enzymů metaloproteináz. Metaloproteinázy jsou třídou proteináz (enzymů), jejichž počet v posledních letech dramaticky roste. Na základě strukturních a funkčních úvah byly tyto enzymy zatříděny do skupin a podskupin, které jsou popsány v N. M. Hooper (1994) FEBS Letters 354:1-6. Mezi příklady metaloproteináz patří matricové metaloproteinázy (MMP), jako jsou kolagenázy (MMP1, MMP8, MMP13), želatinázy (MMP2, MMP9), stromelysiny (MMP3, MMP10, MMP11), matrilysin (MMP7), metaloelastáza (MMP12), enamelysin (MMP19), MT-MMP (MMP14, MMP15, MMP16, MMP17); reprolysin nebo adamalysin nebo skupina MDC, která zahrnuje sekretázy a shedázy, jako jsou enzymy konvertující TNF (ADAM10 a TACE); skupina astacinů, která zahrnuje enzymy, jako je proteináza pro zpracování prokolagenu (PCP); a další metaloproteinázy, jako je argekanáza, skupina enzymů konvertujících endotelin a skupina enzymů konvertujících angiotensin.

Předpokládá se, že metaloproteinázy jsou důležité při mnoha procesech fyziologických onemocnění, která zahrnují modelování tkáně, jako je embryonální vývoj, vznik kosti a změny v děloze během menstruace. Toto se zakládá na schopnosti metaloproteináz štěpit široké spektrum matricových substrátů, jako je kolagen, proteoglykan a fibronectin. Také se předpokládá, že

metaloproteinázy jsou důležité při zpracování nebo sekreci biologicky důležitých buněčných mediátorů, jako je nádorový nekrózní faktor (TNF); a při posttranslačním proteolyzním zpracování nebo při ubývání biologicky významných membránových proteinů, jako je nízkoafinitní IgE receptor CD23 (přesnější seznam viz. N. M. Hooper a kol., (1997) *Biochem J.* 321: 265-279).

Metaloproteinázy jsou spojovány s mnoha onemocněními. Inhibice aktivity jedné nebo více metaloproteináz může být výhodná například při následujících onemocněních: různá zánětlivá a alergická onemocnění, jako jsou záněty kloubů (zejména revmatoidní artritida, osteoartritida a dna), zánětlivá onemocnění gastrointestinálního traktu (zejména zánětlivá střevní onemocnění, ulcerativní kolitida a gastritida), zánětlivá kožní onemocnění (zejména psoriáza, ekzém, dermatitida); při invazi nebo metastázování nádoru; při onemocněních spojených s nekontrolovanou degradací mimobuněčné matrice, jako je osteoartritida; při chorobné resorpci kosti (jako je osteoporóza a Pagetova nemoc); při onemocněních spojených s chorobnou angiogenezí; při zvýšené přeměně kolagenu související s diabetem, periodontálním onemocněním (jako je gingivitida), zvředovatění rohovky, zvředovatění kůže, postoperačních stavech (jako je střevní anastomóza) a hojení kožních poranění; demyelinační onemocnění centrálního a periferního nervového systému (jako je mnohočetná skleróza); Alzheimerova nemoc; přeměny mimobuněčné matrice pozorované při kardiovaskulárních onemocněních, jako je restenóza a atheroskleróza; a chronická obstrukční plicní onemocnění, COPD (například je úloha MMP, jako je MMP12 diskutována v Anderson & Shinagawa, 1999, *Current Opinion in Anti-inflammatory and Immunomodulatory Investigational Drugs*, 1(1): 29-38).



Je známo mnoho inhibitorů metaloproteináz; různé třídy sloučenin mohou mít různý stupeň účinnosti a selektivity při inhibici různých metaloproteináz. Nyní byla nalezena nová třída sloučenin, které jsou inhibitory metaloproteináz a jsou zvláště významné při inhibici MMP-13 a také MMP-9, Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mají výhodnou účinnost a/nebo farmakokinetické vlastnosti.

MMP13, neboli kalogenáza 3, byla původně klonována z cDNA knihovny odvozené od rakoviny prsu [J. M. P. Freije a kol. (1994) *Journal of Biological Chemistry* 269 24:16766-16773]. PCR-RNA analýza RNA ze širokého spektra tkání naznačuje, že exprese MMP13 byla omezena na karcinomy prsu, protože se nenachází v fibroadenomech prsu, normálních nebo klidových prsních žlázách, placentě, játrech, vaječnicích, děloze, prostatě nebo průdušních žlázách nebo v buněčných liniích rakoviny prsu (T47-D, MCF-7 a ZR75-1). Následně po tomto zjištění byly MMP13 detekovány v transformovaných epidermálních keratinocytech [N. Johansson a kol., (1997) *Cell Growth Differ.* 8(2): 243-250], karcinomech plochých buněk [N. Johansson a kol., (1997) *Am. J. Pathol.* 151(2): 499-508] a nádorech epidermu [K. Airola a kol., (1997) *J. Invest. Dermatol.* 109(2): 225-231]. Tyto výsledky naznačují, že MMP13 se vylučují transformovanými buňkami epitelu a mohou být zahrnuty do mimobuněčné degradace matrice a interakcí buněčné matrice spojených s metastázováním, jak bylo zejména pozorováno u invazních lézí rakoviny prsu a u maligního růstu epitelu při karcinogenezi kůže.

Z nedávno zveřejněných údajů vyplývá, že MMP13 hraje roli při zvratech dalších pojivových tkání. Například v souladu se substrátovou specifíčností MMP13 a výhodností degradace kolagenu typu II [P. G. Mitchell a kol., (1996) *J. Clin. Invest.* 973: 761-768; V. Knauper a kol., (1996) *The Biochemical Journal* 271:1544-1550], se o MMP13 předpokládá, že hraje roli při primární osifikaci a přeměnách kostry [M. Stahle-Backdahl

a kol., (1997) *Lab. Invest.* 76(5): 717-728; N. Johansson a kol., (1997) *Dev. Dyn.* 208(3):387-397], při destruktivních onemocněních kloubů, jako je revmatoidní artritida a osteoartritida [D. Wernicke a kol., (1996) *J. Rheumatol.* 23: 590-595; P. G. Mitchell a kol., (1996) *J. Clin. Invest.* 97(3):761-768; O. Lindy a kol.; (1997) *Arthritis Rheum.* 40(8): 1391-1399]; a během aseptického uvolnění při náhradě kyčle [S. Imai a kol., (1998) *J. Bone Joint Surg. Br.* 80(4): 701-710]. MMP13 byly také implikovány při chronické periodontitidě dospělých, protože byly lokalizovány v epitelu chronicky zanícených sliznicích gingivální tkáně [V. J. Uitto a kol., (1998) *Am. J. Pathol.* 152(6): 1489-1499] a při přeměnách kolagenové matrice v chronických poraněních [M. Vaalamo a kol., (1997) *J. Invest. Dermatol.* 109(1): 96-101].

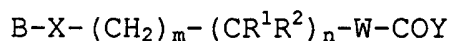
MMP9 (želatináza B; 92kDa kolagenáza typu IV; 92kDa želatináza) je vylučovaným proteinem, který byl nejprve purifikován, potom klonován a sekvencován v roce 1989 (S.M. Wilhelm a kol. (1989) *J. Biol. Chem.* 264(29): 17213-17221, Publikováno v *J. Biol. Chem.* (1990) 265(36): 22570,). Nedávný přehledný článek o MMP9 nabízí vynikající zdroj podrobných informací a odkazů o této proteáze: T.H. Vu & Z. Werb (1998) (*Matrix Metalloproteinases. 1998*, Vydal W.C. Parks & R.P. Mecham. str. 115 - 148, Academic Press. ISBN 0-12-545090-7). Následující poznámky pocházejí z tohoto přehledného článku T.H. Vu & Z. Werb (1998).

Exprimace MMP9 se obvykle omezuje na několik typů buněk, včetně trofoblastů, osteoklastů, neutrofilů a makrofágů. Jejich exprimace se však může vyvolat v těchto stejných buňkách a v jiných buněčných typech prostřednictvím několika mediátorů, včetně expozice buněk růstovým faktorům nebo cytokinům. Jedná se o stejné mediátory, jako jsou ty, které jsou často implikovány při začátku zánětlivé odezvy. U jiných MMP se uvolňuje MMP9 jako neaktivní proenzym, který se následně štěpí za vzniku enzymaticky aktivního enzymu. Proteázy potřebné pro

tuto aktivaci *in vivo* nejsou známé. Rovnováha aktivních MMP9 proti neaktivnímu enzymu je dále regulována *in vivo* interakcí s TIMP-1 (tkáňový inhibitor metaloproteináz-1), což je přírodně se vyskytující protein. TIMP-1 se váže k C-koncové oblasti MMP9, což vede k inhibici katalytické domény MMP9. Kombinuje se rovnováha indukované exprimace ProMMP9, štěpení Pro- na aktivní MMP9 a přítomnost TIMP-1 za účelem určení množství katalyticky aktivních MMP9, které jsou přítomny v příslušném místě. Proteolyticky aktivní MMP9 napadně substráty, mezi které patří želatina, elastin a nativní kolagenázy typu IV a typu V; nemá žádnou aktivitu proti nativnímu kolagenu typu I, proteoglykanům nebo lamininům.

V poslední době stále vzrůstá množství údajů, ze kterých vyplývá úloha MMP9 při různých fyziologických a patologických procesech. Mezi fyziologické úlohy patří invaze embryonických trofoblastů přes elitel dělohy v ranných stádiích implantace embrya; určitá role při růstu a vývoji kostí; a migrace zánětlivých buněk z vaskulatury do tkání. Zvýšená exprimace MMP9 byla pozorována při určitých patologických stavech, což naznačuje, že je MMP9 přítomna při chorobných provesech, jako je artritida, metastázování nádorů, Alzheimerova nemoc, mnohočetná skleróza a prasknutá plaku při atheroskleróze vedoucí k akutním koronárním onemocněním, jako je infarkt myokardu.

Mezinárodní patentová přihláška WO-99/38843 nároku je sloučeniny obecného vzorce

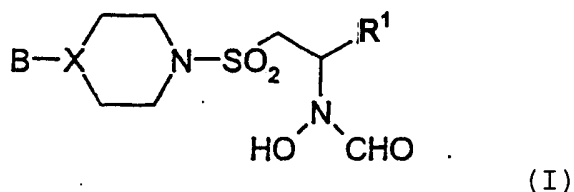


pro použití při výrobě léčiva pro léčení nebo prevenci onemocnění souvisejících s matricovými metaloproteinázami. Konkrétně popisuje sloučeninu N-{1S-[4-(4-chlorfenyl)piperazin-1-sulfonylmethyl]-2-methylpropyl}-N-hydroxyformamid.

Nyní byly překvapivě objeveny sloučeniny, které jsou účinné jako inhibitory MMP13 a mají značně aktivní profily.

Podstata vynálezu

V prvním aspektu předkládaný vynález poskytuje sloučeniny obecného vzorce I



kde B je fenylová skupina monosubstituovaná v poloze 3- nebo 4- atomem halogenu nebo trifluormethylovou skupinou, nebo disubstituovaná v poloze 3- a 4- atomy halogenu (které mohou být stejné nebo různé); nebo B je 2-pyridylová skupina nebo 2-pyridyloxyskupina monosubstituovaná v poloze 4-, 5- nebo 6- atomem halogenu, trifluormethylovou skupinou, kyanoskupinou nebo alkylovou skupinou obsahující 1 až 4 atomy uhlíku; nebo B je 4-pyrimidinylová skupina popřípadě substituovaná v poloze 6- atomem halogenu nebo alkylovou skupinou obsahující 1 až 4 atomy uhlíku;

X je atom uhlíku nebo atom dusíku;

R¹ je trimethyl-1-hydantoinalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku nebo trimethyl-3-hydantoinalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; fenylová skupina nebo alkylfenylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku monosubstituovaná v poloze 3- nebo 4- atomem halogenu, trifluormethylovou skupinou, thioskupinou nebo alkylovou skupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku nebo alkoxykupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku; fenyl-SO₂NHalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; 2-pyridylová skupina nebo 2-pyridylalkylová skupina

obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; 3-pyridylová skupina nebo 3-pyridylalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; skupina 2-pyrimidin-SCH₂CH₂; 2- nebo 4-pyrimidinylalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku popřípadě monosubstituovaná atomem halogenu, trifluormethylovou skupinou, alkylovou skupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku, alkyloxyskupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku, 2-pyrazinylovou skupinou popřípadě substituovanou atomem halogenu nebo 2-pyrazinylalkylovou skupinou obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku popřípadě substituovanou atomem halogenu.

Jakákoli alkylová skupina uvedená výše může být přímá nebo rozvětvená.

Výhodnými sloučeninami podle předkládaného vynálezu jsou sloučeniny, u kterých platí jedna nebo více uvedených pravidel:

B je 4-chlorfenylová skupina, 4-fluorfenylová skupina, 4-bromfenylová skupina nebo 4-trifluorfenylová skupina; 2-pyridylová skupina nebo 2-pyridyloxyskupina monosubstituovaná v poloze 4- nebo 5-, jako je 5-chlor-2-pyridylová skupina, 5-brom-2-pyridylová skupina, 5-fluor-2-pyridylová skupina, 5-trifluormethyl-2-pyridylová skupina, 5-kyano-2-pyridylová skupina, 5-methyl-2-pyridylová skupina; zejména 4-fluorfenylová skupina, 5-chlor-2-pyridylová skupina nebo 5-trifluormethyl-2-pyridylová skupina;

X je atom dusíku;

R¹ je 3-chlorfenylová skupina, 4-chlorfenylová skupina, 3-pyridylová skupina, 2-pyridylpropylová skupina, 2- nebo 4-pyrimidinylethylová skupina (popřípadě monosubstituovaná atomem fluoru), 2- nebo 4-pyrimidinylpropylová skupina, 2-(2-pyrimidinyl)propylová skupina (popřípadě monosubstituovaná atomem fluoru); zejména 2-pyrimidinylpropylová skupina, 2-(2-pyrimidi-

nyl)propylová skupina (popřípadě monosubstituovaná atomem fluoru) nebo 5-fluor-2-pyrimidinylethylová skupina.

Zvláštní podskupinou sloučenin obecného vzorce I jsou sloučeniny, kde B je fenylová skupina monosubstituovaná v poloze 3- nebo 4- atomem halogenu nebo trifluormethylovou skupinou, nebo disubstituovaná v poloze 3- a 4- atomy halogenu (které mohou být stejné nebo různé); nebo B je 2-pyridylová skupina nebo 2-pyridyloxyskupina monosubstituovaná v poloze 5- nebo 6- atomem halogenu, trifluormethylovou skupinou nebo kyanoskupinou; nebo B je 4-pyrimidinylová skupina popřípadě substituovaná v poloze 6- atomem halogenu nebo alkylovou skupinou obsahující 1 až 4 atomy uhlíku; X je atom uhlíku nebo atom dusíku; R^1 je trimethyl-1-hydantoinalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku nebo trimethyl-3-hydantoinalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku group; nebo R^1 je fenylová skupina nebo alkylfenylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku monosubstituovaná v poloze 3- nebo 4- atomem halogenu, trifluormethylovou skupinou, thioskupinou nebo alkylovou skupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku nebo alkoxyskupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku; nebo R^1 je fenyl-SO₂NHalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; nebo R^1 je 2-pyridylová skupina nebo 2-pyridylalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; nebo R^1 je 3-pyridylová skupina nebo 3-pyridylalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; nebo R^1 je skupina 2-pyrimidin-SCH₂CH₂; nebo R^1 je 2- nebo 4-pyrimidinylalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku popřípadě monosubstituovaná jedním atomem halogenu, tritluoromethylovou skupinou, alkylovou skupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku, alkyloxyskupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku, 2-pyrazinylovou skupinou nebo 2-pyrazinylalkylovou skupinou obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; jakákoli alkylová skupina může být přímá nebo rozvětvená.

Je třeba poznamenat, že konkrétní substituenty a počty substituentů na B a/nebo R^1 jsou vybrány tak, aby se zabránilo stéricky nevhodným kombinacím.

Každá sloučenina uvedená jako příklad představuje konkrétní a nezávislý aspekt podle vynálezu.

Pokud se ve sloučeninách obecného vzorce I vyskytují opticky aktivní centra, jsou předmětem podle předkládaného vynálezu všechny jednotlivé opticky aktivní formy a kombinace těchto sloučenin a také jejich odpovídající racemáty. Racemáty se mohou rozdělit na jednotlivé opticky aktivní formy za použití známých postupů. (například viz. Advanced Organic Chemistry: třetí vydání: autor J. March, str. 104-107) včetně například přípravy diastereoizomerních derivátů obsahujících vhodné pomocné opticky aktivní části, po které následuje rozdělení a odštěpení této pomocné části.

Je třeba poznamenat, že sloučeniny podle předkládaného vynálezu mohou obsahovat jeden nebo více asymetricky substituovaných atomů uhlíku. Přítomnost jednoho nebo více těchto asymetrických center (chirálních center) ve sloučeninách obecného vzorce I může vést ke stereoizomerii a v každém případě se rozumí, že všechny takové stereoizomery, včetně enantiomerů a diastereoizomerů a jejich směsí, včetně racemických směsí jsou součástí předkládaného vynálezu.

V příkladové části je popsána izolace a charakterizace některých enantiomerů. Enantiomery se mohou připravit reakcí racemické látky s chirální pomocnou látkou, rozdělením vznikajících diastereoimerů pomocí chromatografie, a následným odštěpením chirální pomocné látky. Diastereoizomer, který se eluuje z kolony jako druhý (za podmínek popsaných podle vynálezu) a následně se štěpí, poskytne podle testování aktivnější enantiomer. V každém případě se předpokládá, že aktivní enantiomer má stereochemii S, vynález však není tímto určením nijak ome-

zen. Aktivní enantiomer je charakterizován jako derivát, který se z kolony eluuje jako druhý. Za použití různých sloučenin obecného vzorce I mohou různé kolony a/nebo různá rozpouštědla změnit eluční pořadí nejaktivnějšího enantiomeru.

V příkladech je popsána izolace a charakterizace některých diastereoizomerů. Chromatografické dělení a následné testování potvrzuje, že aktivnější diastereoizomer se eluuje ze separační kolony jako první (tj. aktivnější diastereoizomer je charakterizován tím, že se eluuje ze separační kolony jako první). Za použití různých sloučenin obecného vzorce I, různých kolon a/nebo různých rozpouštědel se může ovlivnit eluční pořadí nejaktivnějšího diastereoizomeru.

Předpokládá se, že u sloučenin obecného vzorce I se dvěma chirálními centry bude mít aktivnější enantiomer stereochemii S,S, ale tento předpoklad nijak neomezuje rozsah předkládaného vynálezu.

Pokud u sloučenin obecného vzorce I existují tautomery, týká se vynález všech jednotlivých tautomerních forem a kombinací těchto jednotlivých forem.

Jak bylo uvedeno výše, jsou sloučeniny podle předkládaného vynálezu inhibitory metaloproteináz a zejména jsou to inhibitory MMP13, Každá z výše uvedených indikací sloučenin obecného vzorce I představuje nezávislé a zvláštní provedení podle předkládaného vynálezu. Ačkoli se nechceme omezovat na teoretické úvahy, o sloučeninách obecného vzorce I se předpokládá, že vykazují selektivní inhibici pro každou z výše uvedených indikací vzhledem k jakékoli MMP1 inhibiční aktivitě. Jako neomezující příklad může sloužit sto až tisícinásobná selektivita oproti jakékoli MMP1 inhibiční aktivitě.

Určité sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou zvláště vhodné pro použití jako inhibitory agrekanázy, tj. inhibitory

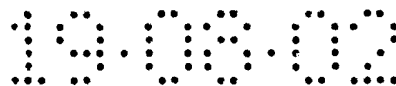
degradace agrekanu. Některé sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou zvláště vhodné jako inhibitory MMP9 a/nebo MMP12,

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu se mohou získat jako farmaceuticky přijatelné soli. Mezi takové soli patří kyselé adiční soli, jako je hydrochlorid, hydrobromid, citrát a maleát a soli vznikající s kyselinou fosforečnou a kyselinou sírovou. V jiném aspektu jsou vhodnými solemi bazické soli, jako jsou soli s alkalickými kovy, například sodíkem nebo draslíkem, soli s kovy alkalických zemin, například s vápníkem nebo hořčíkem nebo soli s organickými aminy, například s triethylaminem.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu se také mohou připravit ve formě *in vivo* hydrolyzovatelných esterů. Jedná se o farmaceuticky přijatelné estery, které se hydrolyzují v těle člověka za vzniku mateřské sloučeniny. Takové estery se mohou identifikovat podáváním, například nitrožilně, testovaným živočichům, testované sloučeniny a následným testováním tělních tekutin živočicha. Vhodnými *in vivo* hydrolyzovatelnými estery pro karboxylové kyseliny jsou methoxymethylestery a pro hydroxysloučeniny jsou to formyl a acetyl, zejména acetyl.

Za účelem použití sloučenin obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky přijatelných solí nebo *in vivo* hydrolyzovatelných esterů pro terapeutickou léčbu (včetně profylaktické léčby) savců, včetně člověka, se sloučeniny běžně formulují pomocí standardních farmaceutických postupů do formy farmaceutických kompozic.

Proto v dalším aspektu předkládaný vynález poskytuje farmaceutickou kompozici, která obsahuje sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester a farmaceuticky přijatelný nosič.



Farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu se mohou podávat standardním způsobem při onemocněních, které je žádoucí léčit, například prostřednictvím perorálního, topického, parenterálního, bukálního, nasálního, vaginálního nebo rektálního podávání nebo pomocí inhalace. Pro tyto účely se mohou sloučeniny podle předkládaného vynálezu formulovat způsoby, které jsou odborníkům v této oblasti známé ve formě například tablet, tobolek, vodných nebo olejových roztoků, suspenzí, emulzí, krémů, mastí, gelů, nasálních sprejů, čípků, jemně rozmělněných prášků nebo aerosolů pro inhalační podávání a pro parenterální použití (včetně nitrožilního, mezisvalového nebo infuzního podávání) sterilní vodné nebo olejové roztoky nebo suspenze nebo sterilní emulze.

Kromě sloučenin podle předkládaného vynálezu mohou farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu také obsahovat nebo mohou být podávány společně s (současně nebo následně) jedním nebo více farmakologickými činidly, která jsou vhodná pro léčení jednoho nebo více onemocnění uvedených výše.

Farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu se budou běžně podávat člověku tak, aby se denní dávka pohybovala v rozmezí 0,5 až 75 mg/kg tělesné hmotnosti (a s výhodou 0,5 až 30 mg/kg tělesné hmotnosti). Tato denní dávka se může podávat podle potřeby v rozdělených dávkách, přičemž přesné množství podávané sloučeniny a způsob podávání bude záviset na hmotnosti, věku a pohlaví pacienta, který se má léčit a na konkrétním onemocnění, které se má léčit podle principů, které jsou odborníkům pracujícím v této oblasti známé.

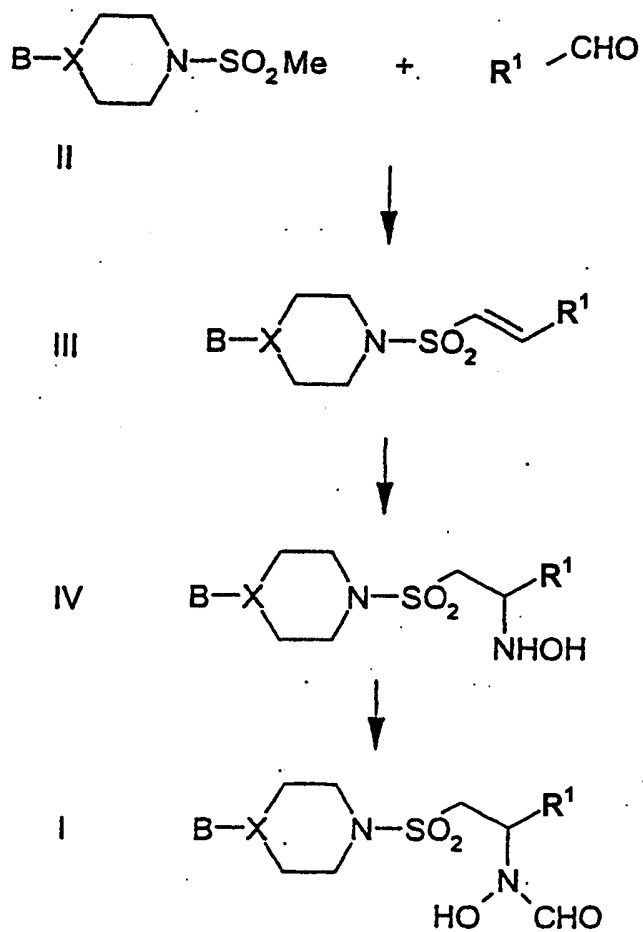
Typicky bude jednotková dávkovací forma obsahovat asi 1 mg až 500 mg sloučeniny podle předkládaného vynálezu.

V dalším aspektu tedy předkládaný vynález poskytuje sloučeninu obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester pro použití při způsobu léčení

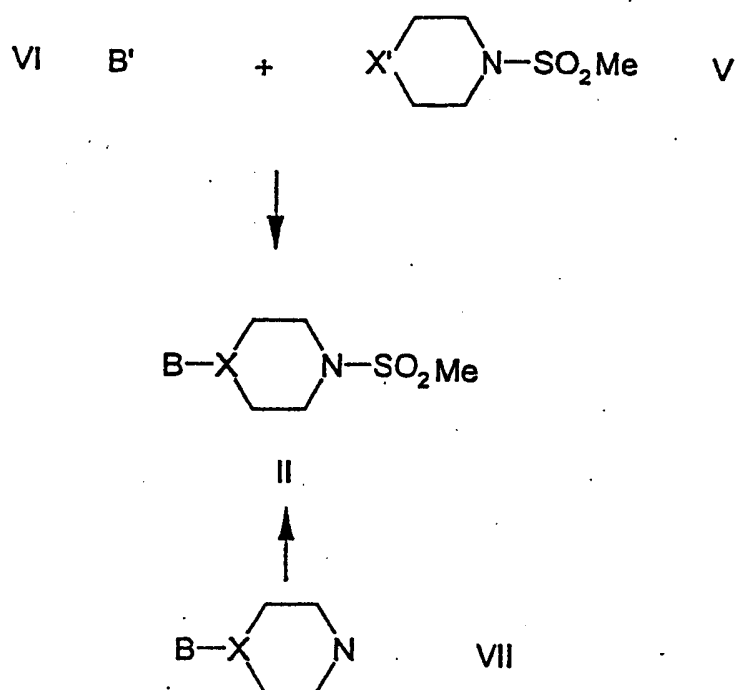
člověka nebo živočicha. Předmětem podle předkládaného vynálezu je zejména použití při léčení onemocnění nebo stavu zprostředkovaného MMP13 a/nebo agrekanázou a/nebo MMP9 a/nebo MMP12.

Ještě v dalším aspektu předkládaný vynález poskytuje způsob léčení onemocnění zprostředkovaného metaloproteinázou, který zahrnuje podávání terapeuticky účinného množství sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli nebo *in vivo* hydrolyzovatelného esteru teplokrevnému živočichovi. Mezi onemocnění zprostředkovaná metaloproteinázou patří artritida (jako je osteoartritida), atheroskleróza, chronické obstrukční plicní onemocnění (COPD).

V dalším aspektu předkládaný vynález poskytuje způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli nebo *in vivo* hydrolyzovatelného esteru, kdy způsob zahrnuje reakci sloučeniny obecného vzorce II s vhodnou sloučeninou obecného vzorce R^1CHO za získání alkenu obecného vzorce III, který se potom převede na sloučeninu obecného vzorce IV, která je prekurzorem sloučeniny obecného vzorce I, a popřípadě se potom vytvoří farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester sloučeniny obecného vzorce I, jako je uvedeno dále:



Sloučenina obecného vzorce II se obvykle připraví reakcí sloučeniny vzorce V se sloučeninou vzorce VI, kde B' je prekurzorem B a X' je X nebo prekurzor X nebo aktivovaná forma X vhodná pro reakci s B'. Sloučenina vzorce II se může také připravit ze sloučeniny vzorce VII, jak je uvedeno dále:



Je třeba poznamenat, že mnoho vhodných výchozích látek je komerčně dostupných. Kromě toho následující tabulka ukazuje podrobnosti o aldehydových meziproduktech a jejich odpovídající registrační čísla v Chemical Abstracts.

RCHO	Registrační číslo v Chemical Abstracts
3-(2-pyrimidinylthio)propionaldehyd	155957-56-5
3-(2-pyrazinyl)butyraldehyd	177615-94-0
3-fenylsulfonylamidopropanal	57483-28-0
4-(4-methoxyfenyl)butyraldehyd	160093-24-3
4-(3-methoxyfenyl)butyraldehyd	113504-55-5

Aldehydy bez registračního čísla v Chemical Abstracts

3-(2-pyrimidyl)propionaldehyd

K roztoku 7,95 g (0,05 M) 2-brompyrimidinu ve 150 ml acetonitrilu se přidá 4,2 g (0,075 M) propargylalkoholu, 750 mg (1 mM) bis(trifenylfosfin)-palladium(II)chloridu, 100 mg (0,5 mM) jodidu měďného a 25 ml (0,25 M) triethylaminu a směs se míchá a zahřívá na 70 °C 2 hodiny. K reakční směsi se přidá dalších 2,1 g (0,038 M) propargylalkoholu, 375 mg (0,5 M) bis-

(trifenylfosfin)palladium(II)chloridu a 50 mg (0,25 M)jodidu mědného a směs se míchá a zahřívá na 70 °C další 1 hodinu.

Reakční směs se odpaří do sucha a zbytek se nanese na silikagel a chromatograficky se čistí za eluce ethylacetátem. Získá se 4,45 g (výtěžek 66 %) 3-(2-pyrimidyl)prop-2-yn-3-olu ve formě žluté, pevné látky.

^1NMR (CDCl_3) δ 2,9 (1H, t), 4,5 (2H, d), 7,3 (1H, d), 8,8 (2H, t), MS nalezeno MH^+ 135.

4,45 g (0,033 M) 3-(2-pyrimidyl)prop-2-yn-1-olu se rozpustí v 140 ml ethylacetátu, přidá se 890 mg 10% palladia na uhlí a směs se míchá ve vodíkové atmosféře 6 hodin. Reakční směs se filtruje přes křemelinu a filtrát se odpaří a získá se 4,15 g (91 %) 3-(2-pyrimidyl)propan-1-olu ve formě žluté, pevné látky.

^1NMR (CDCl_3) δ 2,1 (2H, m), 3,2 (2H, t), 3,8 (2H, t), 7,2 (1H, t), 8,7 (2H, d) MS nalezeno MH^+ 139.

3-(2-pyrimidyl)propan-1-ol se oxiduje za získání 3-(2-pyrimidyl)propionaldehydu za použití podmínek Swernovy reakce. 14,3 ml oxalylchloridu se rozpustí v 700 ml dichlormethanu, přidá se 21,3 ml dimethylsulfoxidu, přičemž se teplota udržuje pod -60 °C. Po 15 minutách se pomalu přidá 20,8 g alkoholu rozpuštěného v 20 ml dichlormethanu, a po 30 minutách 125 ml triethylaminu. Po 15 minutách se reakční směs nechá ohřát na teplotu místnosti a přidá se 100 ml vody. Rozpouštědla se odpaří a organická vrstva se promyje třikrát 150 ml vody, suší se nad síranem hořečnatým a odpaří se za získání oleje, který se čistí pomocí flash kolonové chromatografie za eluce směsí ethylacetát/5 % methanolu a získá se 8,71 g (výtěžek 43 %) produktu ve formě oleje.

^1NMR CDCl_3 δ 3,0 (2H, t), 3,4 (2H, t), 7,1 (1H, t), 8,7 (2H, d), 9,9 (1H, s).

Za použití postupu popsaného výše se připraví následující aldehydy:

4-(2-pyrimidyl)butyraldehyd za použití 3-butyn-1-olu místo propargylalkoholu

^1NMR CDCl_3 δ 9,8 (1H, s), 8,6 (2H, m), 7,15 (1H, m), 3,0 (2H, m), 2,5 (2H, m), 2,2 (2H, m);

3-(2-pyrazinyl)propionaldehyd za použití 2-brompyrazinu místo 2-brompyrimidinu

^1NMR (d_6 -DMSO) δ 9,77 (s, 1H), 8,61 (d, 1H), 8,54 (dd, 1H), 8,46 (d, 1H), 3,10 (t, 2H), 2,92 (t, 2H);

4-(2-pyrazinyl)butyraldehyd za použití 2-brompyrazinu místo 2-brompyrimidinu a 3-butyn-1-olu místo propargylalkoholu

^1NMR (d_6 -DMSO) δ 9,68 (s, 1H), 8,56 (m, 2H), 8,49 (m, 1H), 2,80 (t, 2H), 2,5 (m, 2H), 1,96 (m, 2H);

4-(4-trifluormethylpyrimidin-2-yl)butanal za použití 2-chlor-4-trifluorpyrimidinu [CAS registrační číslo 33034-67-2] místo 2-brompyrimidinu a 3-butyn-1-olu místo propargylalkoholu;

^1H NMR (CDCl_3): δ 9,80 (s, 1H), 8,92 (d, 1H, $J=5,0$ Hz), 7,47 (d, 1H, $J=5,0$ Hz), 3,11 (dd, 2H, $J=7,5, 7,5$ Hz), 2,60 (dd, 2H, $J=6,1, 6,1$ Hz), 2,21 (m, 3H);

4-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butanal za použití 2-chlor-5-fluorpyrimidinu [CAS registrační číslo 62802-42-0] místo 2-brompyrimidinu a 3-butyno-1-olu místo propargylalkoholu,

^1H NMR (CDCl_3): δ 9,90 (s, 1H), 8,52 (s, 2H, $J=5,0$ Hz), 7,47, 3,47 (m, 2H), 3,33 (dd, 2H, $J=6,8, 6,8$ Hz), 3,02 (m, 2H);

4-(4-methoxypyrimidin-2-yl)butanal za použití 2-chlor-4-methoxy-pyrimidinu [CAS registrační číslo 22536-63-6] místo 2-brompyrimidinu a 3-butyno-1-olu místo propargylalkoholu,

^1H NMR (CDCl_3): δ 9,80 (s, 1H), 8,34 (d, 1H, $J=5,0$ Hz), 6,55 (d, 1H, $J=5,0$ Hz), 3,97 (s, 3 H), 2,91 (dd, 2 H, $J=6,8, 6,8$ Hz), 2,58 (m, 2H), 2,20 (m, 2H);

4-(5-ethylpyrimidin-2-yl)butanal za použití 2-chlor-5-ethylpyrimidinu [CAS registrační číslo 111196-81-7] místo 2-brompyrimidinu a 3-butyno-1-olu místo propargylalkoholu,

^1H NMR (CDCl_3): δ 9,79 (s, 1H), 8,51 (s, 2H), 2,99 (dd, 2H, $J=7,4, 7,4$, Hz), 2,54 (m, 4H), 2,17 (p, 1H, $J=7,4$ Hz), 1,04 (t, 2 H, $J=7,2$ Hz).

5-(2-pyrimidyl)pentanal za použití 2-brompyrimidinu a 4-pentyn-1-olu místo propargylalkoholu,

^1NMR (CDCl_3) δ 9,8 (1H, s), 8,65 (2H, m), 7,1 (1H, m), 3,0 (2H, m), 2,5 (2H, m), 1,9 (2H, m), 1,7 (2H, m).

3-(5-brompyrimidin-2-yl)propanal za použití 2-jod-5-brompyrimidinu místo 2-brompyrimidinu,

^1H NMR (CDCl_3): δ 9,90 (s, 1H), 8,70 (s, 2H), 3,30 (dd, 2H), 3,0 (dd, 2H).

4-(4-pyrimidyl)-butan-1-al

4,47 g (0,03 M) 2,4-Dichlorpyrimidinu se v atmosféře argonu rozpustí v 250 ml triethylaminu. Přidá se 420 mg (0,006 M) $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{PdCl}_2$, 28 mg (0,00015 M) jodidu měďného a 2,36 ml (0,03 M) 3-butyn-1-olu a směs se míchá 18 hodin při teplotě místnosti. Po odpaření do sucha se přidá 250 ml vody a směs se extrahuje dichlormethanem. Spojené organické fáze se suší a odpaří se do sucha. Získaný olej se čistí pomocí chromatografie za

eluze směsí iso-hexan/ethylacetát 1/1 a získá se 3,3 g 4-(2-chlor-4-pyrimidyl)-3-butyn-1-olu ve formě oleje.

^1NMR (CDCl_3) δ 8,5, (d 1H); 7,3, (d 1H); 3,9, (t, 2H); 2,8, (m 2H); 1,6 (s 1H). Hmotové spektrum nalezeno MH^+ 183.

Tato látka se hydrogenuje tak, jak je popsáno výše, ale v přítomnosti 1 ekvivalentu triethylaminu a získá se požadovaný nasycený alkohol, který se oxiduje za použití výše popsané Swernovy oxidace a získá se požadovaný 4-(4-pyrimidyl)-butan-1-ol.

^1NMR CDCl_3 δ 9,8, (s 1H); 9,1, (s 1H); 8,5, (d 1H); 7,1, (d 1H); 2,8, (t 2H); 2,5, (t 2H); 2,1, (m 2H). Hmotové spektrum nalezeno MH^+ 149.

3-(5-fluorpyrimidin-2-yl)propanal

K míchajícímu se roztoku (E)-1-ethoxy-3-(5-fluorpyrimidin-2-yl)prop-2-enylethyletheru a 9,7 g (43 mmol) (Z)-1-ethoxy-3-(5-fluorpyrimidin-2-yl)prop-2-enylethyletheru ve 100 ml suchého ethanolu se při teplotě místnosti v atmosféře argonu přidá 1,0 g (10% palladia na uhlí. Reakční baňka se evakuuje a naplní se plynným vodíkem. Směs se potom míchá 18 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se potom filtruje přes lůžko z křemelinu a odpaří se za sníženého tlaku a získá se 8,7 g (výtěžek 89 %) žlutého oleje. K roztoku 15 g (66 mmol) tohoto oleje v 200 ml tetrahydrofuranu se při teplotě místnosti přidá 36 ml (72 mmol) 2M vodného roztoku kyseliny chlorovodíkové a reakční směs se míchá 3 hodiny při teplotě místnosti. Reakční směs se potom zředí 100 ml ethylacetátu a pH směsi se upraví přidáním 100 ml nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného na 9. Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se extrahuje třikrát 100 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty se potom suší nad síranem sodným, filtrují se a odpaří se za sníženého tlaku a

získá se 16 g 3-(5-fluorpyrimidin-2-yl)propanalu, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (CDCl_3): δ 9,90 (s, 1H), 8,50 (s, 2 H), 3,33 (dd, 2 H, $J = 6,9, 6,9$ Hz), 3,00 (dd, 2 H, $J = 6,9, 6,9$ Hz).

Výchozí látka se získá následujícím způsobem:

K roztoku 9,0 g (68 mmol) 2-chlor-5-fluorpyrimidinu [CAS registrační číslo 62802-42-0] a 42,8 g (102 mmol, směs E:Z izomerů 5:1) 1-tributylstannyl-3,3-diethoxyprop-1-enu v 140 ml suchého dimethylformamidu se v atmosféře suchého argonu postupně přidá 9,4 g (68 mmol) uhličitanu draselného, 11,2 g (68 mmol) tetraethylamoniumchloridu a 2,4 g (3,4 mmol) bis(trifenylfosfin)palladium(II)chloridu. Získaná směs se míchá a zahřívá 3 hodiny na 120 °C. Reakční směs se ochladí na teplotu místnosti a zředí se 100 ml vody a 150 ml diethyletheru. Tato směs se potom filtruje přes lůžko z křemeliny. Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se extrahuje třikrát 100 ml diethyletheru. Spojené organické extrakty se potom suší nad síranem hořečnatým, filtrují se a odpaří se za sníženého tlaku. Po čištění pomocí flash chromatografie na silikagelu za eluce směsí 10 % ethylacetátu v hexanu se získá 9,7 g (výtěžek 63 %) produktu ve formě světle žlutého oleje a 3:1 směsi E:Z izomerů.

E-izomer: ^1H NMR (CDCl_3): δ 8,53 (s, 2H), 6,99 (dd, 1H, $J = 15,4, 4,1$ Hz), 6,86 (d, 1H, $J = 15,4$ Hz), 5,14 (d, 1H, $J = 4,1$ Hz), 3,56 (m, 4H), 1,24 (t, 6H, $J = 7,1$ Hz)

Z-izomer: ^1H NMR (CDCl_3): δ 8,57 (s, 2H), 6,65 (d, 1H, $J = 12,1$ Hz), 6,49 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 6,09 (dd, 1H, $J = 12,1, 7,5$ Hz), 3,70 (m, 4H), 1,21 (t, 6H, $J = 7,1$ Hz).

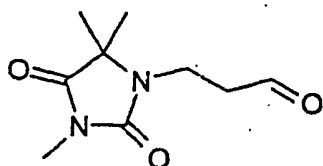
Analogickým způsobem se připraví následující aldehydy za použití vhodně substituovaného 2-chlorpyrimidinu:

3-(4-methoxypyrimidin-2-yl)propanal, ^1H NMR (CDCl_3): δ 9,82 (s, 1H), 8,34 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,55 (d, 1H, $J = 7,4$ Hz), 3,91 (s, 3H), 3,28 (dd, 2 H, $J = 7,4, 7,4$ Hz), 2,99 (dd, 2H, $J = 7,4, 7,4$ Hz).

3-(4-trifluormethylpyrimidin-2-yl)propanal, ^1H NMR (CDCl_3): δ 9,92 (s, 1H), 8,90 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz), 7,47 (d, 1H, $J = 5,0$ Hz), 3,43 (dd, 2 H, $J = 6,8, 6,8$ Hz), 3,07 (dd, 2 H, $J = 6,8, 6,8$ Hz).

3-(5-ethylpyrimidin-2-yl)propanal, ^1H NMR (CDCl_3): δ 9,91 (s, 1H), 8,49 (s, 2H), 3,31 (dd, 2 H, $J = 6,9, 6,9$ Hz), 2,98 (dd, 2H, $J = 6,9, 6,9$ Hz), 2,61 (q, 2 H, $J = 7,6$ Hz), 1,26 (t, 3 H, $J = 7, 6$ Hz).

3,5,5-trimethyl-1-propanalhydantoin

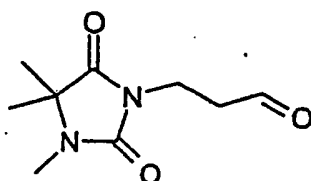


Roztok 3,5 g (0,025 mol) 3,5,5-trimethylhydantoinu [CAS (6345-19-3)], 4,8 ml (0,041 mol) 2-(2-bromethyl)-1,3-dioxolanu, 8,5 g (0,062 mol) uhličitanu draselného, 2,23 g (0,012 mol) benzyltrimethylamoniumchloridu v 100 ml acetonitrilu se 24 hodin zahřívá k varu pod zpětným chladičem. Směs se nechá ochladit na teplotu místnosti a filtruje se, filtrát se odpaří ve vakuu. Zbytek se převede do dichlormethanu, potom se třikrát promyje vodou a odpaří se ve vakuu. Zbytek se třikrát azeotropicky destiluje s toluenem a získá se 5,4 g žlutého oleje. Olej se potom míchá v 30 ml tetrahydrofuranu s 4 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové při teplotě místnosti 20 hodin. Neutralizuje se vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a extrahuje se osmkrát dichlormethanem. Spojené organické vrstvy

se suší nad síranem sodným a odpaří se ve vakuu a získá se 4,3 g žlutého oleje.

^1H NMR (CDCl_3): δ 9,82 (s, 1H), 3,62 (t, 2H), 3,04 (s, 3H), 2,90 (m, 2H), 1,37 (s, 6H).

1,5,5-trimethyl-3-propanalhydantoin



5,0 g (35 mol) 1,5,5-trimethylhydantoinu [CAS (6851-81-6)] se přidá ke směsi 0,02 g (0,298 mmol, katalytické množství) ethoxidu sodného a 8 ml ethanolu a směs se míchá v atmosféře argonu. Směs se ohřeje na 30 °C a potom se pomalu přidá 2,35 ml akroleinu a reakce se exotermně ohřeje na 45 °C. Reakční směs se nechá ochladit na teplotu místnosti a míchá se další 2 hodiny. Ke směsi se přidá 0,136 ml (2,4 mmol) kyseliny octové a 3,5 g silikagelu a směs se odpaří ve vakuu. Produkt na silikagelu se chromatograficky čistí na koloně silikagelu za eluce směsí 5 % acetonu v dichlormethanu a získá se 6,2 g čirého oleje. Po dalším čištění zbytku na alumině (eluentem je dichlormethan) se získá 2,7 g čirého oleje.

^1H NMR (CDCl_3): δ 9,78 (s, 1H), 3,88 (t, 2H), 2,86 (s, 3H), 2,82 (m, 2H), 1,37 (s, 6H).

Analogickým způsobem se připraví 1,5,5-trimethyl-3-butanalhydantoin [M+H 213].

3-(3-chlorfenyl)butyraldehyd

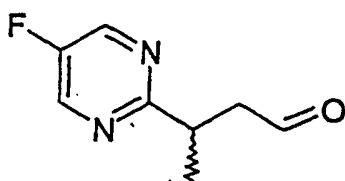
Směs 2,38 g 3-chlorijodbenzenu, 20 mg octanu palladnatého, 1,01 g hydrogenuhličitanu sodného a 1,28 ml krotylalkoholu v 4 ml A-methylpyrrolidonu se míchá a zahřívá na 130 °C 2 hodiny.

Reakční směs se nechá ochladnout, přidá se 50 ml vody a směs se extrahuje dvakrát 50 ml diethyletheru. Spojené organické extrakty se suší a zbytek získaný po odstranění rozpouštědla se čistí pomocí chromatografie na silikagelu za eluce směsí ethylacetátu a methylenchloridu (1:20) se získá sloučenina uvedená v názvu ve formě oleje ve výtěžku 519 mg, M-H =181.

3-(2-pyridyl)butyraldehyd

Sloučenina se připraví pomocí Swernovy oxidace odpovídajícího alkoholu (CAS 90642-86-7).

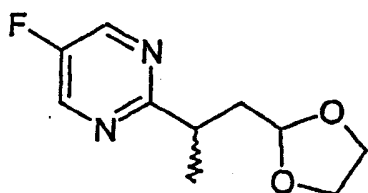
3-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butanal



1 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové se při teplotě místnosti přidá k míchajícímu se roztoku 1,1 g 2-[2-(1,3-dioxolan-2-yl)-1-methylethyl]-5-fluorpyrimidinu v 10 ml tetrahydrofuranu, směs se míchá 3 hodiny a potom se přidává pevný hydrogenuhličitan sodný do neutrálního pH. Směs se nalije na patronu Chemelut a promyje se třikrát 20 ml ethylacetátu, spojené organické extrakty se suší nad síranem sodným a odpaří se ve vakuu a získá se 300 mg (35 %) 3-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butanal, který se použije bez dalšího čištění.

Výchozí látka se připraví následujícím způsobem:

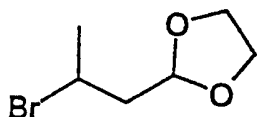
2-[2-(1,3-dioxolan-2-yl)-1-methylethyl]-5-fluorpyrimidin



K míchajícímu se roztoku 21 ml (1,53M) zinku "Rieke" v tetrahydrofuranu se přidá 6,6 g 2-(2-brompropyl)-1,3-dioxolanu v 50 ml tetrahydrofuranu, teplota vzroste z 21 °C na 40 °C, směs se 1 hodinu zahřívá na 40 °C, potom se nechá ochladit na teplotu místnosti a přidá se 3 g 2-chlor-5-fluorpyrimidinu a 368 g [1,2-bis(difenylfosfino)-propan]dichlorníkl(II)chloridu. Směs se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti, potom se filtruje přes lůžko z křemeliny a filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Po čištění pomocí flash chromatografie na silikagelu za eluce hexanem až směsí 25 % ethylacetátu v hexanu se získá 1,1 g produktu ve formě světle žlutého oleje.

^1H NMR (d_6 DMSO): δ 8,81 (s, 2H), 4,73 (dd, 1H), 3,66-3,87 (m, 4H), 3,21-3,30 (m, 1H), 2,19 (ddd, 1H), 1,83 (ddd, 1H), 1,27(d, 3H); m/z 213 (M+1).

2-(2-brompropyl)-1,3-dioxolan

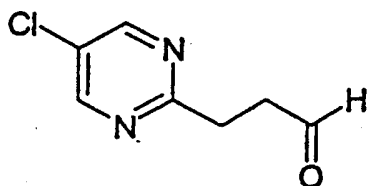


9,18 g (108 mmol) Krotonaldehydu se při 0 °C přikape k míchajícímu se roztoku 24 g (156 mmol) bromtrimethylsilanu, směs se míchá 1 hodinu při 0 °C, potom se ohřeje na teplotu místnosti a míchá se další 1 hodinu. Přidá se 9,5 g (156 mmol) ethylenglykolu a 100 mg p-toluensulfonové kyseliny a roztok se zahřívá k varu a voda se odstraňuje pomocí Deanovy a Starkovy aparatury. Po dokončení reakce se směs ochladí na teplotu místnosti a promyje se dvakrát 50 ml nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Zbytek se čistí pomocí vakuové destilace za získání 18,8 g (výtěžek 89 %) 2-(2-brompropyl)-1,3-dioxolanu (teplota varu 40 až 42 °C při 133,3 Pa (1 mm Hg)).

^1H NMR (CDCl_3): δ 5,05 (dd, 1H), 4,18-4,33 (m, 1H), 3,84-4,0 (m, 4H), 2,25 (ddd, 1H), 2,03 (ddd, 1H), 1,75 (d, 3H).

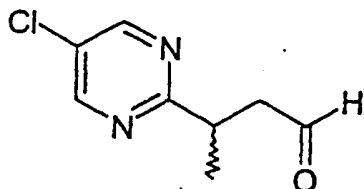
Analogický postup se použije pro přípravu následujících aldehydů za použití vhodně substituovaného 2-chlorpyrimidinu a 1,3-dioxolanu:

3-(5-chlorpyrimidin-2-yl)propanal



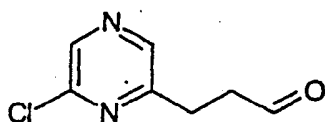
^1H NMR (CDCl_3): δ 9,90 (s, 1H), 8,60 (s, 2H), 3,32 (dd, 2H), 3,04 (dd, 2H).

3-(5-chlorpyrimidin-2-yl)butanal



^1H NMR (CDCl_3): δ 9,86 (s, 1H), 8,60 (s, 2H), 3,65 (m, 1H), 3,1 (dd, 1H), 2,75 (dd, 1H), 1,39 (d, 3H).

3-[2-(6-Chlorpyrazinyl)]propanal



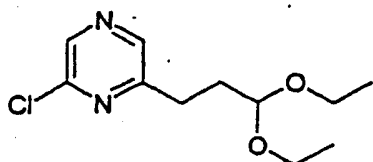
200 mg (0,82 mmol) diethylacetalu 3-[2-(6-chloropyrazinyl)]propanalu se 18 hodin při teplotě místnosti reaguje s 450 μl 2N kyseliny chlorovodíkové v 2,5 ml tetrahydrofuranu. Po upravení pH na hodnotu 8 pomocí nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného se reakční směs extrahuje třikrát ethylace-

tátem a organické vrstvy se suší nad bezvodým síranem sodným, filtrují se a odpaří se ve vakuu a získá se 137 mg (výtěžek 98 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě tmavě hnědého oleje. Tato látka se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (CDCl_3) δ 9,85 (1H, s); 8,4 (2H, 2 x s); 3,5 (2H, t); 3,0 (2H, t).

Výchozí látka se připraví následujícím způsobem:

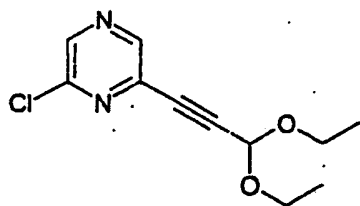
diethylacetal 3-[2-(6-chlorpyrazinyl)]propanalu



5,5 g (22,9 mmol) diethylacetalu 3-[2-(6-chlorpyrazinyl)]propynalu, v 55 ml ethanolu se odplyní argonem a přidá se 52 mg (0,23 mmol) oxidu platičitého. Reakční nádoba se evakuuje a zavede se vodíková atmosféra. Po 2 dnech se reakční směs odpaří ve vakuu a čistí se pomocí flash chromatografie za eluce gradientem 0 až 50 ethylacetátu v iso-hexanu a získá se 1,17 g (21 %) diethylacetalu 3-[2-(6-chlorpyrazinyl)]propynalu ve formě světle žlutého oleje.

^1H NMR (CDCl_3) δ 8,4 (1H, s); 8,35 (1H, s); 4,5 (1H, t); 3,75-3,55 (2H, m); 3,55-3,4 (2H, m); 2,9 (2H, dd); 2,1 (2H; dd); 1,2 (6H, t).

diethylacetal 3-[2-(6-chlorpyrazinyl)]propynalu



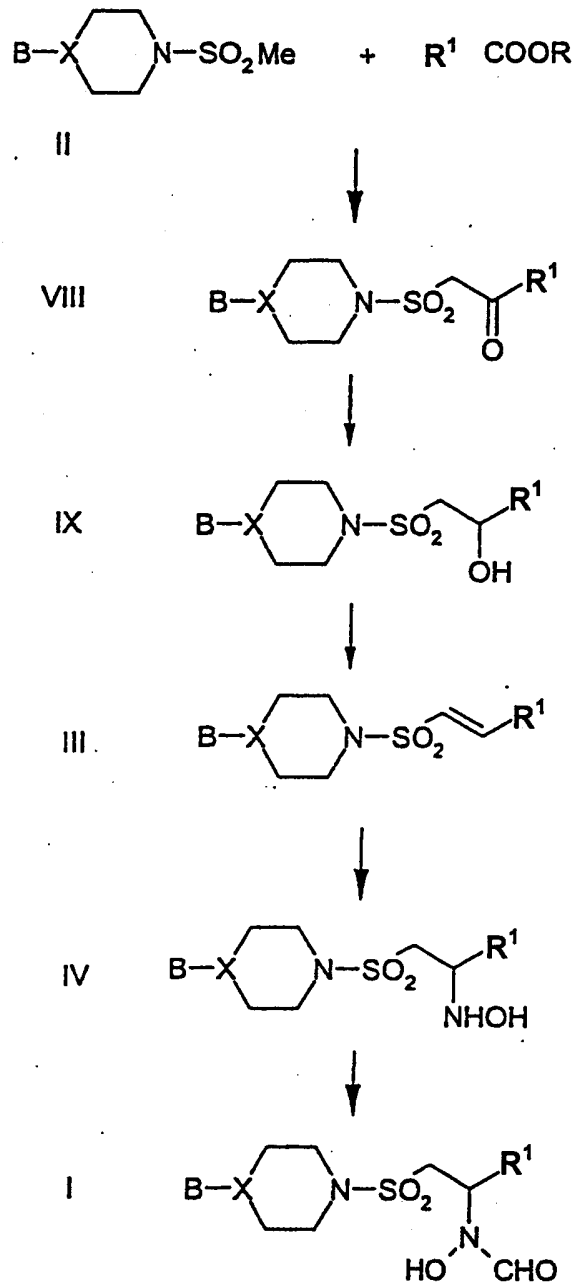
K roztoku 1 g (6,7 mmol) 2,6-dichlorpyrazinu a 1,1 ml (7,4 mmol) diethylacetalu propionaldehydu v 10 ml acetonitrilu se při teplotě místnosti v atmosféře argonu přidá 94 mg (0,13 mmol) bis(trifenylfosfin)palladium(II)dichloridu a 51 mg (0,27 mmol) jodidu měďného a potom 4,7 ml (33,6 mmol) triethylaminu. Reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a zbytek se čistí pomocí flash chromatografie za eluce směsí 10 až 20 % ethylacetátu v iso-hexanu a získá se 660 mg (41 %) diethylacetalu 3-[2-(6-chlorpyrazinyl)]propynalu ve formě žlutého oleje.

^1H NMR (CDCl_3) δ 8,6 (1H, s); 8,5 (1H, s); 5,5 (1H, s); 3,9-3,75 (2H, m); 3,7-3,4 (2H, m); 1,25 (6H, t)

m/s (EI^+) 241/243 (MH^+).

Alternativní způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli nebo *in vivo* hydrolyzovatelného esteru zahrnuje reakci sloučeniny vzorce II se sloučeninou vzorce R^1COOR za získá sloučeniny vzorce VIII, převedení této sloučeniny na sloučeninu vzorce IX, převedení sloučeniny vzorce IX na alken vzorce III, který se potom převede na sloučeninu vzorce IV, která je prekurzorem sloučeniny vzorce I, a popřípadě se potom provede převedení na farmaceuticky přijatelnou sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester sloučeniny vzorce I tak, jak je uvedeno dále.

Vhodné estery R^1COOR jsou komerčně nebo jinak dostupné nebo se mohou připravit za použití například analogického postupu, jako je ten, který je popsán v příkladu 10. Odborníkům pracujícím v této oblasti bude zřejmé, že je možné použít jakýkoli ester sloučeniny vzorce R^1COOR (kde R^1 je definována výše). R může být jakákoli skupina, včetně například alkylové skupiny, arylalkylové skupiny, heteroarylové skupiny a tak dále.



Aktivita sloučenin podle předkládaného vynálezu se může hodnotit například pomocí následujících testů:

Izolovaný enzymový test

Skupina matricových metaloproteináz včetně například MMP13

Rekombinantní humánní MMP13 se může exprimovat a purifikovat podle postupu popsaného v Knauper a kol. [V. Knauper a kol.,

(1996) The Biochemical Journal 271: 1544-1550 (1996)]. Purifikovaný enzym se může použít pro monitorování inhibiční aktivity následujícím způsobem: purifikovaný MMP13 se aktivuje za použití 1mM aminofenylrtuťnaté kyseliny (APMA) 20 hodin při teplotě 21 °C; aktivovaný MMP13 (11,25 ng na test) se inkubuje 4 až 5 hodin při 35 °C v testovém pufru (0,1M Tris-HCl, pH 7,5 obsahující 0,1M NaCl, 20mM CaCl₂, 0,02 nM ZnCl₂ a 0,05% (hmotnost/objem) Brij 35 za použití syntetického substrátu 7-methoxykumarin-4-yl)acetyl.Pro.Leu.Gly.Leu.N-3-(2,4-dinitrofenyl)-L-2,3-diaminopropionyl.Ala.Arg.NH₂ v přítomnosti nebo nepřítomnosti inhibitoru. Aktivita se určí měřením fluorescence při λ_{ex} 328 nm a λ_{em} 393 nm. Procentuální inhibice se vypočte následujícím způsobem:

$$\% \text{ inhibice} = [\text{fluorescence}_{\text{plus inhibitor}} - \text{fluorescence}_{\text{pozadí}}] / [\text{fluorescence}_{\text{minus inhibitor}} - \text{fluorescence}_{\text{pozadí}}].$$

Podobný postup se může použít pro další exprimované a purifikované pro MMP za použití substrátů a pufovacích podmínek, které jsou optimální pro konkrétní MMP, například jak je popsáno v C. Graham Knight a kol.; (1992) FEBS Lett. 296(3): 263-266.

Skupina adamalysinu včetně například TNF konvertázy

Schopnost sloučenin inhibovat pro TNF α konvertující enzym se může testovat za použití částečně purifikovaného, izolovaného enzymového testu, kdy se enzym získá z membrán THP-1, jak je popsáno v K. M. Mohler a kol., (1994) Nature 370:218-220. Aktivita purifikovaného enzymu a jeho inhibice se určí inkubací částečně purifikovaného enzymu v přítomnosti nebo nepřítomnosti testovaných sloučenin za použití substrátu 4',5'-dimethoxy-fluoresceinyl-Ser.Pro.Leu.Ala.Gln.Ala.Val.Arg.Ser.-Ser.Ser.Arg.Cys(4-(3-sukcinimid-1-yl)-fluorescein)-NH₂ v testovém pufru (50mM Tris HCl, pH 7,4 obsahujícím 0,1% (hmotnost/objem) Triton X-100 a 2mM CaCl₂), při 26 °C po dobu 18 hodin.

Hodnota inhibice se určí stejně, jako u MMP13, kromě toho, že se použije λ_{ex} 490 nm a λ_{em} 530 nm. Substrát se syntetizuje následujícím způsobem. Peptidická část substrátu se zakotví na Fmoc-NH-Rink-MBHA-polystyrenovou pryskyřici buď manuálně nebo pomocí automatizovaného peptidového syntetizéru standardním způsobem za použití Fmoc-aminoaminokyselin a O-benzotriazol-1-yl-N,N,N',N'-tetramethyluroniumhexafluorofosfátu (HBTU) jako kondenzačního činidla při nejméně čtyř až pětinasobném přebytku Fmoc-aminokyseliny a HBTU. Ser¹ a Pro² se kondenzují dvojnásobně. Použije se následující postup chránění postranního řetězce: Ser¹(But), Gln⁵(Trityl), Arg^{8,12}(Pmc nebo Pbf), Ser^{9,10,11}(Trityl), Cys¹³(Trityl). Po zakotvení se odstraní A-koncová Fmoc chránící skupina reakcí Fmoc-peptidyl-pryskyřice s dimethylformamidem. Takto získaná amino-peptidyl-pryskyřice se acyluje reakcí po dobu 1,5 až 2 hodiny při 70 °C s 1,5 až 2 ekvivalenty 4',5'-dimethoxy-fluorescein-4(5)-karboxylové kyseliny [Khanna & Ullman, (1980) Anal Biochem. 108:156-161], která se předem aktivuje diisopropylkarbodiimidem a 1-hydroxybenzotriazolem v dimethylformamidu]. Z dimethoxyfluoresceinyl-peptidu se potom odstraní chránící skupina a odštěpí se od pryskyřice reakcí s trifluoroctovou kyselinou obsahující 5 % vody a 5 % triethylsilanu. Dimethoxyfluoresceinyl-peptid se izoluje odpařením, tritrací diethyletherem a filtrací. Izolovaný peptid se reaguje s 4-(N-maleimido)-fluoresceinem v dimethylformamidu obsahujícím diisopropylethylamin, produkt se čistí pomocí RP-HPLC a nakonec se izoluje sušením za zmrazení z vodné kyseliny octové. Produkt se charakterizuje pomocí MALDI-TOF MS a aminokyselinové analýzy.

Přírodní substráty

Aktivita sloučenin podle předkládaného vynálezu jako inhibitorů degradace agrekanu se může testovat za použití způsobů v podstatě popsanych v E. C. Arner a kol., (1998) Osteoarthritis and Cartilage 6:214-228; (1999) Journal of Biological Che-

mistry, 274 (10), 6594-6601 a protilátek popsanych v této publikaci. Účinnost sloučenin jako inhibitorů kolagenáz se může určit podle postupu popsaneho v T. Cawston a A. Barrett (1979) Anal. Biochem. 99:340-345.

Inhibice aktivity metaloproteinázy založení na aktivitě buňka/tkáň

Test jako činidla inhibujícího membránové šedázy, jako je TNF konvertáza

Schopnost sloučenin podle předkládaného vynálezu inhibovat buněčné zpracování produkce TNF α v buňkách THP-1 za použití ELISA za účelem detekce uvolnění TNF se v podstatě testuje podle postupu popsaneho v K. M. Mohler a kol., (1994) Nature 370: 218-220. Podobným způsobem se může testovat zpracování nebo ubývání jiných molekul membrán, jako jsou ty, které jsou popsány v N. M. Hooper a kol., (1997) Biochem. J. 321:265-279 za použití vhodných buněčných linií a vhodných protilátek detekujících ubývající protein.

Testování jako činidel inhibujících invazi založenou na buňkách

Schopnost sloučenin podle předkládaného vynálezu inhibovat migraci buněk při invazním testu se může určit podle postupu popsaneho v A. Albini a kol., (1987) Cancer Research 47:3239-3245.

Testování jako činidel inhibujících aktivitu TNF šedázy úplné krve

Schopnost sloučenin podle předkládaného vynálezu inhibovat produkci TNF α se testuje při humánním testu úplné krve, kdy se LPS použije pro stimulaci uvolňování TNF α . Heparinizovaná (10 jednotek/ml) humánní krev získaná od dobrovolníků se zředí 1:5 médiem (RPMI1640 + bikarbonát, penicillin, streptomycin a

glutamin) a inkubuje se (160 μ l) s 20 μ l testované sloučeniny (v trojnásobném provedení), v dimethylsulfoxidu nebo vhodném vehikulu 30 minut při 37 °C ve vlhkém (5 % oxidu uhličitého/95 % vzduchu) inkubátoru. Potom se přidá 20 μ l LPS (*E. coli*. 0111:B4; konečná koncentrace 10 μ g/ml). Každý test zahrnuje kontrolní vzorky zředěné krve inkubované se samotným médiem (6 jamek/destička) nebo známým inhibitorem TNF α jako standardem. Destičky se potom inkubují 6 hodin při 37 °C (vlhký inkubátor), odstředí se (2000 otáček za minutu po dobu 10 minut; 4 °C), plasma se sklídí (50 až 100 μ l) a skladuje se v 96jamkových destičkách při -70 °C před následnou analýzou na koncentraci TNF α pomocí ELISA.

Test jako činidla inhibujícího degradaci chrupavky in vitro

Schopnost sloučenin podle předkládaného vynálezu inhibovat agrekanovou nebo kolagenovou složku chrupavky se může testovat podle postupu v podstatě popsaného v K. M. Bottomley a kol., (1997) *Biochem. J.* 323:483-488.

Farmakodynamický test

Pro hodnocení clearance a biologické využitelnosti sloučenin podle předkládaného vynálezu se použije farmakodynamický test, který využívá syntetické substrátové testy popsané výše nebo alternativně HPLC nebo hmotovou spektrometrickou analýzu. Jedná se o obecný test, který se může použít pro odhad rychlosti clearance sloučenin u mnoha druhů živočichů. Živočichové (například krysy nebo opice) se dávkuje iv nebo po rozpustným prostředkem sloučeniny (jako je 20% hmotnost/objem DMSO, 60% hmotnost/objem PEG 400) a v předem určených časech (například 5, 15, 30, 60, 120, 240, 480, 720, 1220 minut) se odeberou vzorky krve z vhodné cévy do 10U heparinu. Po odstředění se získají frakce plasmy a plasmové proteiny se srážejí acetonitrilem (konečná koncentrace 80 % hmotnost/objem). Po 30

minutách při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ se plasmové proteiny usadí odstředěním a frakce supernatantu se odpaří do sucha za použití zařízení Savant speed vac. Sediment se suspenduje v testovém pufru a následně se analyzuje na obsah sloučeniny za použití syntetického substrátového testu. Ve zkratce se pro testovanou sloučeninu vytvoří křivka závislosti koncentrace sloučeniny a odezvy. Na aktivitu se testuje série zředění suspendovaných extraktů plasmy a množství sloučeniny přítomné v původním vzorku plasmy se vypočte za použití křivky odezvy na koncentraci, přičemž se bere v úvahu faktor celkového zředění plasmy.

Testování in vivo

Test jako anti-TNF činidla

Účinnost sloučenin podle předkládaného vynálezu jako *ex vivo* inhibitorů $\text{TNF}\alpha$ se testovala u krys. V krátkosti se skupina samců krys Wistar Alderley Park (AP) o hmotnosti 180 až 210 g dávkovala sloučeninou (6 krys) nebo vehikulem léčiva (10 krys) vhodným způsobem, například perorálně (p.o.), intraperitoneálně (i.p.), subkutánně (s.c.). Po 90 minutách se krysy usmrtí za použití vzrůstající koncentrace oxidu uhličitého a nechají se vykrváct pomocí zadní duté žíly při 5 jednotkách sodné soli heparinu/ml krve. Vzorky krve se okamžitě umístí na led a odstředí se při 2000 otáčkách za minutu 10 minut při $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ a získaná plasma se zmrazí při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ pro následné testy jejího účinku na produkci $\text{TNF}\alpha$ pomocí LPS stimulované humánní krve. Vzorky plasmy krys se potom nechají roztát a 175 μl každého vzorku se přidá k matrici v 96jamkové destičce. Do každé jamky se přidá 50 μl heparinizované humánní krve, promíchá se a destička se inkubuje 30 minut při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ (vlhký inkubátor). Do každé jamky se přidá LPS (25 μl ; konečná koncentrace 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) a inkubace pokračuje dalších 5,5 hodiny. Kontrolní jamky se inkubují s 25 μl samotného média. Destičky se potom 10 minut odstřeďují při 2000 otáčkách za minutu a 200

μl supernatantu se převede do 96jamkové destičky a zmrazí se při -20 °C pro následnou analýzu na koncentraci TNF pomocí testu ELISA.

Pro každou sloučeninu/dávku se vypočte příslušná hodnota pomocí vhodného software:

Procentuální inhibice TNF α = $\{[(\text{Průměr TNF}\alpha_{\text{kontrola}}) - (\text{Průměr TNF}\alpha_{\text{ošetřeno}})] \times 100\} / (\text{Průměr TNF}\alpha_{\text{kontrola}})$

Testování sloučenin jako antiarthritických činidel

Aktivita sloučenin jako antiarthritických činidel se testuje na arthritidě vyvolané kolagenem (CIA) tak, jak je popsáno v D. E. Trentham a kol., (1977) J. Exp. Med. 146:857. Na tomto modelu nativní kolagen typu II rozpustný v kyselině způsobí polyarthritidu u krys, pokud se podává v neúplném Freundově adjuvantu. Podobné podmínky se mohou použít pro vyvolání arthritidy u myši a primátů.

Testování sloučenin jako protirakovinných činidel

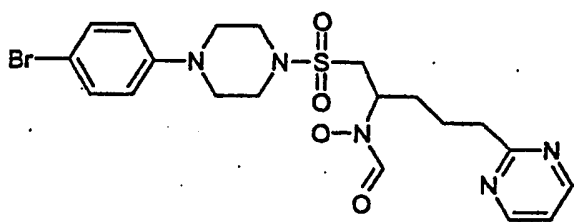
Aktivita sloučenin jako protirakovinných činidel se může testovat podle postupu popsaného v I. J. Fidler (1978) Methods in Cancer Research 15: 399-439, za použití například buněčné linie B16 (popsané v B. Hibner a kol., Abstract 283 str. 75 10th NCI-EORTC Symposium, Amsterdam; 16. až 19. června 1998).

Vynález bude dále ilustrován pomocí příkladů, které v žádném ohledu neomezují jeho rozsah.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

N-[1-([4-(4-bromfenyl)piperazino]sulfonylmethyl)-4-pyrimidin-2-ylbutyl]-A-hydroxyformamid



K míchajícímu se roztoku 497 mg (1,0 mmol) N-[1-([4-(4-bromfenyl)piperazino]sulfonylmethyl)-4-pyrimidin-2-ylbutyl]hydroxylaminu v 5,0 ml tetrahydrofuranu a 2,5 ml kyseliny mravenčí, ochlazenému na 0 °C se přidá předem připravená směs 566 µl (6,0 mmol) anhydridu kyseliny octové a 2,0 ml kyseliny mravenčí. Směs se míchá 2 hodinu při 0 °C a nechá se ohřát na teplotu místnosti. Rozpouštědlo se odpaří na rotační odparce a zbytek se čistí pomocí chromatografie (50 g silikagelu Bond Elute, eluent 0 až 15 % methanol/dichlormethan). Čistě frakce se odpaří a krystalizují se z horkého ethylacetátu a získá se 262 mg (51 %) N-[1-([4-(4-bromfenyl)piperazino]sulfonylmethyl)-4-pyrimidin-2-ylbutyl]-A-hydroxyformamidu ve formě bílého krystalického prášku.

¹NMR (300MHz DMSO-d₆) δ/ppm: 9,87 (s, 1H*), 9,55 (s, 1H*), 8,70 (m, 2H), 8,29 (s, 1H*), 7,98 (s, 1H*), 7,33 (m, 3H), 6,92 (dd, 2H), 4,68 (m, 1H*), 4,13 (m, 1H*), 3,55-3,31 (m, 5H, částečně nezřetelný), 3,25-3,09 (m, 7H, částečně nezřetelný), 1,80-1,50 (m, 4H).

* signály rotamerů

MS: ES⁺, (M+H)⁺= 512, 514 (izotopy Br)

Výchozí látka se připraví následujícím způsobem:

i) K roztoku 5,09 g (18,3 mmol) hydrochloridu 1-(4-bromfenyl)-piperazinu a 7,67 ml triethylaminu ve 100 ml dichlormethanu se přikape 2,83 ml (36,3 mmol) methansulfonylchloridu. Směs se míchá 1 hodinu při teplotě místnosti a potom se přidá 100 ml dichlormethanu. Organická vrstva se promyje dvakrát vodou,

solankou a suší se nad síranem sodným a odpaří se ve vakuu a získá se žlutá, pevná látka, která se krystalizuje z ethanolu a promyje se diethyletherem a získá se 4,74 g (výtěžek 81 %) 1-(4-bromfenyl)-4(methansulfonyl)piperazinu ve formě bílého chmýřovitého prášku.

^1H NMR (300MHz CDCl_3) δ /ppm: 7,38 (d, 2H), 6,91 (d, 2H), 3,21 (m, 8H), 2,89 (s, 3H) MS: ES^+ , $(\text{M}+\text{H})^+ = 318, 320$ (izotopy Br).

ii) K 902 mg (2,0 mmol) 1-(4-bromfenyl)-4-(methanesulfonyl)piperazinu suspendovanému v 15 ml tetrahydrofuranu v dusíkové atmosféře ochlazenému na -20 až -30 °C se postupně přidá 4,0 ml 1,0M roztoku lithiumbis(trimethylsilyl)amidu, 217 mg (2,0 mmol, 253 μl) chlortrimethylsilanu a 300 mg (2,0 mmol) 4-pyrimidin-2-ylbutanal. Reakční směs se míchá 1 hodinu při -20 °C, rozloží se nasyceným roztokem chloridu amonného a nechá se stát při teplotě místnosti přes noc. Rozpouštědla se odpaří ve vakuu a zbytek se extrahuje mezi 15 ml dichlormethanu a 5 ml vody, organická frakce se oddělí a chromatograficky se čistí (50 g silikagelu Bond Elute, eluce gradientem směsi 0 až 100 % ethylacetát/hexan) a získá se 759 g (výtěžek 84 %) 2-(5-[4-(4-bromfenyl)piperazino]sulfonylpent-4-enyl)pyrimidinu ve formě bílé, krystalické látky.

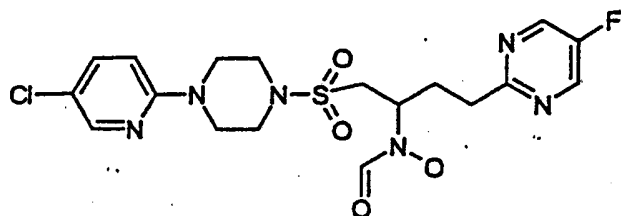
MS: ES^+ , $(\text{M}+\text{H})^+ = 451, 453$ (izotopy Br)

iii) K míchajícímu se roztoku 451 mg (1,0 mmol) 2-((E)-5-[4-(4-bromfenyl)piperazino]sulfonylpent-4-enyl)pyrimidinu v 10 ml tetrahydrofuranu se přidá 500 μl 50% roztoku hydroxylaminu ve vodě a směs se míchá přes noc. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu, třikrát se azeotropicky destiluje s toluenem a získá se 497 mg (kvantitativní výtěžek) N-[1-([4-(4bromfenyl)piperazino]sulfonylmethyl)-4-pyrimidin-2-ylbutyl]hydroxylaminu.

MS: ES^+ , $(\text{M}+\text{H})^+ = 484, 486$ (izotopy Br)

Příklad 2

N-[1-((4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino)sulfonylmethyl)-3-(5-fluorpyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid



0,51 ml Anhydridu kyseliny octové se přidá přímo k 2,0 ml kyseliny mravenčí, která byla ochlazená na 0 °C a potom se přidá roztok 0,485 g 2-[4-[4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]-sulfonyl-3-(hydroxyamino)butyl]-5-fluorpyrimidinu v 11 ml tetrahydrofuranu. Roztok se míchá 3 hodiny při teplotě místnosti a potom se odpaří ve vakuu, vznikající zbytek se azeotropicky destiluje s toluenem a potom se rozpustí v methanolu a 30 minut se zahřívá na 40 °C. Roztok se odpaří do sucha a potom se přidá diethylether a míchá se 10 minut při teplotě místnosti, pevná látka se filtruje, suší se ve vakuu a získá se 0,218 g N-[1-((4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino)sulfonylmethyl)-3-(5-fluorpyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamidu o teplotě tání 154 až 155 °C.

NMR (d_6 -DMSO 373 °K): 2,20 (m, 2H), 2,95 (m, 2H), 3,23 (dd, 1H), 3,30 (m, 4H), 3,49 (dd, 1H), 3,60 (m, 4H), 4,42 (všs, 1H), 6,88 (d, 1H), 7,59 (dd, 1H), 8,05 (všs, 1H), 8,12 (dd, 1H), 8,71 (s, 2H), 9,40 (všs, 1H); m/z 473 (M+1).

Výchozí látka se připraví následujícím způsobem:

(i) 0,600 g 1-(5-chlorpyridin-2-yl)-4-(methylsulfonyl)piperazinu se míchá ve 22 ml tetrahydrofuranu v atmosféře argonu, potom se ochladí na -10 °C a přidá se 4,8 ml 1,0M roztoku lithiumbis(trimethylsilyl)amidu v tetrahydrofuranu. Směs se míchá 30 minut při -10 °C a přidá se roztok 0,345 ml diethyl-

chlorfosfátu. Směs se míchá 15 minut při $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a potom se přidá 0,334 g 3-(5-fluorpyrimidin-2-yl)propanalu a směs se míchá při $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ dalších 30 minut. Směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a potom se promyje vodným roztokem chloridu amonného a extrahuje se ethylacetátem. Organická vrstva se suší nad síranem sodným. Po odpaření se zbytek čistí pomocí chromatografie na silikagelu za eluce směsí 70 % ethylacetátu 30 % hexanu a získá se 0,44 g směsi 6:4 2-((E)-4-[4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonylbut-3-enyl)-5-fluorpyrimidinu a 2-((Z)-4-[4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonylbut-3-enyl)-5-fluorpyrimidinu.

^1H NMR (CDCl_3): δ 8,55 (d, 1H), 8,48, (s, 1H), 7,46, (dd, 1H), 6,85, (m, 1H), 6,60, (d, 1H), *6,45, (m, 1H), 6,15, (d, 1H), *6,03, (d, 1H), 3,61, (m, 4H), 3,28, (m, 2H), 3,15, (m, 4H), *2,81, (m; 2H); MS (ES^+): 412,3 (MH^+).

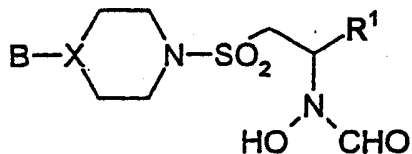
* znamená minoritní izomer

(ii) K roztoku 0,44 g 2-((E)-4-[4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonylbut-3-enyl)-5-fluorpyrimidinu a 2-((Z)-4-[4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonylbut-3-enyl)-5-fluorpyrimidinu v 5 ml tetrahydrofuranu se přidá 1,0 ml 50% vodného roztoku hydroxylaminu. Směs se míchá 18 hodin a potom se zředí 10 ml ethylacetátu a promyje se 10 ml nasyceného vodného roztoku chloridu amonného. Organická vrstva se suší nad síranem sodným a odpaří se ve vakuu a získá se 0,483 g 2-[4-[4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl-3-(hydroxyamino)butyl]-5-fluorpyrimidinu.

^1H NMR (CDCl_3): δ 8,45 (s, 2H), 8,08 (d, 1H), 7,39 (dd, 1H), 6,55 (d, 1H), 5,76 (šs, 2H), 3,59 (m, 4H), 3,46 (m, 1H), 3,42 (m, 2H), 3,33 (m, 4H), 3,10 (m, 4H), 2,82 (m, 1H), 2,15 (m, 1H), 2,01 (m, 1H); MS (ES^+): 445,3 (MH^+).

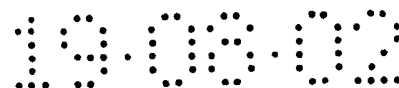
Příklad 3

Připraví se následující sloučeniny



B	X	R ¹	T. t.	M+H	Př. dle příkladu
5-Cl-2-Pyridyl	N	1,5,5-trimethyl-3-hydantoinCH ₂ CH ₂		517,3	2
(5-Cl-2-pyridyl)oxy	C	4-Cl-fenyl		474,3	1
5-Cl-2-Pyridyl	N	3,5,5-trimethyl-1-hydantoinCH ₂ CH ₂		517,3	1
(5-Cl-2pyridyl)oxy	C	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂		470,3	1
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-pyrimidin-SCH ₂ CH ₂		487	1
(5-Br-2-pyridyl)oxy	C	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		528,3	1
5-Cl-2-Pyridyl	N	3-(OCH ₂ Ph)-Ph		531	1
3,4-diCl-fenyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		502	1
4-Cl-fenyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₃		468	1
5-Cl-2-Pyridyl	N	3-CF ₃ -Ph		493	1
4-Cl-fenyl	N	3-Pyridyl		397,4	2
5-Cl-2-Pyridyl	N	4-CF ₃ -Ph		493	1
5-Cl-2-Pyridyl	N	3-Thiofenyl		431	1
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-PyrazinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		469	2
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-PyrazinylCH ₂ CH ₂		455,4	2
3-Cl-fenyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		468,4	2
6-Me-4-pyrimidinyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		450,5	2
5-kyano-2-pyridyl	N	2-PyrazinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		460,5	2
5-kyano-2-pyridyl	N	2-PyrazinylCH ₂ CH ₂		446,5	2
4-F-Ph	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂		438	1
5-CF ₃ -2-Pyridyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂		489	1
5-kyano-2-pyridyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂		446	1
5-CF ₃ -2-Pyridyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		503	1
5-Cl-2-Pyridyl	N	4-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		469	1
4-F-Ph	C	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		451	2
4-F-Ph	C	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂		437	2
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-(4-MeO-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		485	2
5-Cl-2-Pyridyl	C	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		468	2
5-Cl-2-Pyridyl	C	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂		454	2
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-(4-CF ₃ -Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		523	2
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-(5-EthylPyrimidinyl)CH ₂ CH ₂		483	2
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-(4-MeO-Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂ CH ₂		499	2
5-kyano-2-pyridyl	N	2-(4-MeO-Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂ CH ₂		490	2
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-(5-FPyrimidinyl)CH ₂ CH ₂ CH ₂		487	2
5-Br-2-Pyridyl	N	2-(4-CF ₃ -Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂ CH ₂		583	2

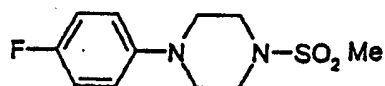
B	X	R ¹	T. t.	M+H	Př. dle příkladu
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-(4-CF ₃ -Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂ CH ₂		537	2
5-kyano-2-pyridyl	N	2-(4-CF ₃ -Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂ CH ₂		528	2
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-(5-Ethyl-Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂ CH ₂		497	2
5-Br-2-Pyridyl	N	2-(5-Ethyl-Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂ CH ₂		541/543	2
5-kyano-2-pyridyl	N	2-(5-Ethyl-Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂ CH ₂		488	2
4-F-Ph	N	PhSO ₂ NHCH ₂ CH ₂		515	1
5-Cl-2-Pyridyl	C	PhCH(Me)CH ₂	64-65		2
4-F-Ph	N	1,5,5-trimethyl-3-hydantoin-CH(Me)CH ₂	85		1
4-F-Ph	N	4-MeO-PhCH(Me)CH ₂		480	1
4-F-Ph	N	3-MeO-PhCH(Me)CH ₂		480	1
4-F-Ph	C	1,5,5-trimethyl-3-hydantoinCH(Me)CH ₂	77-79		1
4-Cl-Ph	N	3-Cl-PhCH(Me)CH ₂		500/502	1
6-Cl-2pyrimidinyl	N	2-pyrazinylCH(Me)CH ₂	79-81	470	1
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-pyridylCH(Me)CH ₂		468	2
5-kyano-2-pyridyl	N	2-pyridylCH(Me)CH ₂		459	2
5-kyano-2-pyridyl	N	2-pyrazinylCH(Me)CH ₂	80	460	2
5-CN-2-Pyridyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ -CH ₂ CH ₂		474,5	1
4-Cl-Fenyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₂		482,45	1
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂ -CH ₂		483,4	1
5-Cl-2-Pyridyl	N	4-Cl-Fenyl		459,3	1
5-F-2-Pyridyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		453,2	2
5-F-2-Pyridyl	N	2-(5-F-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		457,1	2
5-Br-2-Pyridyl	N	2-(5-F-Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂		517/519	2
4-Cl-Fenyl	N	2-(5-F-Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂		472,1	2
5-CN-2-Pyridyl	N	2-(5-F-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		464,18	2
5-CF ₃ -2-Pyridyl	N	2-(5-F-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		507,14	2
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-(5-Br-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		533/535	2
5-F-2-Pyridyl	N	2-(5-Br-Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂		517/519	2
4-F-Fenyl	N	2-(5-Br-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		516/518	2
5-F-2-Pyridyl	N	2-(5-Me-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		453,4	2
4-Cl-fenyl	N	2-(5-Me-Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂		468,4	1
5-Br-2-Pyridyl	N	2-(5-Me-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		513/515	2
5-CF ₃ -2-Pyridyl	N	2-(5-Me-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		503,4	2
5-F-2-Pyridyl	N	2-(4-CF ₃ -Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		507,06	2



B	X	R ¹	T. t.	M+H	Př. dle příkladu
4-Cl-fenyl	N	2-(4-CF ₃ -Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂		521,9	2
5-CF ₃ -2-Pyridyl	N	2-(4-CF ₃ -Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂		556,95	2
5-Br-5-pyridyl	N	2-(4-CF ₃ -Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂		566/568	2
5-Cl-2-Pyridyl	N	2-(5-Cl-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		489/491	2
5-Br-2-Pyridyl	N	2-(5-Cl-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		532/534	2
5-F-2-Pyridyl	N	2-(5-Cl-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		473	2
4-F-Fenyl	N	2-(5-Cl-Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂		472	2
4-Cl-Fenyl	N	2-(5-Cl-Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂		488/490	2
5-Br-2-Pyridyl	N	2-(5-Br-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		576/578/580	2
4-Cl-Fenyl	N	2-(5-Br-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		531/533/535	2
5-CN-2-Pyridyl	N	3-(5-Pyridyl)CH ₂ CH ₂		479/481	2
4-CF ₃ -fenyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		502	2
4-Br-Fenyl	N	2-(5-F-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		518,3	2
3,4-Di-Cl-Fenyl	N	2-(5-F-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		506,34	2
3-Cl-Fenyl	N	2-(5-F-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		472,38	2
4-CF ₃ -Fenyl	N	2-(5-F-Pyrimidinyl)-CH ₂ CH ₂		506,4	2
4-F-Ph	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂	87-89		1
3,4-di-Cl-Ph	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂		489	1
4-Cl-Ph	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂		455	1
5-Me-2-Pyridyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		449	1
5-Me-2-Pyridyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂		435	1
4-F-Ph	N	2-PyrazinylCH ₂ CH ₂ CH ₂		452	1
4-F-Ph	N	(6-Cl-2-pyrazinyl)-CH ₂ CH ₂	91-92		2
4-F-Ph	N	5-F-2-Pyrimidinyl-CH(CH ₃)CH ₂	143-4		2
4-Cl-Ph	N	2-PyrazinylCH(CH ₃)CH ₂		468	1
4-F-Ph	C	5-F-2-Pyrimidinyl-CH(CH ₃)CH ₂		469	1

Výchozí piperazin a piperidin sulfonamidy potřebné pro syntézu sloučenin jsou komerčně dostupné nebo se připraví tak, jak je uvedeno dále:

1-(4-fluorfenyl)-4-(methansulfonyl)piperazin



K roztoku 35 g (194 mmol) 1-(4-fluorfenyl)piperazinu a 17,5 ml pyridinu v 200 ml suchého dichlormethanu se při 0 °C přikape 20 ml (258 mmol) methansulfonylchloridu. Směs se míchá 3 hodiny při teplotě místnosti. Směs se promyje vodou a extrahuje se dvakrát 100 ml dichlormethanu. Organické vrstvy se suší nad síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu. Zbytek se trituruje a promyje methanolem a získá se 39,35 g 1-(4-fluorfenyl)-4-(methansulfonyl)piperazinu ve formě bílých krystalů.

^1H NMR (CDCl_3): δ 7,00 (m, 2H), 6,90 (m, 2H), 3,40 (m, 4H), 3,20 (m, 4H), 2,83 (s, 3H).

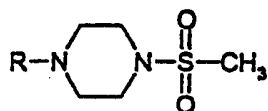
Aryl/heteroarylpiperaziny a piperidiny použité jako výchozí látky jsou komerčně dostupné nebo jsou popsány ve vědecké literatuře.

1-(6-chlorpyrimidin-4-yl)-4-mesylypiperazin

Směs 39,4 g 4,6-dichlorpyrimidinu, 55,7 g hydrochloridu 1-mesylypiperazinu a 16 ml triethylaminu v 500 ml ethanolu se míchá 4 hodiny za varu pod zpětným chladičem. Směs se potom míchá 12 hodin při teplotě místnosti. Vyloučená pevná látka se odfiltruje, suspenze se promyje dvakrát 80 ml a 160 ml ethanolu a potom 150 ml diethyletheru a suší se za získání 71,9 g 1-(6-chlorpyrimidin-4-yl)-4-mesylypiperazinu ve formě krémové pevné látky o teplotě tání 200 až 202 °C.

^1NMR (d_6 -DMSO): δ 2,88 (s, 3H), 3,18 (m, 4H), 3,80 (m, 4H), 7,04 (s, 1H), 8,38 (m, 1H); m/z 277,3 (M+1).

Za použití analogického postupu se hydrochlorid 1-mesylypiperazinu, CAS(161357-89-7), reaguje s vhodným chlorpyridinem za vzniku následujících sloučenin:



R	m/z (M+1)
5-Cl-2-pyridyl	276
5-CF ₃ -2-pyridyl	310
5-CN-2-pyridyl	267
5-Br-2-pyridyl	320/322

2-(4-piperidinyloxy)-5-chlorpyridin

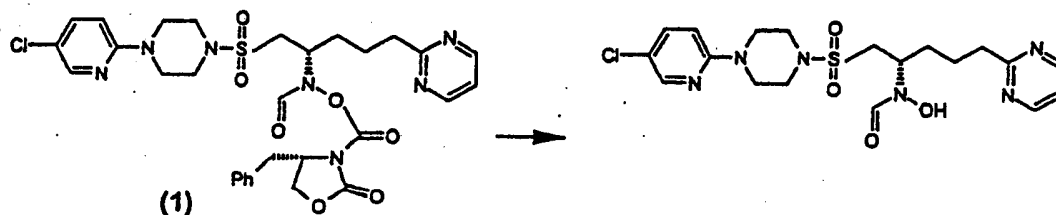
i) 2,88 g (66 mmol, 55% disperze v minerálním oleji) hydridu sodného se míchá v 200 ml suchého dimethylformamidu v atmosféře argonu. K suspenzi hydridu sodného se během 30 minut přikape směs 8,87 g (60 mmol) 2,5-dichlorpyridinu a 6,67 g (66 mmol) 4-hydroxypiperidinu ve 200 ml suchoho DME. Po dokončení přidávání se reakční směs zahřívá 48 hodin na 82 °C v atmosféře argonu. Reakční směs se pomalu rozloží vodou a potom se většina tetrahydrofuranu odpaří ve vakuu. Vodná směs se třikrát extrahuje dichlormethanem. Organické vrstvy se suší nad síranem sodným a odpaří se ve vakuu a získá se 12,7 g (kvan- titativní výtěžek) 2-(4-piperidinyloxy)-5-chlorpyridinu ve formě žlutého oleje.

¹H NMR (DMSO): δ 8,17 (d, 1H), 7,76 (dd, 1H), 6,81 (d, 1H), 4,96 (m, 1H), 2,93 (m, 2H), 2,53 (m, 2H), 1,91 (m, 2H), 1,46 (m, 2H); MS (ES⁺): 213,3 (MH⁺), 225,3 (MNa⁺).

Analogickým způsobem se připraví 2-(4-piperidinyloxy)-5-brom- pyridin; MH⁺ 257,3.

Příklad 4 - rozštěpení

N-[(1S)-1-((4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino)sulfonyl)- methyl)-4-(pyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid

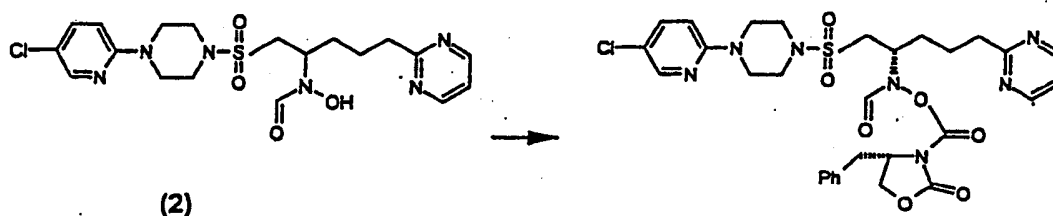


K 3,8 g (5,66 mmol) karbamátu 1 rozpuštěnému v 76 ml tetrahydrofuranu se přidá 76 ml methanolu, potom 38 ml vody a k tomuto roztoku se přidá 2,37 g (56,6 mmol) hydroxidu lithného. Po 2 hodinách při teplotě místnosti se rozpouštědlo odpaří za sníženého tlaku a zbytek se rozpustí v 250 ml vody, promyje se 200 ml ethylacetátu a dvakrát 250 ml diethyletheru. Potom se přidává nasycený roztok chloridu amonného, dokud se nedosáhne pH vodné vrstvy asi 8 a extrahuje se třikrát 250 ml dichlormethanu. Spojené dichlormethanové extrakty se suší nad síranem hořečnatým a odpaří se za získání 2,2 g (výtěžek 83 %) produktu ve formě bílého prášku. Podle chirální HPLC za použití kolony Chiralpak AS se produkt izoluje při čistotě 96 % ee (předpokládá se, že má stereochemii S). Teplota tání (z ethanolu) je 124,5 až 126,5 °C.

$[\alpha]_D^{25} = -17,2^\circ$ (methanol); ^1NMR CDCl_3 δ 9,9 (šs, 1H)*; 8,7 (m, 2H); 8,5 (s, 1H)*; 8,1 (šs, 1H); 8,0 (s, 1H)*; 7,5 (dd, 1H); 7,2 (m, 1H); 6,6 (d, 1H); 4,9 (m, 1H)*; 4,2 (m, 1H)*; 3,7-3,5 (m, 4H); 3,5 (m, 1H)*; 3,4-3,2 (m, 4H); 3,3 (m, 1H)*; 3,1-2,9 (m, 3H); 2,0-1,6 (m, 4H). MS pro $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{ClN}_6\text{O}_4\text{S}$ (M+H) vypočteno 469, nalezeno 469.

* signály rotamerů

Krok A



K 18,76 g (40 mmol) reverzního hydroxamátu rozpuštěného v 300 ml dichlormethanu a ochlazeného na 0 °C se přidá 10,4 g (75 mmol) triethylaminu a potom 10,55 g (44 mmol) (4S)-4-benzyl-2-oxazolidinon-3-karbonylchloridu [CAS číslo 139149-49-8]. Po 3

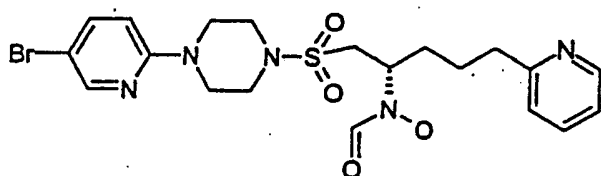
hodinách míchání při teplotě -3 až 0 °C se směs promyje 250 ml vody, suší se nad síranem hořečnatým a odpaří se za získání 27,1 g béžové pěny. Diastereoizomery se oddělí za použití preparativní HPLC za eluce směsí ethylacetát/5 % ethanolu. Polárnější diastereoizomer se izoluje ve výtěžku 35 %. MS pro $C_{30}H_{34}ClN_7O_7S$ (M+H) vypočteno 672, nalezeno 672.

Sloučenina 2 se připraví za použití způsobů popsaných v příkladu 2: (M+H 469), teplota tání 131 až 134 °C; 1NMR (DMSO) 9,8 (1H, š), 8,7 (2H, m), 8,3 a 7,9 (1H, s), 8,1 (2H, s), 7,6 (1H, m), 6,9 (1H, m), 4,1 (1H, šm), 3,6 (4H, m), 3,2 (6H, m), 2,8 (2H, m); 1,8 (4H, m)

Příklad 5

Analogickým způsobem, jako je popsáno v příkladu 4 se připraví následující sloučeniny:

N-((1S)-1-([4-(5-brompyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-4-(pyridin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid



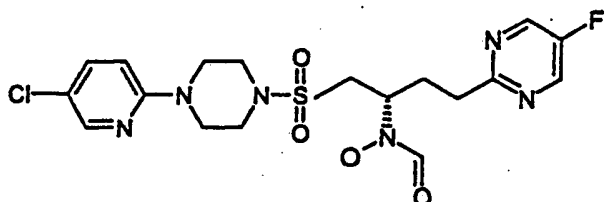
1NMR $CDCl_3$ δ 11,9 (šs, 1H)*; 8,5 (s, 1H)*; 8,5-8,4 (m, 1H); 8,2 (m, 1H); 8,1 (s, 1H)*; 7,8-7,7 (m, 1H); 7,6 (m, 1H); 7,3-7,2 (m, 2H); 6,6 (m, 1H); 5,0-4,9 (m, 1H)*; 4,3-4,2 (m, 1H)*; 3,7-3,6 (m, 4H); 3,6 (m, 1H)*; 3,4-3,3 (m, 4H); 3,3 (m, 1H)*; 3,1 (dd, 1H)*, 2,9 (m, 1H)*, 2,9-2,8 (m, 2H); 2,1-1,6 (m, 4H). MS pro $C_{20}H_{26}BrN_5O_4S$ (M+H) vypočteno 514, nalezeno 514.

* signály rotamerů

$[\alpha]^{25}_D = -14$ (c=2,3, MeOH)

Racemická výchozí látka se připraví za použití způsobu popsaného v příkladu 2, M+H = 512/514.

N-[(1S)-1-([4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)-methyl]-3-(5-fluorpyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid



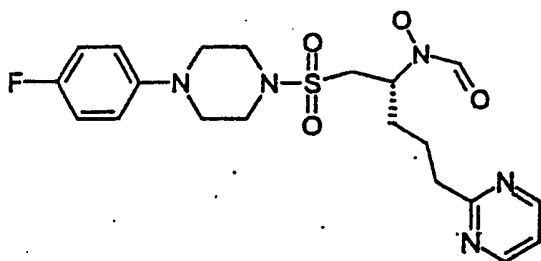
$^1\text{H NMR}$ (DMSO, 373 K): 9,44 (š š, 1H), 8,70 (s, 2 H), 8,10 (d, 1H, $J= 2,6$ Hz), 8,05 (š s, 1H), 7,57 (dd, 1H, $J= 9,1, 2,6$ Hz), 6,86 (d, 1H, $J= 9,1$ Hz), 4,40 (š s, 1H), 3,59 (dd, 4 H, $J=, 5,3, 5,0$ Hz), 3,47 (dd, 1H, $J= 14,6, 7,4$ Hz), 3,28 (dd, 4 H, $J= 5,3, 5,0$ Hz), 3,24 (dd, 1H, $J= 14,6, 4,3$ Hz), 2,93 (m, 2H), 2,16 (m, 2H).

MS (ESI): 473 (MH^+)

$[\alpha]^{25}_{\text{D}} = -11,03$ (MeOH, $c = 1,242$).

Racemická výchozí látka se připraví podle postupu popsaného v příkladu 2.

N-[(1S)-1-([4-(4-fluorfenyl)piperazino]sulfonyl)methyl)-4-(pyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid



M+H 452,44; ^1NMR CDCl_3 δ 9,9 (š s, 1H)*; 8,7 (m, 2H); 8,5 (s, 1H)*; 8,05 (s, 1H)*; 7,2 (m, 1H); 7,0-6,9 (m, 4H); 4,9 (m,

1H)*; 4,2 (m, 1H)*; 3,5-3,4 (m, 4H); 3,5 (m, 1H)*; 3,23,1(m, 4H); 3,3 (m, 1H)*; 3,1-2,9 (m, 3H); 2,0-1,6 (m, 4H).

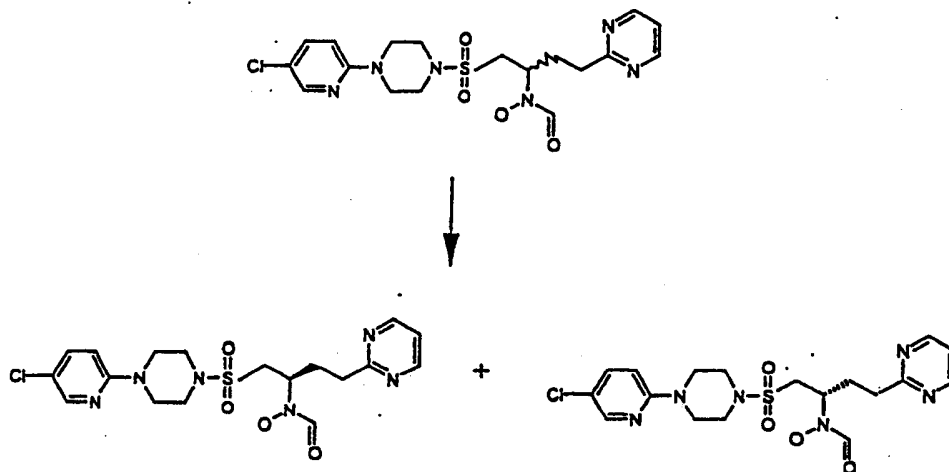
* signály rotamerů

Racemická výchozí látka se připraví podle postupu popsaného v příkladu 3.

¹NMR (DMSO) 10,0 (1H, š s), 8,6 (2H, m), 8,2 (1H, d); 7,2 (1H, m), 6,9 (4H, m), 4,9 a 4,2 (1H, š), 3,4 (6H, m), 3,0 (6H, m), 1,9 (4H, m).

Příklad 6 - chromatografické rozštěpení

N-[(1S)-1-([4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl]-3-(pyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid a N-[(1R)-1-([4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl]-3-(pyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid



N-[1-([4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl]-3-(pyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyfoimamid připravený v racemické formě se rozdělí na jednotlivé enantiomerní formy prostřednictvím chromatografického dělení na koloně Chiralpak AD No. AD00CJ-HK002 za eluce ethanolem. Biologicky aktivní je sloučenina eluovaná z kolony jako druhá - předpokládá se, že se jedná o enantiomer se stereochemií S.

První eluovaný enantiomer MH+ 455.

Druhý eluovaný enantiomer MH+ 455.

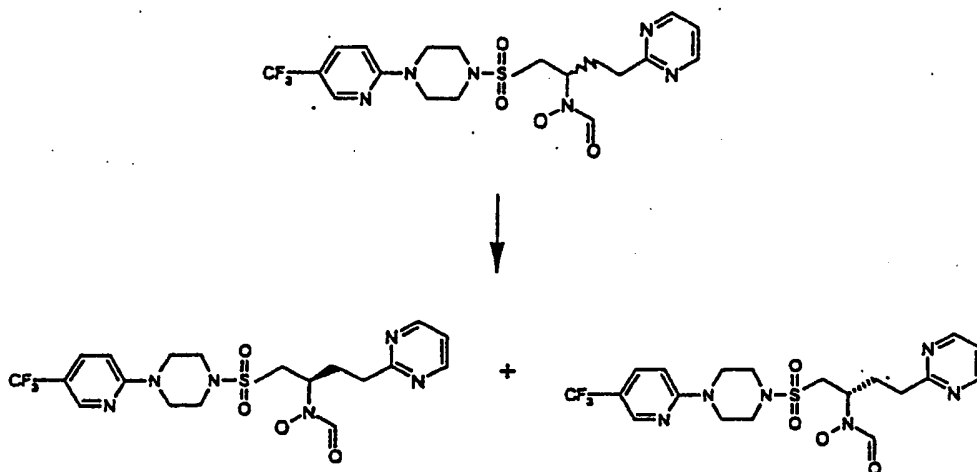
Racemická výchozí látka se připraví za použití způsobu popsaného v příkladu 2.

MH+ = 455, ¹NMR (DMSO) 9,9, 9,6 (1H š s), 8,6 (2H, m), 8,3 a 7,9 (1H, s), 8,1 (1H, dd), 7,3 (1H, m), 6,9 (1H, d), 4,7 a 4,2 (1H, široký m), 3,6 (4H, m), 3,4-3,2 (6H, m), 2,8 (2H, m), 2,1 (2H, m).

Příklad 7 - další příklady chromatografického rozštěpení

Za podmínek popsaných v příkladu 6 se rozštěpí následující sloučeniny:

N-[(1S)-1-([4-(5-trifluormethylpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-3-(pyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid a N-[(1R)-1-([4-(5-trifluormethylpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-3-(pyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid

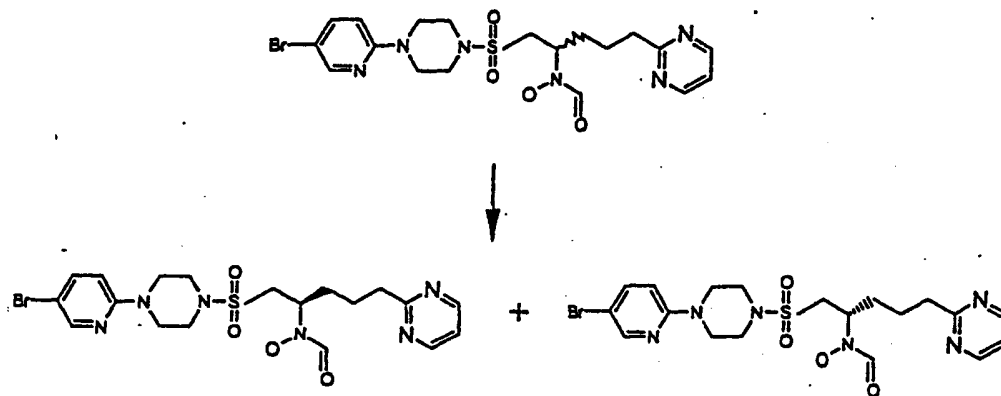


První eluovaný enantiomer M+H 489,5.

Druhý eluovaný enantiomer M+H 489,5.

Racemická výchozí látka se připraví podle postupu popsaného v příkladu 3.

N-[(1S)-1-({[4-(5-brompyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-4-(pyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid a N-[(1R)-1-({[4-(5-brompyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-4-(pyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid



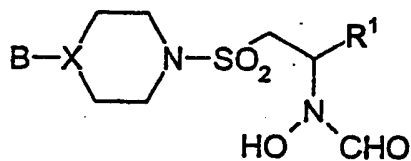
První eluovaný enantiomer M+H 513/515.

Druhý eluovaný enantiomer M+H 513/515.

Racemická výchozí látka se připraví podle postupu popsaného v příkladu 2: M+H 513/515,

Příklad 8

Připraví se následující sloučeniny



B	X	R ¹	T. t.	M+H	Př. dle příkladu
(5-Cl-2-pyridyl)-oxy	C	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂ (S enantiomer)		484	4
5-CF ₃ -2-Pyridyl	N	2-PyrimidinylCH ₂ CH ₂ CH ₂ (S enantiomer)	141-142	503	4
4-F-Fenyl	N	2-(5-F-Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂ (S enantiomer)		456,24	6**
4-F-Fenyl	N	2-(5-F-Pyrimidinyl)CH ₂ CH ₂		456,2	2
4-Br-Ph	N	2-PyrazinylCH(CH ₃)CH ₂ směs diastereomerů 3:1 (A:B)		512	1
4-Cl-Ph	C	2-PyrazinylCH(CH ₃)CH ₂ Diastereomer A		467	1

B	X	R ¹	T. t.	M+H	Př. dle příkladu
4-Cl-Ph	C	2-PyrazinylCH(CH ₃)CH ₂ směs diastereomerů 1:2 (A:B)		467	1
4-Br-Ph	C	2-PyrazinylCH(CH ₃)CH ₂ směs diastereomerů 3:1 (A:B)		511	1
5-Cl-2-Pyridyl	N	5-F-2-PyrimidinylCH(CH ₃)- CH ₂ směs diastereomerů 1:2 (A:B)		487	1
4-Cl-Ph	N	5-F-2-PyrimidinylCH- (CH ₃)CH ₂ Diastereomer A	157-9		1
4-Cl-Ph	N	5-F-2- PyrimidinylCH(CH ₃)CH ₂ Diastereomer B	164-7		1
4-Br-Ph	N	5-F-2-Pyrimidinyl CH- (CH ₃)CH ₂ Diastereomer A	167-9		1
4-Br-Ph	N	5-F-2-PyrimidinylCH- (CH ₃)CH ₂ Diastereomer B	183-5		1
4-Cl-Ph	C	5-F-2-PyrimidinylCH- (CH ₃)CH ₂ Diastereomer A	195-8		1
4-Cl-Ph	C	5-F-2-PyrimidinylCH- (CH ₃)CH ₂ Diastereomer B	155-8		1
3,4-di-Cl-Ph	N	5-F-2-PyrimidinylCH- (CH ₃)CH ₂ Diastereomer A	172-3		1
3,4-di-Cl-Ph	N	5-F-2-PyrimidinylCH- (CH ₃)CH ₂ Diastereomer B	172-3		1
5-CN-2-Pyridyl	N	5-F-2-PyrimidinylCH- (CH ₃)CH ₂ Diastereomer A		478	1
4-F-Ph	N	(S)-5-F-2-Pyrimidinyl- CH(CH ₃)CH ₂ (S enantiomer)		470	7
4-F-Ph	N	(R,S)-PyrazinylCH(CH ₃)CH ₂ (S enantiomer)		452	4

V tabulce uvedené výše:

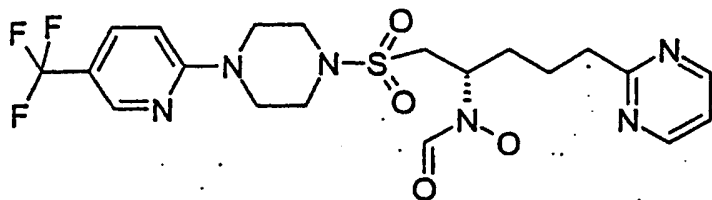
** znamená sloučeninu (S enantiomer) připravenou způsobem popsaným v příkladu 6 za použití kolony Chiralpak AD (250mm x 4,6mm) č. AD00CE-JJ122 za eluce směsí methanol/acetonitril 15/85;

Diastereomery A a B odpovídají pořadí eluce ze silikagelové kolony za eluce směsí 3 až 5 % ethanolu v dichlormethanu (diastereomer A je první eluovanou frakcí, diastereomer B druhou).

Příklad 9

V tomto příkladu uvádíme NMR údaje pro sloučeniny uvedené v příkladu 8:

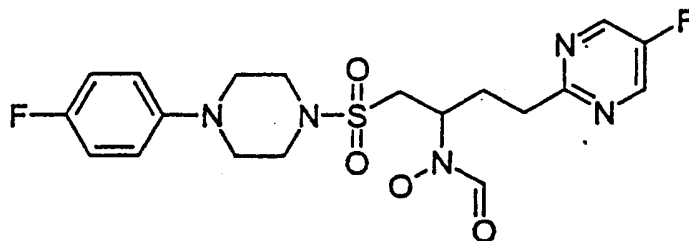
N-[(1S)-1-({[4-(5-trifluormethylpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-4-(pyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid



^1NMR CDCl_3 δ 10,1 (š s, 1H)*; 8,7 (m, 2H); 8,5 (s, 1H)*; 8,4 (š s, 1H); 8,1 (s, 1H)*; 7,7 (dd, 1H); 7,2 (m, 1H); 6,7 (d, 1H); 4,9 (m, 1H)*; 4,2 (m, 1H)*; 3,9-3,7 (m, 4H); 3,6 (m, 1H)*; 3,4-3,2 (m, 4H); 3,3 (m, 1H)*; 3,1-2,9 (m, 3H); 2,0-1,6 (m, 4H).

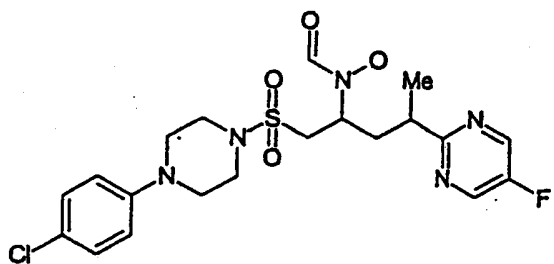
* signály rotamerů

N-({[4-fluorfenylpiperazino]sulfonyl)methyl)-3-[(5-fluorpyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid



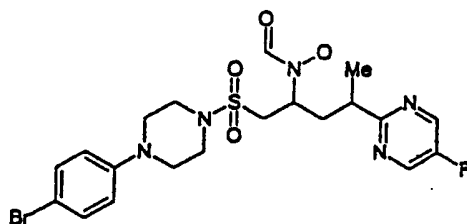
^1H NMR (DMSO, 373K): δ 9,46 (š s, 1H), 8,73 (s, 2 H), 7,08-6,96 (m, 4H), 4,42 (š s, 1H), 3,50 (dd, $J = 14,3, 7,5$ Hz, 1H), 3,35 (m, 4H), 3,28 (dd, $J = 14,8, 4,4$ Hz, 1H), 3,18 (m, 4H), 2,97 (m, 2H), 2,21 (m, 2H).

N-[(1R nebo 1S)-({[4-chlorfenylpiperazino]sulfonyl)methyl)-3-[(3R nebo 3S)-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid (jeden diastereomer A)



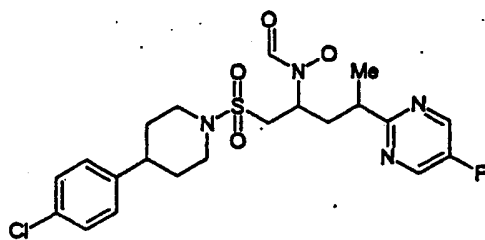
^1H NMR (CDCl_3) (2 rotamery přibližně ve stejných poměrech):
 8,72 (s, 0,5H), 8,57 (d, 2H), 8,25 (s, 0,5H), 7,89 (s, 0,5H),
 7,23 (dd, 2H), 6,83 (dd, 2H), 4,94 (sext, 0,5H), 4,30 (m,
 0,5H), 3,57 (dd, 0,5H), 3,44 (m, 2H), 3,37 (m, 2,5H), 3,16 (m,
 5,5H), 3,02 (dd, 0,5H), 2,52 (ddd, 0,5H), 2,35 (ddd, 0,5H),
 2,02 (dt, 0,5H), 1,89 (ddd, 0,5H), 1,40 (dd, 3H);

N-[(1R nebo 1S)-([4-bromfenyl]piperazino)sulfonyl)methyl]-3-
 [(3R nebo 3S)-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid
 (jeden diastereomer A)



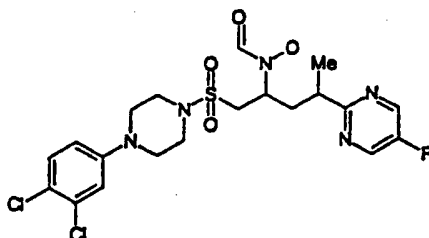
^1H NMR (CDCl_3) (2 rotamery přibližně ve stejných poměrech):
 8,72 (s, 0,5H), 8,57 (d, 2H), 8,25 (s, 0,5H), 7,89 (s, 0,5H),
 7,38 (dd, 2H), 6,80 (dd, 2H), 4,94 (sext, 0,5H), 4,30 (m,
 0,5H), 3,57 (dd, 0,5H), 3,44 (m, 2H), 3,37 (m, 2,5H), 3,16 (m,
 5,5H), 3,02 (dd, 0,5H), 2,52 (ddd, 0,5H), 2,35 (ddd, 0,5H),
 2,02 (dt, 0,5H), 1,89 (dt, 0,5H), 1,40 (dd, 3H);

N-[(1R nebo 1S)-([4-chlorfenyl]piperidino)sulfonyl)methyl]-3-
 [(3R nebo 3S)-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid
 (jeden diastereomer A)



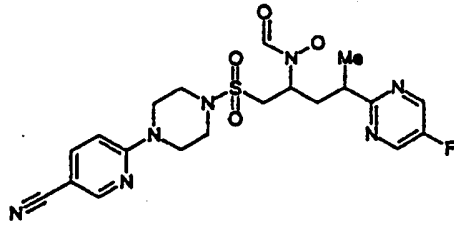
^1H NMR (CDCl_3) (2 rotamery přibližně ve stejných poměrech):
 8,69 (s, 0,5H), 8,57 (d, 2H), 8,25 (s, 0,5H), 7,89 (s, 0,5H),
 7,27 (nezřetelný signál), 7,13 (dd, 2H), 4,91 (sext, 0,5H),
 4,30 (m, 0,5H), 3,87 (m, 2H), 3,57 (dd, 0,5H), 3,35 (dd,
 0,5H), 3,18 (m, 1,5H), 3,00 (dd, 0,5H), 2,85 (m, 2H), 2,55 (m,
 1,5H), 2,35 (ddd, 0,5H), 2,06 (dt, 0,5H), 1,88 (m, 2,5H), 1,7
 (nezřetelný signál), 1,40 (dd, 3H);

N-[(1R nebo 1S)-([3,4-dichlorofenyl]piperazino)sulfonyl)methyl)-3-[(3R nebo 3S)-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid (jeden diastereomer A)



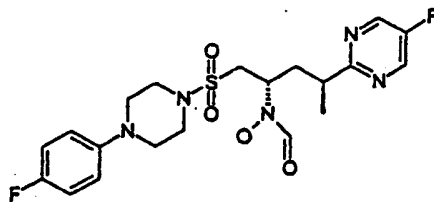
^1H NMR (CDCl_3) (2 rotamery přibližně ve stejných poměrech):
 8,62 (s, 0,5H), 8,55 (d, 2H), 8,22 (s, 0,5H), 7,86 (s, 0,5H),
 7,28 (m, 1H), 6,95 (m, 1H), 6,73 (m, 1H), 4,93 (sext, 0,5H),
 4,30 (m, 0,5H), 3,57 (dd, 0,5H), 3,44 (m, 2H), 3,37 (m, 2,5H),
 3,16 (m, 5,5H), 3,02 (dd, 0,5H), 2,52 (ddd, 0,5H), 2,37 (ddd,
 0,5H), 2,04 (dt, 0,5H), 1,89 (dt, 0,5H), 1,40 (dd, 3H);

N-[(1R nebo 1S)-([4-(5-kyanopyridin-2-yl)]piperazino)sulfonyl)methyl)-3-[(3R nebo 3S)-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid (jeden diastereomer A)



^1H NMR (CDCl_3) (2 rotamery přibližně ve stejných poměrech):
 8,72 (s, 0,5H), 8,55 (s, 2H), 8,41 (s, 1H), 8,22 (s, 0,5H),
 7,86 (s, 0,5H), 7,65 (m, 1H), 6,61 (dd, 1H), 4,92 (m, 0,5H),
 4,30 (m, 0,5H), 3,78 (m, 4H), 3,57 (dd, 0,5H), 3,38 (m, 2H),
 3,30 (rn, 2,5H), 3,16 (m, 1,5H), 3,02 (dd, 0,5H), 2,52 (m,
 0,5H), 2,37 (m, 0,5H), 2,04 (dt, 0,5H), 1,84 (dt, 0,5H), 1,40
 (dd, 3H);

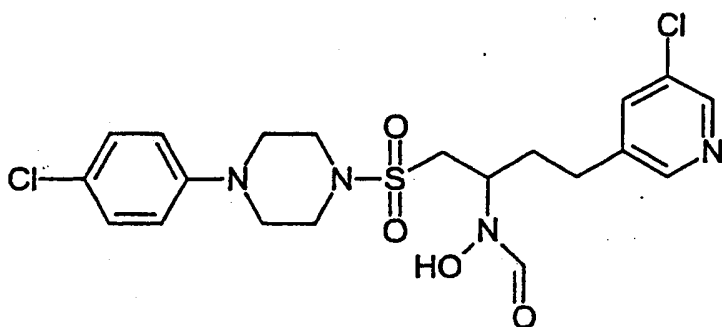
N-[(1S)-([4-(4-fluorfenyl)piperazino]sulfonyl)methyl)-3-[(3S)-
 (5-fluorpyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid



^1H NMR (DMSO-d_6): 9,9, 9,53 (2s, 1H), 8,78 (s, 2H), 7,98 (d,
 1H), 7,12-6,91 (m, 4H), 4,8, 4,17 (2s, 1H), 3,13 (m, 4H), 3,0
 (m, 1H), 1,86 (m, 1H), 1,22 (m, 3H).

Příklad 10

1-([4-(4-chlorfenyl)piperazin-1-yl]sulfonyl)methyl)-3-(5-
 chlorpyridin-3-yl)propyl(hydroxy)formamid



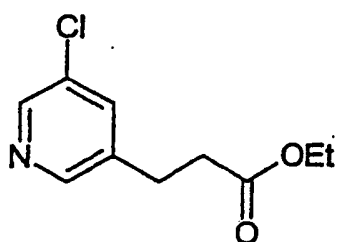
K 400 μl (10,8 mmol) kyseliny mravenčí se při 0 °C přidá 102 μl (1,1 mmol) anhydridu kyseliny octové a směs se potom míchá 15 minut při teplotě místnosti. Směs se potom znovu ochladí na 0 °C a pomocí stříkačky se přikape roztok 100 mg (0,22 mmol) 1-(4-chlorfenyl)-4-([4-(5-chlorpyridin-3-yl)-2-(hydroxyamino)-butyl]sulfonyl)piperazinu v tetrahydrofuranu. Po 1,5 hodině míchání při teplotě místnosti se těkavé podíly odpaří ve vakuu a zbytek se azeotropicky destiluje s 2 ml toluenu. Zbytek se rozpustí v 5 ml toluenu a míchá se 1 hodinu při 40 °C. Po ochlazení na teplotu místnosti se rozpouštědlo odpaří a zbytek se rozpustí v 0,5 ml methanolu. Přidá se 5 ml diethyletheru a zakalená suspenze se míchá 1 hodinu při teplotě místnosti. Pevná látka, která se vysráží, se odfiltruje, promyje se diethyletherem a suší se ve vakuu a získá se 48 mg (0,099 mmol) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bělavé, pevné látky.

^1H NMR (DMSO, 373K): 9,55 (š s, 1H), 8,43 (d, 1H), 8,41 (d, 1H), 8,17 (š s, 1H), 7,76 (dd, 1H), 7,25 (m, 2H), 6,96 (m, 2H), 4,35 (š s, 1H), 3,49 (dd, 1H), 3,34 (m, 4H), 3,25 (m, 5H), 2,67 (m, 2H), 2,02 (m, 2H).

MS (ESI): 487,06, 489,04, 490,08 (MH^+ 2 x Cl)

Výchozí látka se připraví následujícím způsobem:

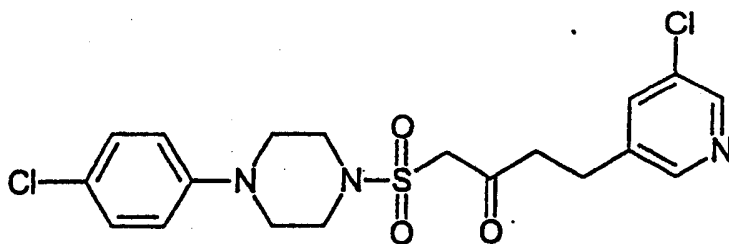
(i) ethyl-3-(5-chlorpyridin-3-yl)propanoát



K míchajícímu se roztoku 338 mg (1,6 mmol) (2E)-3-(5-chloropyridin-3-yl)prop-2-enoátu [CAS číslo 163083-45-2] v 10 ml suchého ethanolu se při 0 °C v atmosféře argonu přidá 67 mg (1,75 mmol) pevného borohydridu sodného. Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a přidá se dalších 67 mg (1,75 mmol) pevného borohydridu sodného. Po dalších 18 hodinách míchání se přidá 5 ml vodného roztoku chloridu sodného. Těkavé podíly se odpaří ve vakuu a zbytek se extrahuje mezi 10 ml vody a 10 ml ethylacetátu. Vrstvy se oddělí a vodná fáze se extrahuje třikrát 10 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty se potom suší nad síranem hořečnatým, filtrují se a odpaří se ve vakuu. Zbytek se čistí pomocí flash chromatografie na silikagelu za eluce směsí 20 % až 100 % ethylacetátu v hexanu a získá se 132 mg (0,62 mmol) sloučeniny uvedené v názvu a 70 mg nasyceného alkoholu.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): 8,43 (m, 1H), 8,34 (m, 1H), 7,55 (m, 1H), 4,16 (q, 2H), 2,96 (dd, 2H), 2,63 (dd, 2H).

(ii) 1-([4-(4-chlorfenyl)piperazin-1-yl]sulfonyl)-4-(5-chlorpyridin-3-yl)butan-2-on



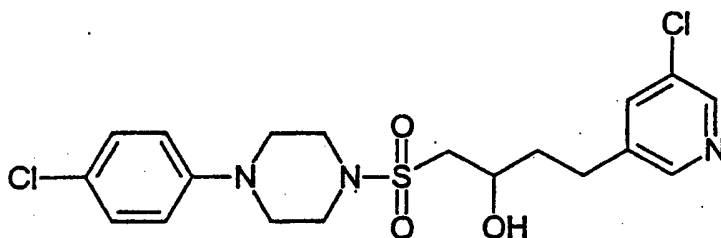
K míchajícímu se roztoku 235 mg (0,85 mmol) 1-(4-chlorfenyl)-4-(methylsulfonyl)piperazinu v 7,5 ml suchého tetrahydrofuranu

se při $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ během 4 minut přikape 1,71 ml 1,0M (1,71 mmol) roztoku LiHMDS. Roztok se míchá při této teplotě 40 minut. Potom se během 5 minut přidá pomocí kanyly roztok 201 mg (0,94 mmol) ethyl-3-(5-chlorpyridin-3-yl)propanoátu v 1 ml tetrahydrofuranu. Reakční směs se míchá dalších 30 minut při teplotě $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a potom se rozloží přidáním 5 ml nasyceného vodného roztoku chloridu amonného. Těkavé podíly se odpaří ve vakuu a zbytek se extrahuje třikrát 5 ml dichlormethanu. Spojené organické extrakty se promyjí 10 ml vody a 10 ml solanky a potom se suší nad síranem hořečnatým, filtrují se a odpaří se ve vakuu. Po čištění pomocí flash chromatografie na silikageli za eluce směsí 50 % ethylacetátu v hexanu se získá 228 mg (0,52 mmol) sloučeniny uvedené v názvu a 74 mg (0,35 mmol) ethyl-3-(5-chlorpyridin-3-yl)propanoátu.

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): 8,46 (m, 1H), 8,38 (m, 1H), 7,58 (m, 1H), 7,21 (m, 2H), 6,83 (m, 2H), 3,96 (s, 2H), 3,37 (m, 4H), 3,17 (m, 6H), 2,95 (dd, 2H),

MS (ESI): 442,07, 444,06, 445,1 (MH^+ 2 x Cl).

(iii) 1-([4-(4-chlorfenyl)piperazin-1-yl]sulfonyl)-4-(5-chlorpyridin-3-yl)butan-2-ol

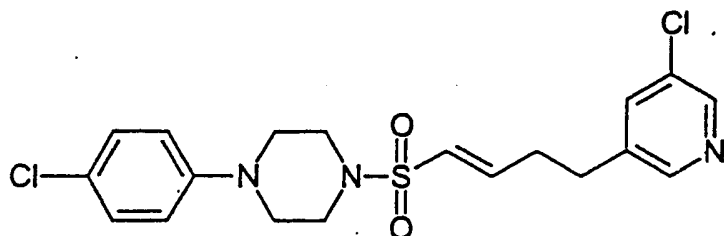


K míchajícímu se roztoku 228 mg (0,51 mmol) 1-([4-(4-chlorfenyl)piperazin-1-yl]sulfonyl)-4-(5-chlorpyridin-3-yl)butan-2-onu v 5 ml směsi rozpouštědel dichlormethan/methanol 1:1 se najednou, při teplotě místnosti, přidá pevný borohydrid sodný. Reakční směs se míchá 40 minut, potom se rozloží 2 ml 1M roztoku kyseliny chlorovodíkové. Vrstvy se potom oddělí a vod-

ná fáze se extrahuje třikrát 5 ml dichlormethanu. Spojené organické extrakty se suší nad síranem hořečnatým, filtrují se a odpaří se ve vakuu. Surový produkt se filtruje přes silikagel za eluce směsí 50 % ethylacetátu v exanu a získá se 111 mg (0,25 mmol) sloučeniny uvedené v názvu.

^1H NMR (CDCl_3): 8,47 (m, 1H), 8,40 (m, 1H), 7,59 (m, 1H), 7,21 (m, 2H), 6,86 (m, 2H), 4,21 (m, 1H), 3,45 (m, 4H), 3,24 (m, 4H), 3,11 (m, 2H), 2,88 (m, 2H), 1,89 (m, 2H)

(iv) 1-{4-chlorfenyl}-4-{[(1E)-4-(5-chlorpyridin-3-yl)but-1-enyl]sulfonyl}piperazin

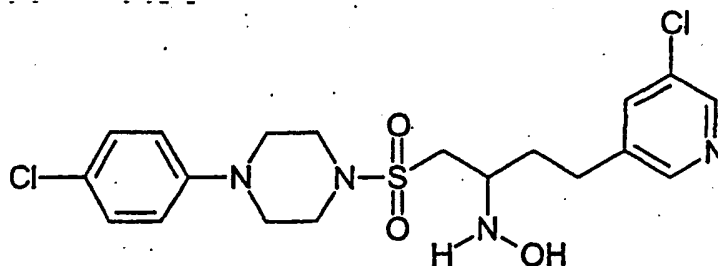


K míchajícímu se roztoku 111 mg (0,25 mmol) 1-[[4-(4-chlorfenyl)piperazin-1-yl]sulfonyl]-4-(5-chlorpyridin-3-yl)butan-2-olu v 2,5 ml suchého dichlormethanu se při teplotě místnosti, v atmosféře argonu, přidají 2 mg (0,02 mmol) hydrochloridu trimethylaminu, 52 μl (0,25 mmol) triethylaminu, potom 21 μl (0,25 mmol) methansulfonylchloridu. Reakční směs se míchá 30 minut při teplotě místnosti, potom se rozloží přidáním 5 ml nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se extrahuje třikrát 6 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty se potom suší nad síranem hořečnatým, filtrují se a odpaří se ve vakuu. Zbytek se potom rozpustí ve 2,5 ml dichlormethanu a reaguje se s 100 μl (1,36 mmol) triethylaminu. Po 30 minutách se reakční směs rozloží přidáním 5 ml nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného. Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se extrahuje třikrát 6 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty se potom suší

nad síranem hořečnatým, filtrují se a odpaří se ve vakuu. Surová látka se použije v dalším kroku.

MS (ESI): 446,06, 428,06, 430,07 (MH^+ 2 x Cl)

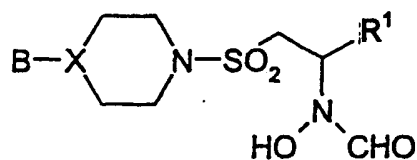
(v) 1-(4-chlorfenyl)-4-{{[4-(5-chlorpyridin-3-yl)-2(hydroxyamino)butyl]sulfonyl}piperazin



K míchajícímu se roztoku 1-(4-chlorfenyl)-4-{{[(1E)-4-(5-chlorpyridin-3-yl)but-1-enyl]sulfonyl}piperazinu (surová látka z předchozího kroku) v 10 ml tetrahydrofuranu se při teplotě místnosti přidají 2 ml 50% vodného roztoku hydroxylaminu. Reakční směs se míchá 3 hodiny při teplotě místnosti a potom se rozloží přidáním 5 ml nasyceného vodného roztoku chloridu amonného. Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se extrahuje třikrát 10 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty se suší nad síranem hořečnatým, filtrují se a odpaří se ve vakuu. Zbytek se potom čistí pomocí flash chromatografie na silikagelu za eluce 100% ethylacetátem a získá se 100 mg (0,22 mmol) sloučeniny uvedené v názvu.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Sloučenina obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester

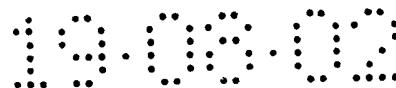


(I)

kde B je fenylová skupina monosubstituovaná v poloze 3- nebo 4- atomem halogenu nebo trifluormethylovou skupinou, nebo disubstituovaná v poloze 3- a 4- atomy halogenu, které mohou být stejné nebo různé; nebo B je 2-pyridylová skupina nebo 2-pyridyloxyskupina monosubstituovaná v poloze 4-, 5- nebo 6- atomem halogenu, trifluormethylovou skupinou, kyanoskupinou nebo alkylovou skupinou obsahující 1 až 4 atomy uhlíku; nebo B je 4-pyrimidinylová skupina popřípadě substituovaná v poloze 6- atomem halogenu nebo alkylovou skupinou obsahující 1 až 4 atomy uhlíku;

X je atom uhlíku nebo atom dusíku;

R¹ je trimethyl-1-hydantoinalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku nebo trimethyl-3-hydantoinalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; nebo R¹ je fenylová skupina nebo alkylfenylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku monosubstituovaná v poloze 3- nebo 4- atomem halogenu, trifluormethylovou skupinou, thioskupinou nebo alkylovou skupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku nebo alkoxyskupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku; nebo R¹ je fenyl-SO₂NHalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; nebo R¹ je 2-pyridylová skupina nebo 2-pyridylalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; nebo R¹ je 3-pyridylová skupina



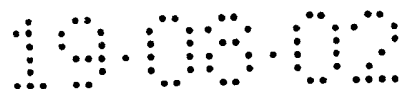
nebo 3-pyridylalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; nebo R^1 je skupina 2-pyrimidin- SCH_2CH_2 ; nebo R^1 je 2- nebo 4-pyrimidinylalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku popřípadě monosubstituovaná atomem halogenu, trifluormethylovou skupinou, alkylovou skupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku, alkyloxyskupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku, 2-pyrazinylovou skupinou popřípadě substituovanou atomem halogenu nebo 2-pyrazinylalkylovou skupinou obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku popřípadě substituovanou atomem halogenu.

2. Sloučenina podle nároku 1 nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester, kde:

kde B je fenylová skupina monosubstituovaná v poloze 3- nebo 4- atomem halogenu nebo trifluormethylovou skupinou, nebo disubstituovaná v poloze 3- a 4- atomy halogenu, které mohou být stejné nebo různé; nebo B je 2-pyridylová skupina nebo 2-pyridyloxyskupina monosubstituovaná v poloze 5- nebo 6- atomem halogenu, trifluormethylovou skupinou nebo kyanoskupinou; nebo B je 4-pyrimidinylová skupina popřípadě substituovaná v poloze 6- atomem halogenu nebo alkylovou skupinou obsahující 1 až 4 atomy uhlíku;

X je atom uhlíku nebo atom dusíku;

R^1 je trimethyl-1-hydantoinalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku nebo trimethyl-3-hydantoinalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; nebo R^1 je fenylová skupina nebo alkylfenylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku monosubstituovaná v poloze 3- nebo 4- atomem halogenu, trifluormethylovou skupinou, thioskupinou nebo alkylovou skupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku nebo alkoxyskupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku; nebo R^1 je fenyl- SO_2NH alkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; nebo R^1 je 2-pyridylová



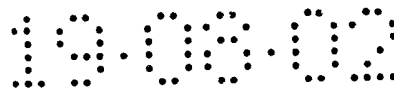
skupina nebo 2-pyridylalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; nebo R^1 je 3-pyridylová skupina nebo 3-pyridylalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku; nebo R^1 je skupina 2-pyrimidin- SCH_2CH_2 ; nebo R^1 je 2- nebo 4-pyrimidinylalkylová skupina obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku popřípadě monosubstituovaná jedním atomem halogenu, tritluormethylovou skupinou, alkylovou skupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku, alkyloxyskupinou obsahující 1 až 3 atomy uhlíku, 2-pyrazinylovou skupinou nebo 2-pyrazinylalkylovou skupinou obsahující v alkylové části 2 až 4 atomy uhlíku.

3. Sloučenina podle nároku 1 nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester, kde B je 4-chlorfenylová skupina, 4-fluorfenylová skupina, 4-bromfenylová skupina, 4-trifluorfenylová skupina, 5-chlor-2-pyridylová skupina, 5-brom-2-pyridylová skupina, 5-fluor-2-pyridylová skupina, 5-trifluormethyl-2-pyridylová skupina, 5-kyano-2-pyridylová skupina, 5-methyl-2-pyridylová skupina.

4. Sloučenina podle nároku 3 nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester, kde B je 4-fluorfenylová skupina, 5-chlor-2-pyridylová skupina nebo 5-trifluormethyl-2-pyridylová skupina.

5. Sloučenina podle kteréhokoli z předcházejících nároků nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester, kde X je atom dusíku.

6. Sloučenina podle kteréhokoli z předcházejících nároků nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester, kde R^1 je 3-chlorfenylová skupina, 4-chlorfenylová skupina, 3-pyridylová skupina, 2-pyridylpropylová skupina, 2- nebo 4-pyrimidinylethylová skupina popřípadě monosubstituovaná atomem fluoru, 2- nebo 4-pyrimidinylpropylová skupina, 2-(2-



pyrimidinyl)propylová skupina popřípadě monosubstituovaná atomem fluoru.

7. Sloučenina podle nároku 6 nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester, kde R¹ je 2-pyrimidinylpropylová skupina, 2-(2-pyrimidinyl)propylová skupina popřípadě monosubstituovaná atomem fluoru nebo 5-fluor-2-pyrimidinylethylová skupina.

8. Sloučenina podle nároku 1 nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester, kde sloučenina obecného vzorce I je uvedená v příkladech.

9. Sloučenina podle nároku 8 nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester, kde sloučenina je vybraná ze skupiny, kterou tvoří

N-[1-([4-(4-bromfenyl)piperazino]sulfonylmethyl)-4-pyrimidin-2-ylbutyl]-N-hydroxyformamid,

N-[1-([4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonylmethyl)-3-(5-fluorpyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid,

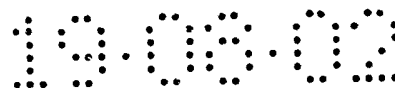
N-[(1S)-1-([4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-4-(pyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid,

N-[(1S)-1-([4-(5-brompyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-4-(pyridin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid,

N-[(1S)-1-([4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-3-(5-fluorpyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid,

N-[(1S)-1-([4-(4-fluorfenyl)piperazino]sulfonyl)methyl)-4-(pyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid,

N-[(1S)-1-([4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-3-(pyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid,



N-[(1R)-1-([4-(5-chlorpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-3-(pyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid,

N-[(1S)-1-([4-(5-trifluormethylpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-3-(pyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid,

N-[(1R)-1-([4-(5-trifluormethylpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-3-(pyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid,

N-[(1S)-1-([4-(5-brompyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-4-(pyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid,

N-[(1R)-1-([4-(5-brompyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-4-(pyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid,

N-[(1S)-1-([4-(5-trifluormethylpyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-4-(pyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid,

N-([4-fluorfenylpiperazino]sulfonyl)methyl)-3-[(5-fluorpyrimidin-2-yl)propyl]-N-hydroxyformamid,

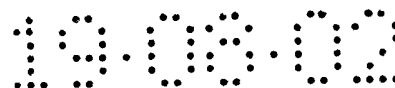
N-[(1R nebo 1S)-([4-chlorfenylpiperazino]sulfonyl)methyl)-3-[(3R nebo 3S)-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid,

N-[(1R nebo 1S)-([4-bromfenylpiperazino]sulfonyl)methyl)-3-[(3R nebo 3S)-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid,

N-[(1R nebo 1S)-([4-chlorfenylpiperidino]sulfonyl)methyl)-3-[(3R nebo 3S)-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid,

N-[(1R nebo 1S)-([3,4-dichlorfenylpiperazino]sulfonyl)methyl)-3-[(3R nebo 3S)-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid,

N-[(1R nebo 1S)-([4-(5-kyanopyridin-2-yl)piperazino]sulfonyl)methyl)-3-[(3R nebo 3S)-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid,



N-[(1S)-({[4-(4-fluorfenyl)piperazino]sulfonyl)methyl)-3-[(3S)-(5-fluorpyrimidin-2-yl)butyl]-N-hydroxyformamid,

1-({[4-(4-chlorfenyl)piperazin-1-yl]sulfonyl)methyl)-3-(5-chlorpyridin-3-yl)propyl(hydroxy)formamid.

10. Sloučenina podle kteréhokoli z předcházejících nároků nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester, kde sloučeninou obecného vzorce I je nejaktivnější enantiomer.

11. Sloučenina podle kteréhokoli z předcházejících nároků nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester, kde sloučeninou obecného vzorce I je S enantiomer nebo S,S-enantiomer.

12. Farmaceutická kompozice, v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje sloučeninu obecného vzorce I podle nároku 1 nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl nebo její *in vivo* hydrolyzovatelný ester a farmaceuticky přijatelný nosič.

13. Sloučenina obecného vzorce I podle nároku 1 nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester pro použití při způsobu léčení člověka nebo živočicha.

14. Sloučenina obecného vzorce I podle nároku 1 nebo její farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester pro použití jako terapeutické činidlo.

15. Způsob léčení onemocnění zprostředkovaného metaloproteinázou, v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje podávání terapeuticky účinného množství sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli nebo *in vivo* hydrolyzovatelného esteru teplokrevnému živočichovi.

16. Způsob léčení onemocnění zprostředkovaného metaloproteinázou podle nároku 15, v y z n a č u j í c í s e t í m , že

zahrnuje léčbu onemocnění zprostředkovaného jedním nebo více následujícími enzymy: MMP13, agrekanázou, MMP9, MMP12.

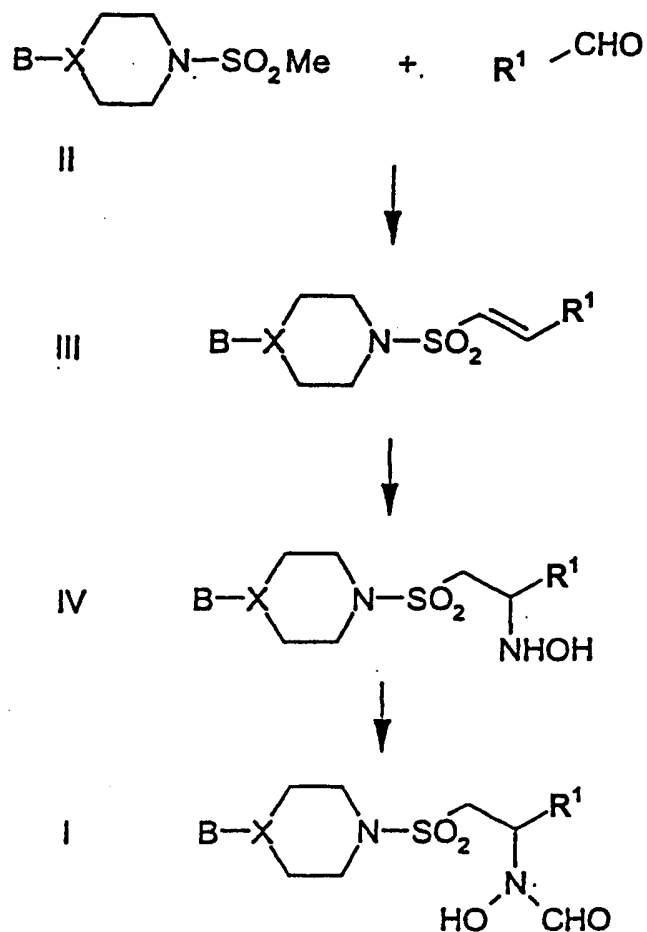
17. Použití sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli nebo *in vivo* hydrolyzovatelného prekurzoru při přípravě léčiva pro použití při léčení onemocnění zprostředkovaného jedním nebo více metaloproteinázovými enzymy.

18. Použití sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli nebo *in vivo* hydrolyzovatelného prekurzoru při přípravě léčiva pro použití při léčení arthritidy.

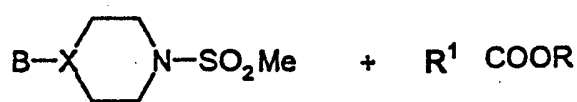
19. Použití sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli nebo *in vivo* hydrolyzovatelného prekurzoru při přípravě léčiva pro použití při léčení atherosklerózy.

20. Použití sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli nebo *in vivo* hydrolyzovatelného prekurzoru při přípravě léčiva pro použití při léčení chronického obstrukčního plicního onemocnění.

21. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli nebo *in vivo* hydrolyzovatelného esteru, vyznačující se tím, že se reaguje sloučenina obecného vzorce II se sloučeninou obecného vzorce R^1CHO za vzniku alkenu obecného vzorce III, alken se převede na sloučeninu obecného vzorce IV a potom se sloučenina vzorce IV převede na sloučeninu vzorce I a potom se popřípadě připraví farmaceuticky přijatelná sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester sloučeniny obecného vzorce I tak, jak je uvedeno dále:



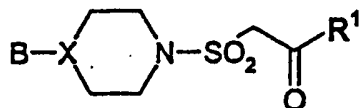
22. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelné soli nebo *in vivo* hydrolyzovatelného esteru, vyznačující se tím, že se reaguje sloučenina obecného vzorce II se sloučeninou obecného vzorce R^1COOR a získá se sloučenina obecného vzorce VIII, sloučenina vzorce VIII se převede na sloučeninu vzorce IX, sloučenina vzorce IX se převede na alken obecného vzorce II, alken se převede na sloučeninu vzorce IV a potom se sloučenina vzorce IV převede na sloučeninu vzorce I a sloučenina vzorce I se potom popřípadě převede na farmaceuticky přijatelnou sůl nebo *in vivo* hydrolyzovatelný ester sloučeniny obecného vzorce I, jak je uvedeno níže:



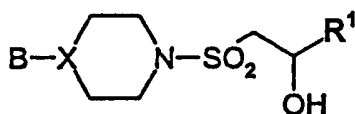
II



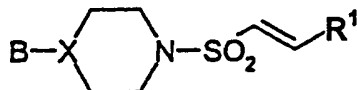
VIII



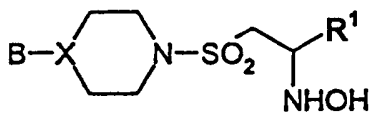
IX



III



IV



I

