

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

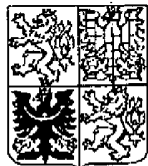
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

4119-98

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **10. 06. 97**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **14.06.96, 08.07.96**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **96/020483, 96/9614325**

(33) Země priority: **US, GB**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12. 05. 99**
(Věstník č. 5/99)

(86) PCT číslo: **PCT/US97/09833**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 97/47645**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶:

C 07 K 7/56

(71) Přihlášovatel:

MERCK & CO., INC., Rahway, NJ, US;

(72) Původce:

Leonard William, Rahway, NJ, US;

Belyk Kevin M., Rahway, NJ, US;

(74) Zástupce:

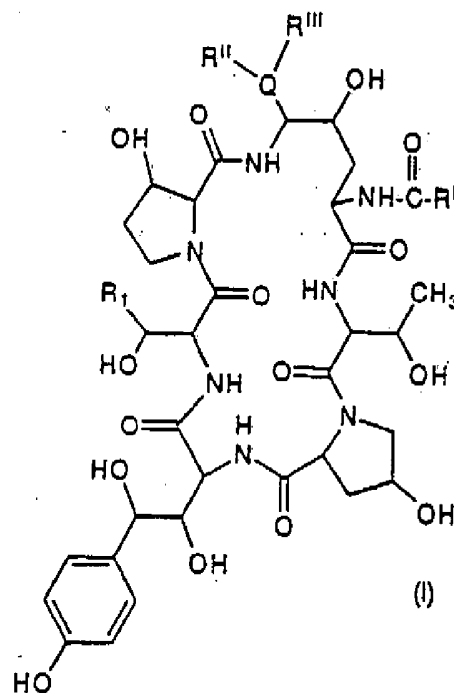
Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha
1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Způsob výroby azacykloheptapeptidů

(57) Anotace:

Způsob výroby azacyklohexapeptidů obecného vzorce I, v němž jednotlivé symboly mají význam, uvedený v hlavním nároku. Tyto látky je možno využít zejména k léčení houbových infekcí. Podstatu řešení tvoří také nové meziprodukty k provádění způsobu podle vynálezu. Nový postup je stereoselektivní a při jeho použití je možno dosáhnout vysokých vý-
těžků.



CZ 4119-98 A3

17082

Způsob výroby azacyklohexapeptidů

Oblast techniky

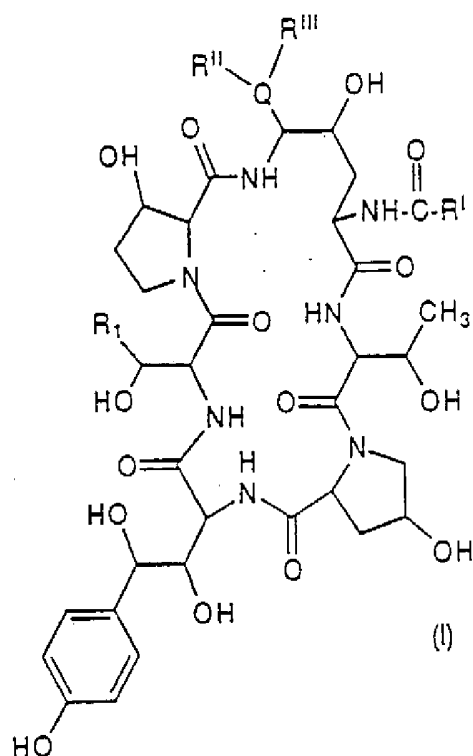
Vynález se týká způsobu výroby azacyklohexapeptidů, kterým je možno získat uvedené látky snadněji a ve vyšším výtěžku.

Dosavadní stav techniky

Vynález se týká zlepšeného postupu pro výrobu cyklohexapeptidů typu, popsaného v US patentovém spisu č. 5 378 804 z 3. ledna 1995. Postup, původně navrhovaný pro výrobu těchto látek vyžadoval provedení v pěti stupních, nebyl dostatečně stereoselektivní a nebylo možno dosáhnout vyšších výtěžků. Známé postupy pro redukci primárních amidů, jako jsou hydrogenace, působení hydridu kovu a elektrochemická redukce vyžadují podmínky, které jsou inkompatibilní s dalšími funkčními skupinami uvedených látek, zejména sloučenin typu pneumocandinu. Tyto typy redukce nejsou selektivní pro různě substituované amidy. Zlepšený postup, prováděný ve třech stupních, byl popsán v současně projednávané patentové přihlášce č. 08/386 618, maximální výtěžek při tomto postupu je však 23 až 25 %. Je tedy zapotřebí získat výhodnější postupy pro přípravu uvedených sloučenin.

Podstata vynálezu

Podstatu vynálezu tvoří způsob výroby azacyklohexapeptidů obecného vzorce I



(sekvence č. 1)

kde

R_1 znamená $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ nebo CH_2CONH_2 ,

R^I znamená alkyl o 9 až 21 atomech uhlíku,
alkenyl o 9 až 21 atomech uhlíku,
alkoxyfenyl o 1 až 10 atomech uhlíku,
alkoxynaftyl o 1 až 10 atomech uhlíku nebo
alkoxyterfenyl o 1 až 10 atomech uhlíku v alkoxylové
části,

R^{II} znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku,
alkenyl o 3 až 4 atomech uhlíku,
 $(\text{CH}_2)_{2-4}\text{OH}$ nebo
 $(\text{CH}_2)_{2-4}\text{NR}^{IV}\text{R}^V$,

R^{III} znamená vodík, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, alkenyl
o 3 až 4 atomech uhlíku, $(\text{CH}_2)_{2-4}\text{OH}$, $(\text{CH}_2)_{2-4}\text{NR}^{IV}\text{R}^V$ nebo

R^{II} a R^{III} společně tvoří $(CH_2)_4$, $(CH_2)_5$, $(CH_2)_2O(CH_2)_2$ nebo $(CH_2)_2NH(CH_2)_2$,

R^{IV} znamená vodík nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku,

R^V znamená vodík nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku,

Q znamená atom dusíku nebo kyslíku,

jakož i farmaceuticky přijatelné adiční soli těchto látek s kyselinami.

Sloučeniny, které je možno připravit způsobem podle vynálezu, je možno využít k léčení houbových infekcí, zejména infekcí, vyvolaných *Candida*, *Aspergillus*, *Histoplasma*, *Coccidioides* a *Blastomyces*. Tytéž látky je možno použít také k léčení a prevenci infekcí, vyvolaných *Pneumocystis carinii*, které je možno často pozorovat u nemocných s poruchami imunitního systému, například u nemocných, trpících AIDS.

Součást podstaty vynálezu tvoří také nové meziprodukty pro výrobu uvedených látek.

Způsob podle vynálezu je stereoselektivní a při jeho použití je možno dosáhnout vysokých výtěžků.

V průběhu popisu přihlášky i nároků zahrnuje určitý chemický vzorec nebo název sloučeniny všechny optické isomery, stereoisomery i jejich racemické směsi v případě, že takové isomery mohou existovat.

Pod pojem alkyl spadájí uhlovodíkové zbytky s přímým, rozvětveným nebo cyklickým řetězcem, například methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, pentyl, hexyl, heptyl, cyklopentyl, cyklohexyl, cyklohexylmethyl a podobně.

Cykloalkyl může obsahovat 3 až 15 atomů uhlíku, přičemž neobsahuje alternační nebo resonující dvojné vazby mezi atomy uhlíku.

Alkenyl znamená uhlovodíkové zbytky s obsahem dvojné vazby, například vinyl, 1-propen-2-yl, 1-buten-4-yl, 2-buten-4-yl, 1-penten-5-yl a podobně.

Alkoxyskupina může mít rovněž přímý nebo rozvětvený řetězec, jako příklad je možno uvést methoxy-, ethoxy-, butoxy-, heptoxy- a dodecyloxyskupinu a podobně.

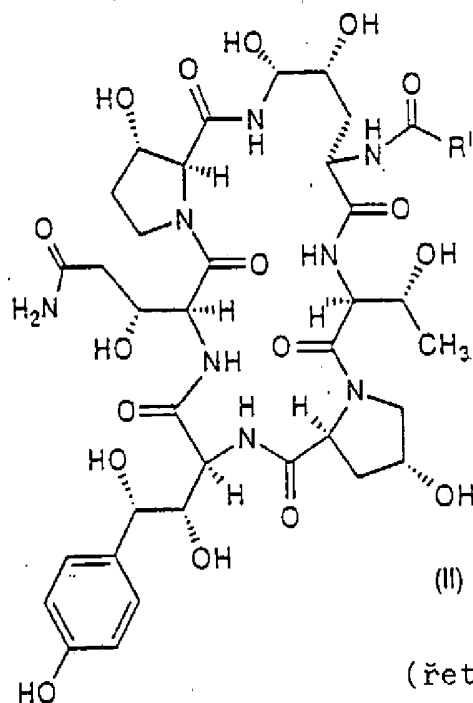
Sloučeniny podle vynálezu se obvykle získají jako směs stereoisomerních forem, v nichž jedna z těchto forem převládá. Podmínky reakce je možno upravit běžným způsobem tak, aby byl získán převážně požadovaný isomer. Sloučeniny s výhodnou stereoisomerní formou, která bude dále označována jako "normální forma" jsou ty látky, v nichž skupina v poloze "C-5-orn" se nechází pod rovinou. Označení "epi" se užívá pro ty látky, v nichž se tato skupina nachází nad rovinou. Poloha "C-5-orn" je definována jako uhlíkový atom v poloze 5 na 4-hydroxyornithinové části molekuly.

Sloučeniny, získané způsobem podle vynálezu je možno použít ve formě jejich farmaceuticky přijatelných solí. Tento pojem zahrnuje všechny přijatelné soli. Jako příklady adičních solí s kyselinami je možno uvést soli s kyselinou chlorovodíkovou, dusičnou, sírovou, fosforečnou, mravenčí, octovou, trifluoroctovou, propionovou, maleinovou, jantarovou, jablečnou, methansulfonovou a podobně, tyto soli je možno použít v lékových formách pro modifikaci rozpustnosti nebo k usnadnění hydrolýzy nebo je možno tyto soli použít ke zpomalenému uvolnění látek nebo ke tvorbě prekursorů. V závislosti na funkčních skupinách, obsažených v uvedených látkách je možno mezi farmaceuticky přijatelné soli zahrnout

také soli, vytvořené s kationty, například soli sodné, draselné, hlinité, vápenaté, lithné, hořečnaté, zinečnaté a soli s bazemi, například soli amonné, soli s ethylendiaminem, N-methylglutaminem, lysinem, argininem, ornithinem, cholinem, N,N'-dibenzylethylendiaminem, chlorprokainem, diethanolaminem, prokainem, N-benzylfenethylaminem, diethylaminem, piperazinem, tris(hydroxymethyl)aminomethanem a tetramethylamoniumhydroxidem. Tyto soli je možno připravit běžnými postupy, například reakcí volné kyseliny s vhodnou organickou nebo anorganickou bází nebo naopak reakcí volné baze s vhodnou organickou nebo anorganickou kyselinou.

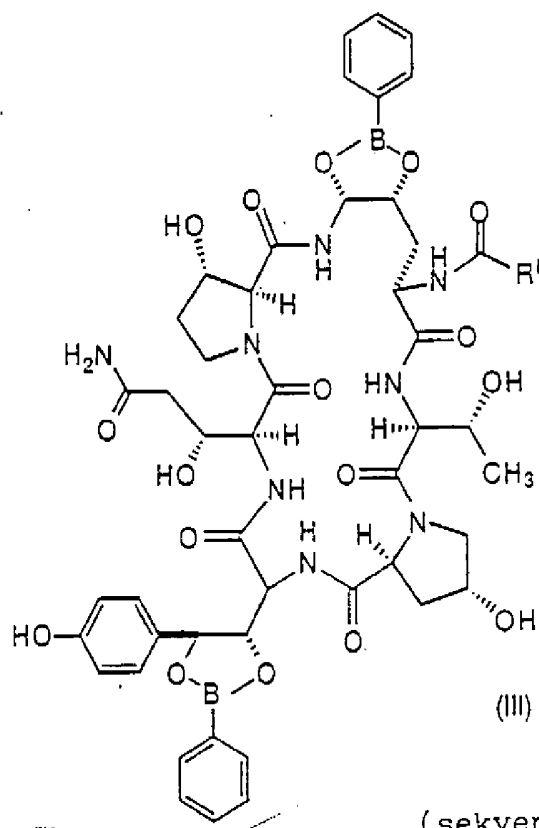
V případě přítomnosti karboxylové skupiny $-COOH$ nebo alkoholové skupiny, mohou být vytvořeny také farmaceuticky přijatelné estery, například methylester, ethylester, butyl-ester, acetát, maleát, pivaloyloxymethylester a podobně, zejména takové estery, které jsou běžně užívány k modifikaci rozpustnosti nebo chování při hydrolýze, tyto estery je možno použít v prostředcích s prodlouženým uvolňováním účinné látky nebo ke tvorbě prekursorů účinných látek.

Ve výhodném provedení se způsob podle vynálezu provádí tak, že se nechá reagovat sloučenina vzorce II

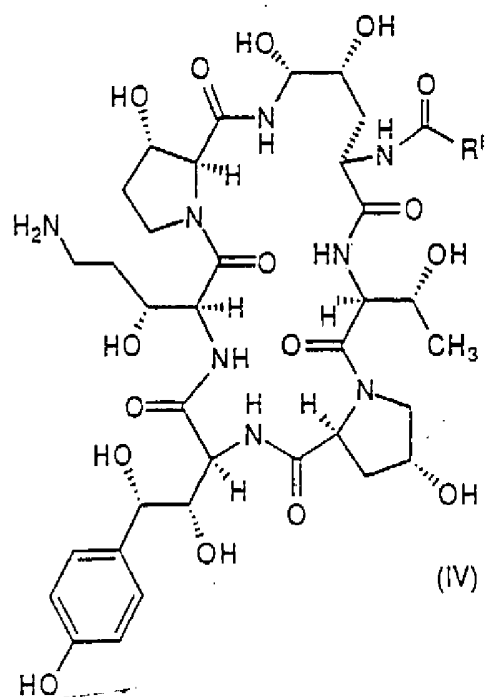


(řetězec č. 1)

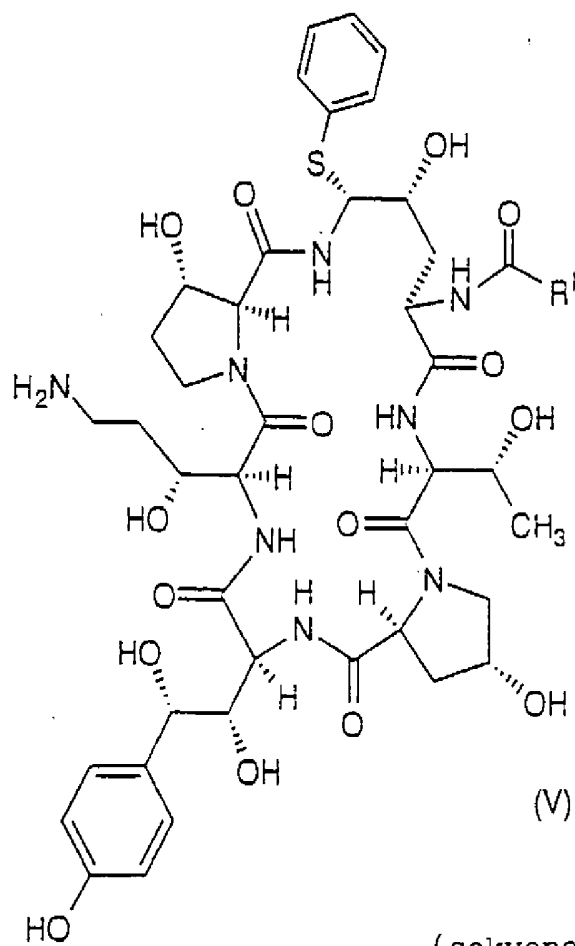
s kyselinou fenyloboritou za vzniku sloučeniny obecného vzorce III



která se redukuje na amin a pak hydrolyzuje za získání sloučeniny obecného vzorce IV

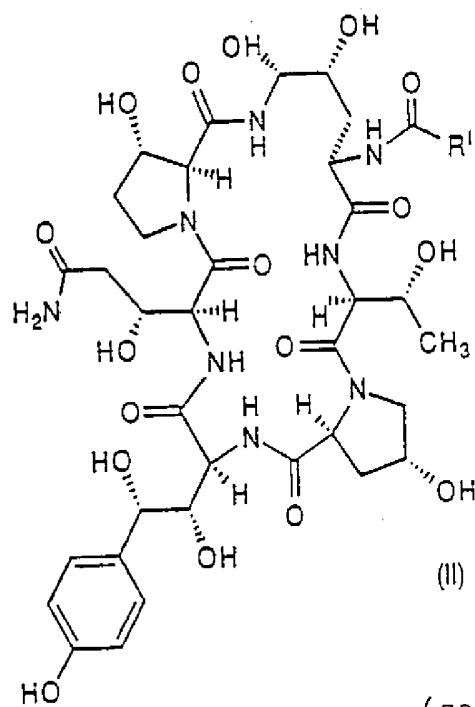


která se stereoselektivně převede na sloučeninu vzorce I
přes sloučeninu obecného vzorce V

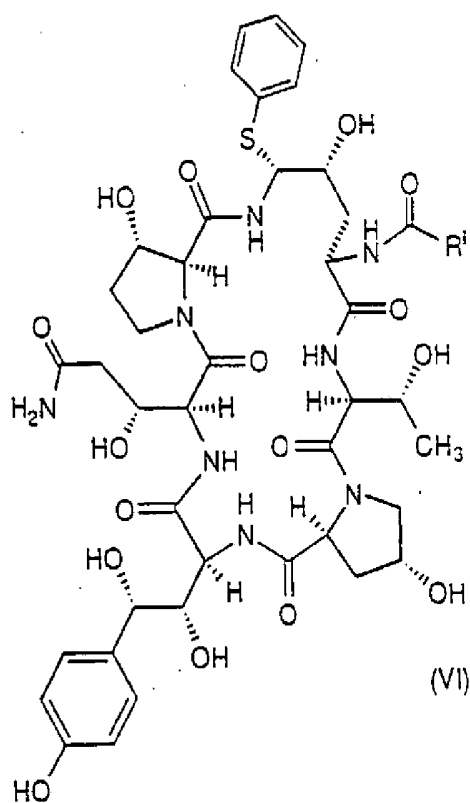


odstraněním fenylthioskupiny.

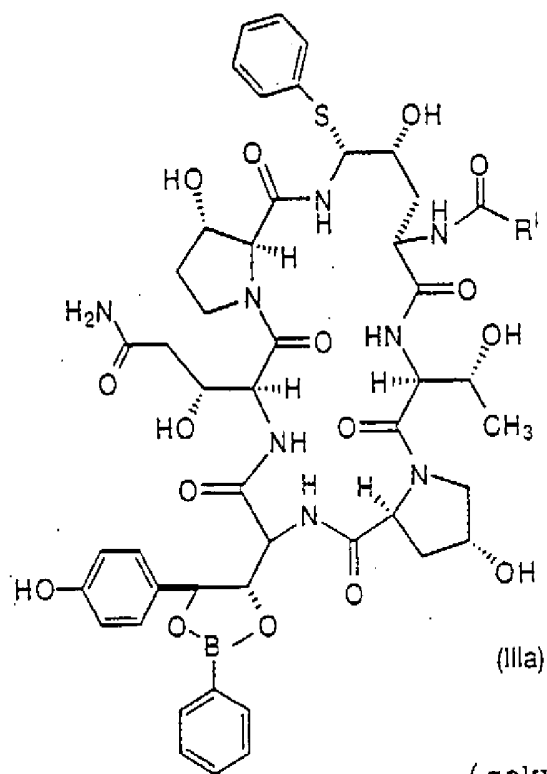
V dalším možném provedení se postupuje tak, že se nechá reagovat sloučenina obecného vzorce II



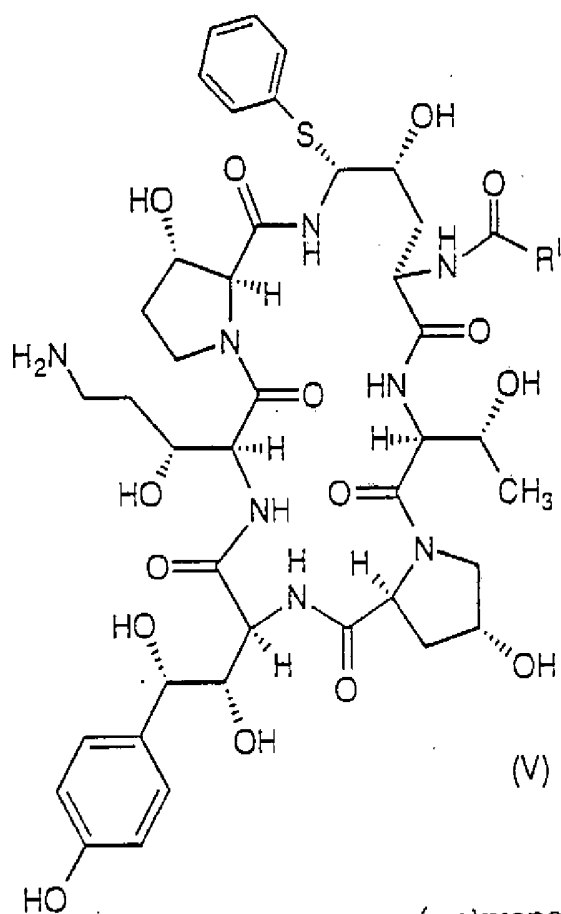
s thiofenolem za vzniku sloučeniny obecného vzorce VI



a pak reakcí sloučeniny obecného vzorce VI s kyselinou fenylboritou, čímž se získá sloučenina obecného vzorce IIIa



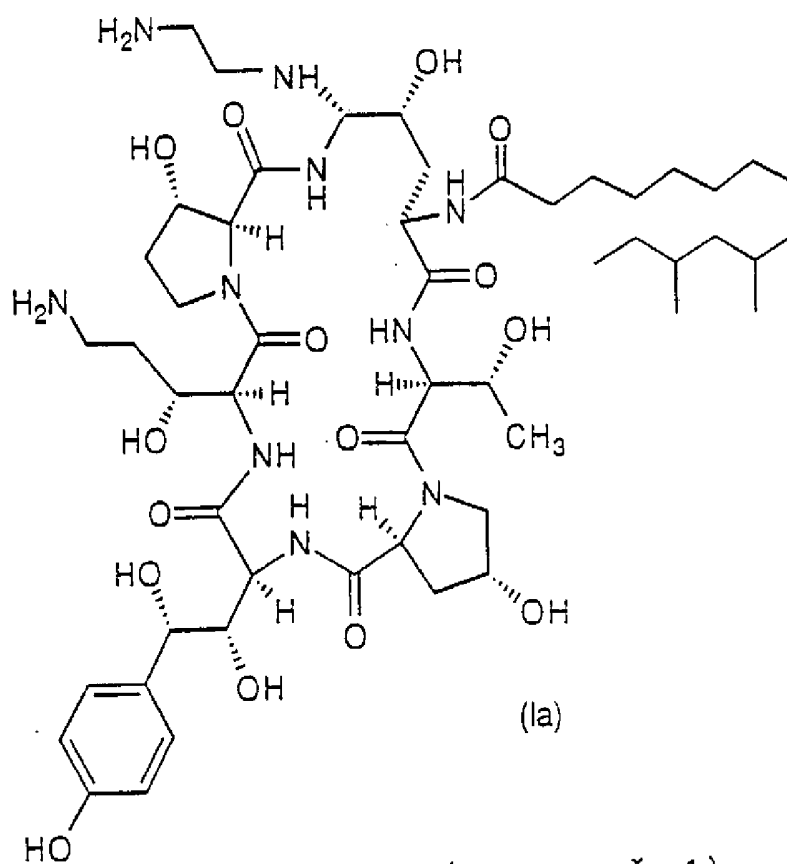
která se pak redukuje na amin a hydrolyzuje, čímž se získá sloučenina obecného vzorce V



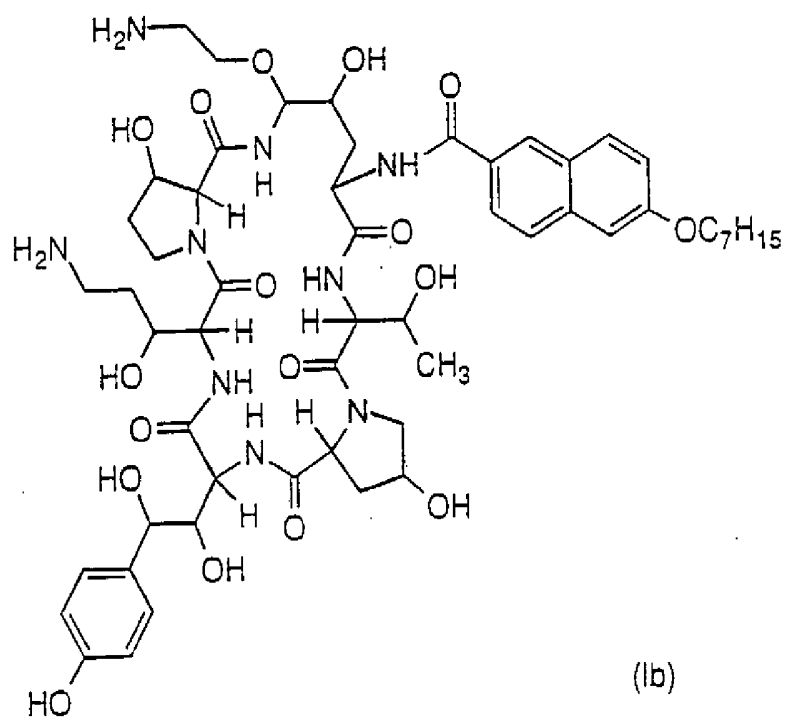
tato látka se pak převede na sloučeninu vzorce I odstraněním fenylthioskupiny.

Sloučenina obecného vzorce II, v němž R^1 znamená dimethyltridecyl, byla popsána v US č. 5 202 309. Sloučeninu obecného vzorce II je možno získat pěstováním *Zalerion arboricola* ATCC 20868 v živném prostředí, obohaceném mannitolem jako primárním zdrojem uhlíku, postup byl popsán v US patentovém spisu č. 5 021 341.

Výhodnou sloučeninou, kterou lze připravit způsobem podle vynálezu je sloučenina obecného vzorce Ia



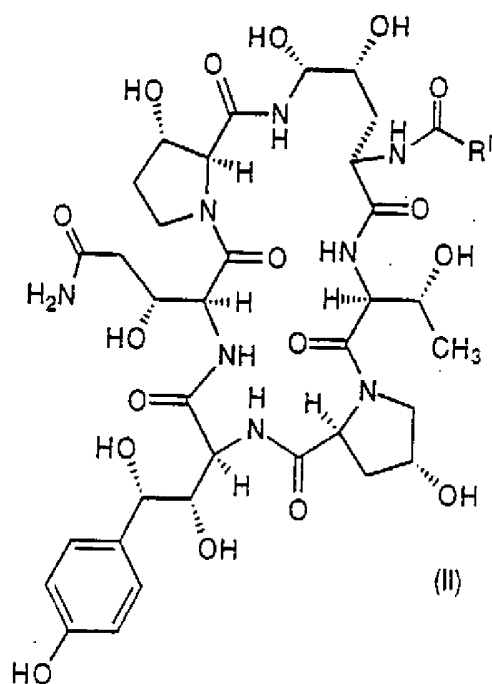
Další výhodnou sloučeninou, kterou lze tímto způsobem připravit je sloučenina obecného vzorce Ib



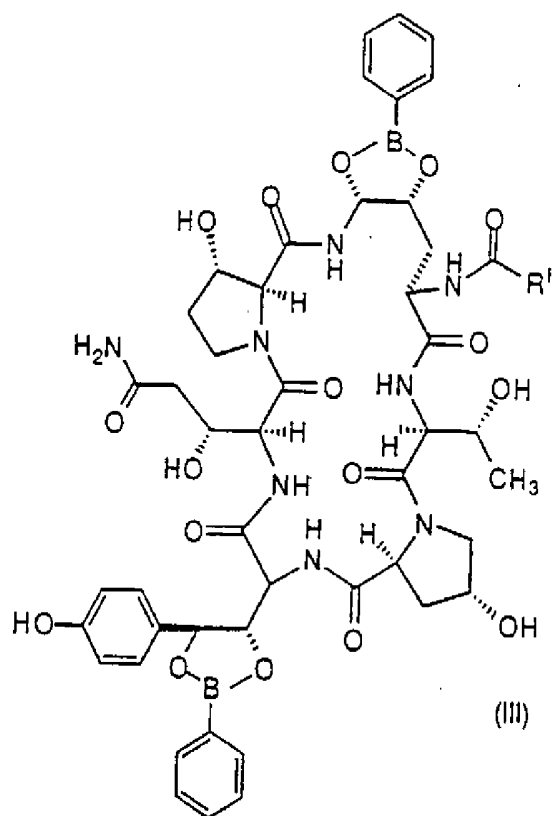
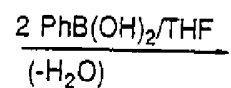
(sekvence č. 1)

Způsob podle vynálezu je možno ilustrovat na následujících reakčních schématech, v nichž byly užity výhodné reakční složky, aby bylo možno způsob podle vynálezu lépe vyjádřit. V následujících reakčních schématech znamená R^I dimethyltridecylovou skupinu.

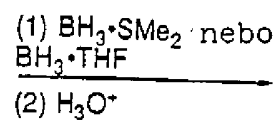
Reakční schema I

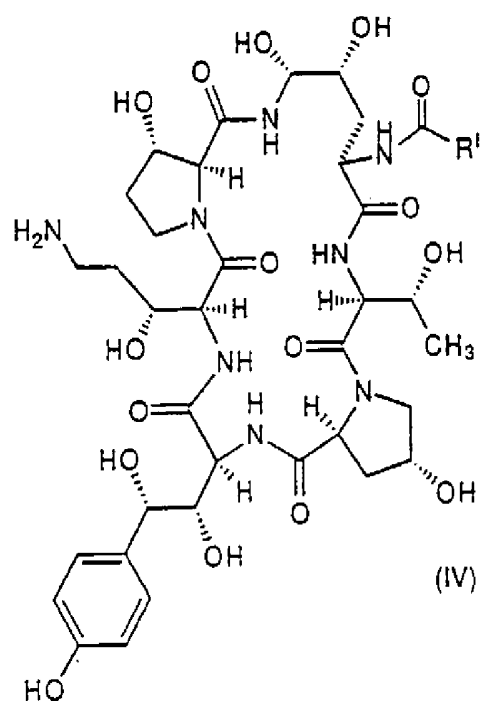


stupeň 1



stupeň 2

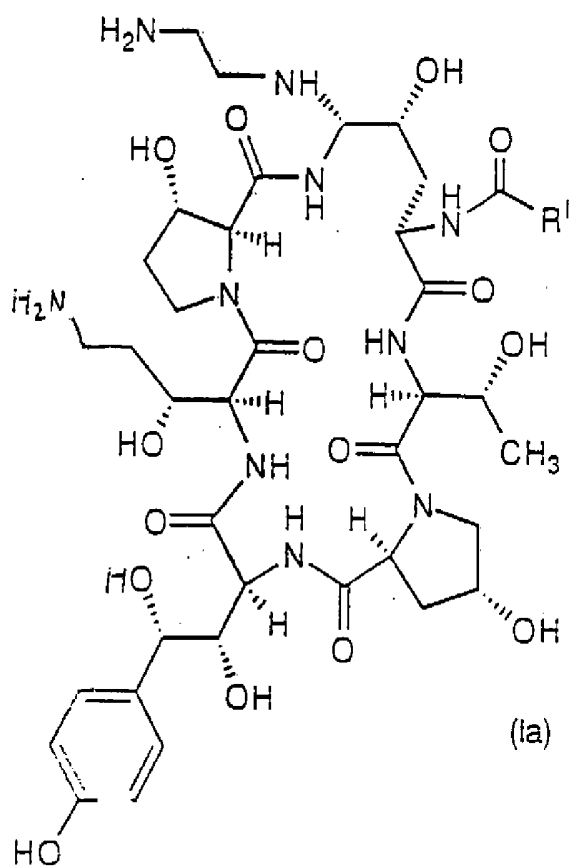




stupeň 3

1) HSPH/TFA/MeCN
 2) H₂NCH₂CH₂NH₂/MeOH

(sekvence č. 1)



(sekvence č. 1)

Jak je uvedeno svrchu, ve stupni 1 se tvoří bis-fenylboritanová sloučenina obecného vzorce III reakcí sloučeniny obecného vzorce II a bezvodého THF s kyselinou fenylboritou, p-methoxyfenylboritou nebo methanboritou. Při reakci je možno použít 1 až 10 molárních ekvivalentů kyseliny, s výhodou 1 až 3 molárních ekvivalentů.

Ve stupni 2 se sloučenina obecného vzorce III redukuje na amin obecného vzorce IV při použití boranového komplexu, například boranu s tetrahydrofuranem THF, dimethylsulfidem, difenylsulfidem, dibenzylsulfidem, 1,4-oxathianem nebo při použití BH_2Cl s dimethylsulfidem nebo hydroborátem kovu, je například možno použít směs $\text{ZrCl}_4/\text{NaBH}_4$ nebo $\text{TiCl}_4/\text{NaBH}_4$ v THF nebo jiném vhodném rozpouštědle. Redukci je také možno uskutečnit při použití komplexu boranu s amoniakem, dimethylaminem, pyridinem nebo piperazinem. Výhodnými redukčními činidly jsou komplexy boranu s tetrahydrofuranem, dimethylsulfidem, difenylsulfidem, dibenzylsulfidem nebo 1,4-oxathianem nebo BH_2Cl s dimethylsulfidem, nebo hydroborát, například $\text{ZrCl}_4/\text{NaBH}_4$ nebo $\text{TiCl}_4/\text{NaBH}_4$ v THF nebo jiném vhodném rozpouštědle. Jakékoliv zbytky amidů, který nebyl přeměněn při této redukci se pak oddělí při použití chromatografie v reverzní fázi. Po ukončení redukce zahrnuje stupeň 2 také odstranění fenylboritanových skupin v průběhu zpracování reakční směsi působením vodného roztoku kyseliny.

Stupeň 3 má dvě části. Nejprve se uskuteční reakce sloučeniny obecného vzorce IV s thiofenolem v acetonitrilu a kyselině trifluoroctové TFA, čímž vznikne meziprodukt, obsahující fenylsulfid. Působením jakékoliv středně silné kyseliny je možno takový meziprodukt získat v dobrém výtěžku. Jako příklad vhodné středně silné kyseliny je možno uvést například kyselinu trifluoroctovou, fosforečnou nebo trichloroctovou. Použít je možno také jiné sulfidy, jako 4-methoxythiofenol,

2-merkpto-1-methylimidazol a 2-merkptobenzimidazol. Sloučenina vzorce III se extrahuje tak, že se zředěný reakční roztok nanese na sloupec C-18 v reverzní fázi a eluce se provádí při použití methanolu.

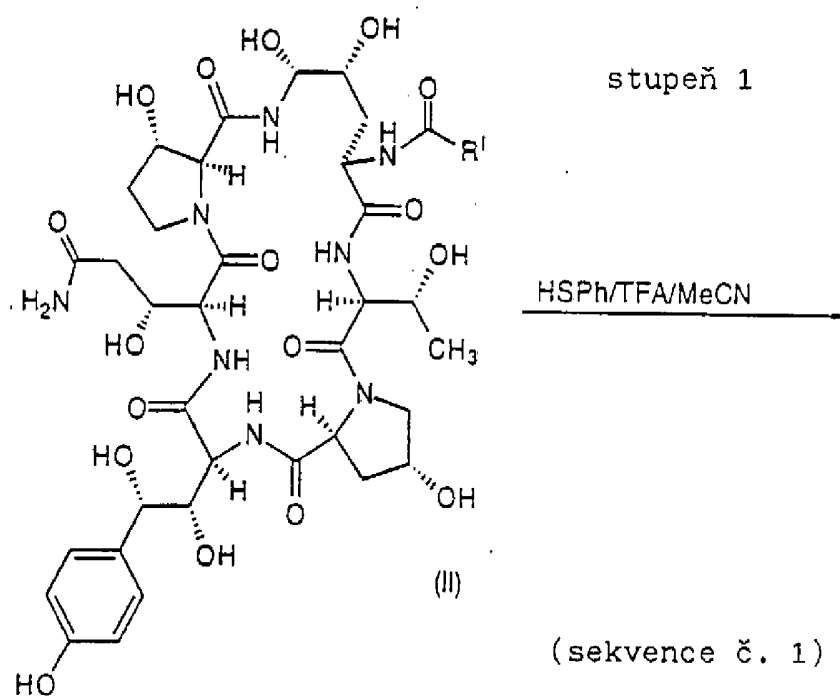
Množství použité TFA má zásadní význam pro rychlost reakce a také na následnou tvorbu nežádoucího sulfidu v homotyrosinové části cyklického peptidu. Bylo prokázáno, že při použití 5 až 25 % TFA v acetonitrilu je možno dosáhnout nejlepších výtěžků. Výhodné rozmezí TFA je 7 až 15 %.

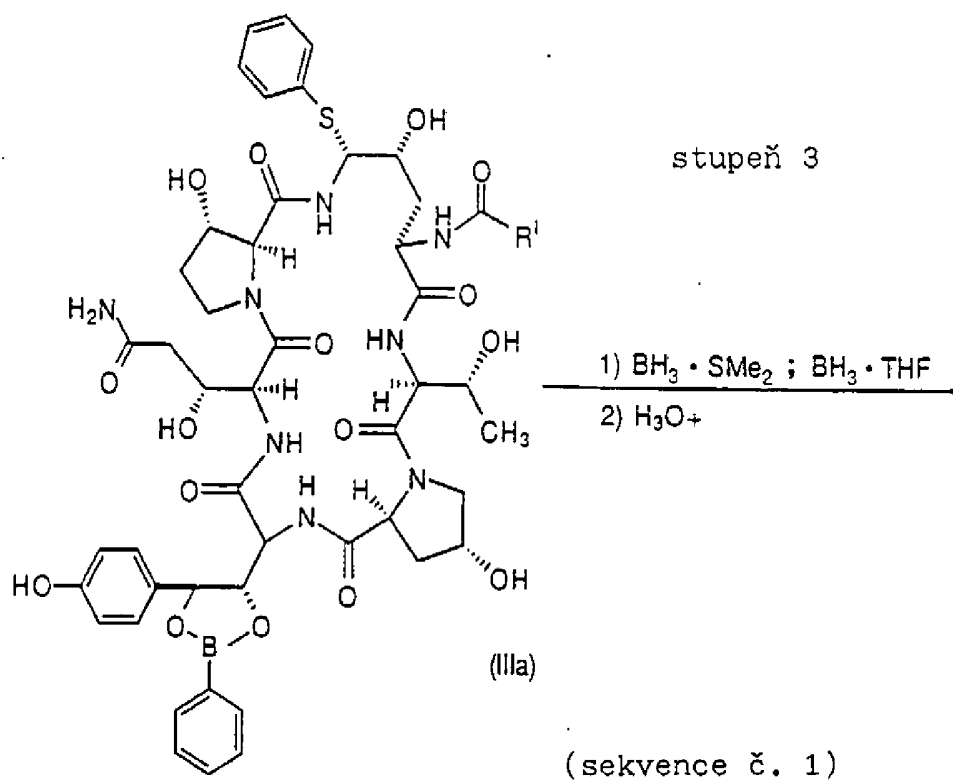
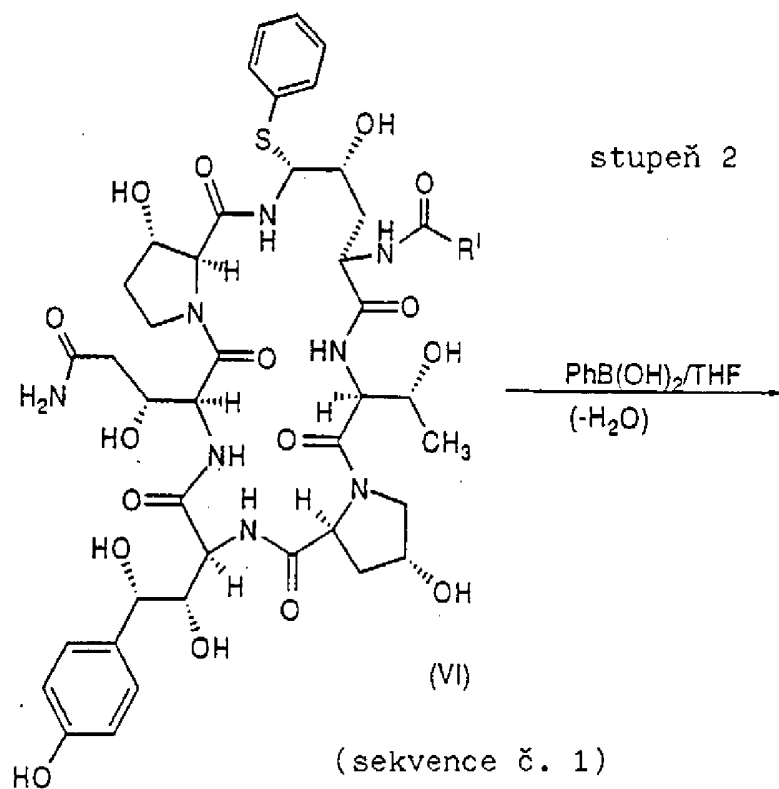
Množství thiofenu, použitého v tomto stupni je rovněž kritické pro výtěžek výsledného produktu. Nejvýhodnějších výtěžků je možno dosáhnout při použití 3 až 5 evkvivalentů thiofenolu.

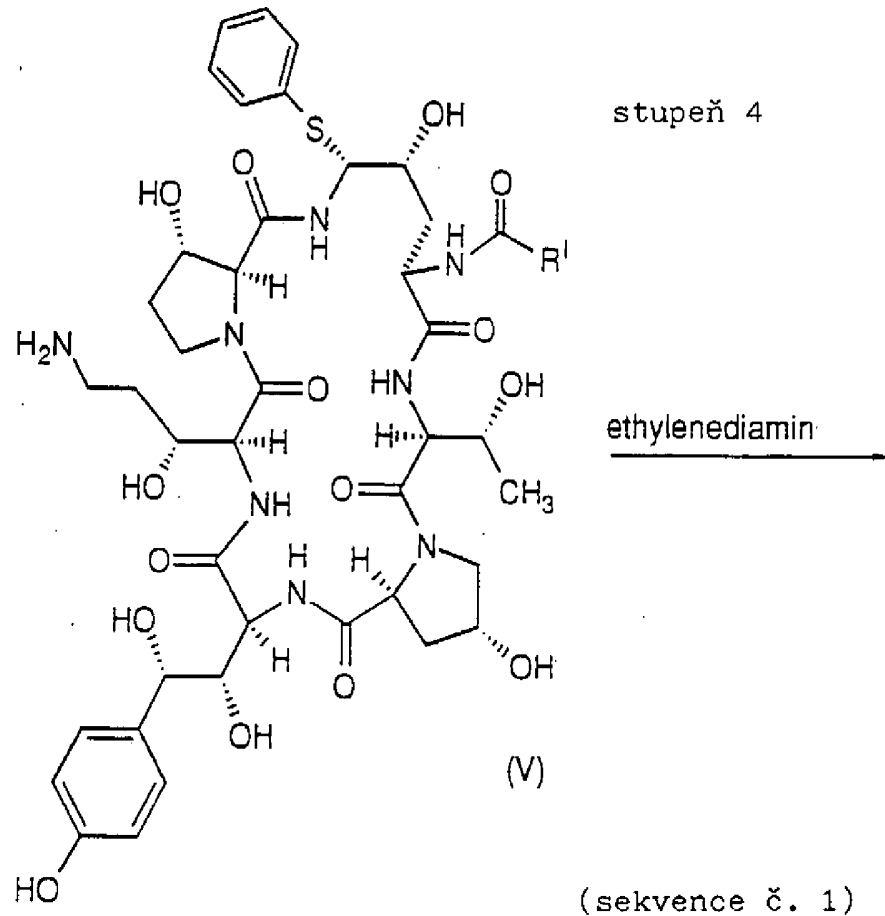
Bylo prokázáno, že jako nejvýhodnější podmínky pro tvorbu sulfidu je možno uvést použití 5 ekvivalentů thiofenolu v 10% TFA v acetonitrilu při teplotě 0 °C. Za těchto podmínek je po extrakci pevné fáze možno dosáhnout výtěžku 65 až 70 %.

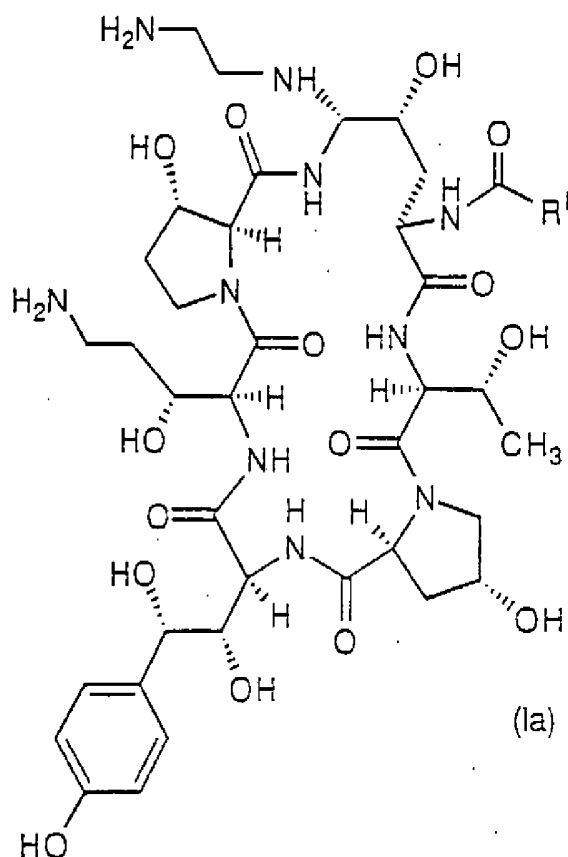
Ve druhé části stupně 3 se odstraní fenylthioskupina. Fenylsulfid se nechá reagovat v čistém ethylendiaminu (1:3) při teplotě místnosti, čímž se získá sloučenina vzorce Ia ve výtěžku 95 %. Reakci je možno uskutečnit při teplotě 10 až 40 °C a trvá 0,5 až 6,0 hodin. S výhodou se reakce provádí při teplotě místnosti po dobu 1,5 hodin. Reakci je rovněž možno uskutečnit při použití ethylendiaminu, rozpuštěného ve vhodném rozpouštědle, jako je voda, methanol, ethanol, isopropanol, tetrahydrofuran, trifluorethanol, dichlorethan nebo acetonitril.

REAKČNÍ SCHEMA II









(sekvence č. 1)

Jak je ze schematu II zřejmé, stupeň 1 zahrnuje reakci sloučeniny obecného vzorce II s thiofenolem v acetonitrilu a kyselině trifluoroctové TFA, čímž vznikne meziprodukt, obsahující fenylsulfidovou skupinu. Tento meziprodukt se v dobrém výtěžku získá při použití jakékoliv středně silné kyseliny. Jako příklad středně silných kyselin je možno uvést kyselinu trifluoroctovou, fosforečnou a trichloroctovou. Je také možno užít jiné sulfidy, jako 4-methoxythiofenol, 2-merkapt-1-methylimidazol a 2-merkaptobenzimidazol. Sloučenina obecného vzorce VI se vysráží přidáním vody a oddělí filtrací.

Užití množství TFA má zásadní význam pro rychlost reakce i pro následnou tvorbu nežádoucího sulfidu v homotyrosinové části cyklického peptidu. Bylo prokázáno, že nejlepšího

výtěžku je možno dosáhnout při použití 5 až 25% TFA v acetonitrilu, s výhodou při použití 7 až 15% TFA.

Množství thiofenolu, použitého v tomto stupni je rovněž kritické pro výtěžek výsledného produktu. Nejlepšího výtěžku je možno dosáhnout při použití 3 až 5 ekvivalentů thiofenolu.

Výhodnými podmínkami pro tvorbu sulfidů jsou použití 5 ekvivalentů thiofenolu v 10% TFA v acetonitrilu při teplotě 0 °C. Za těchto podmínek je po extrakci pevné fáze možno dosáhnout výtěžku 65 až 70 %.

Ve stupni 2 se provádí derivatizace meziproduktu s obsahem fenylsulfidové skupiny tak, že se tento meziprodukt nechá reagovat s kyselinou fenylboritou, p-methoxyfenylboritou nebo methanboritou v THF. Obvykle se užije 1 až 10, s výhodou 1 až 3 molární ekvivalenty některé z uvedených kyselin.

Ve stupni 3 se provádí redukce sloučeniny vzorce IIIa na amin obecného vzorce V při použití boranového komplexu, například boranu s tetrahydrofuranem THF, dimethylsulfidem, difenylsulfidem, dibenzylsulfidem, 1,4-oxathianem nebo při použití BH_2Cl s dimethylsulfidem nebo při použití hydroborátu kovu, jako $\text{ZrCl}_4/\text{NaBH}_4$ nebo $\text{TiCl}_4/\text{NaBH}_4$ v THF nebo jiném vhodném rozpouštědle. Redukci je možno uskutečnit také při použití boranových komplexů s amoniakem, dimethylaminem, pyridinem nebo piperazinem. Výhodná redukční činidla zahrnují boranové komplexy s tetrahydrofuranem THF, dimethylsulfidem, difenylsulfidem, dibenzylsulfidem, 1,4-oxathianem nebo BH_2Cl s dimethylsulfidem nebo hydroborát kovu, například $\text{ZrCl}_4/\text{NaBH}_4$ nebo $\text{TiCl}_4/\text{NaBH}_4$ v THF nebo jiném vhodném rozpouštědle. Jakýkoliv zbytek amidu, který při této redukci nebyl přeměněn se oddělí při použití chromatografie v reverzní fázi.

Stupeň 3 také zahrnuje odstranění fenylboritanové skupiny v průběhu zpracování působením vodného roztoku kyseliny.

Stupeň 4 zahrnuje odstranění fenylthioskupiny. Postupuje se tak, že se fenylsulfid nechá reagovat v čistém ethylendiaminu 1 : 3 při teplotě místnosti, čímž se získá sloučenina vzorce Ia ve výtěžku 95 %. Reakci je možno provádět při teplotě v rozmezí 10 až 40 °C po dobu 0,5 až 6,0 hodin. S výhodou se reakce provádí při teplotě místnosti po dobu 1,5 hodiny. Reakci je rovněž možno uskutečnit při použití ethylendiaminu, rozpuštěného ve vhodném rozpouštědle, například ve vodě, methanolu, ethanolu, isopropanolu, tetrahydrofuranu, trifluorethanolu, dichlorethanu nebo acetonitrilu.

Sloučeniny obecného vzorce III, IIIa, V a VI jsou nové meziprodukty pro použití při provádění způsobu podle vynálezu.

Praktické provedení vynálezu bude podrobněji osvětleno v následujících příkladech, které však nemají sloužit k omezení rozsahu vynálezu. V průběhu příkladové části jsou všechny díly, poměry a procentuální množství uvedeny jako hmotnostní, není-li výslovně uvedeno jinak. V použitých meziproduktech znamená R^1 dimethyltridecyl.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

- a) Syntéza sloučeniny vzorce IV ze sloučeniny vzorce II přes sloučeninu vzorce III

60 g surové sloučeniny II (52,6 g podle HPLC, 49,4 mmol) se přidá k 1480 ml bezvodého THF. Ke vzniklé suspenzi se přidá 14,56 g, 119 mmol PhB(OH)_2 . Pak se suspenze nechá stát při teplotě místnosti, načež se zahřeje na teplotu varu pod zpětným chladičem. V průběhu stání a varu pod zpětným chladičem se reakční roztok stane homogenním. Výsledný kondenzát se nechá projít molekulovým sítem 3A v přístroji pro extrakci pevné látky kapalinou tak, že roztok obsahuje méně než 25 % molárních vody. Reakční směs se zchladí na teplotu místnosti a zředí 490 ml bezvodého THF. Svrchu připravený roztok bisfenylboritanu se zchladí na teplotu přibližně -7°C a přidá se 33,3 ml 10M roztoku, 6,7 molárních ekvivalentů $\text{BH}_3\cdot\text{S}$. Reakční směs se udržuje 6,5 hodin při teplotě -12 až 0°C a pak se pomalu přidá 140 ml 2M roztoku, 280 mmol kyseliny chlorovodíkové. Pomocí HPLC je možno prokázat, že výtěžek sloučeniny obecného vzorce IV je 61 %.

Podíl uvedeného roztoku se zředí vodou na výsledný objemový poměr THF a vody 1 : 5,7. Tento roztok se pak nanese na sloupec C-18 pro střednětlakou kapalinovou chromatografii v reverzní fázi. Po nanesení se eluce sloučeniny vzorce IV provádí směsí acetonitrilu a vody v objemovém poměru 1 : 4 a později 1 : 3.

Frakce, bohaté na produkt (více než 80 % plochy pod křivkou při HPLC) se spojí a zředí vodou na objemový poměr acetonitrilu a vody 1 : 7,3. Pak se směs nanese na svrchu popsaný sloupec, k eluci se užije methanol. Frakce, bohaté na produkt (více než 85 % plochy pod křivkou při HPLC) se spojí a odpaří do sucha, čímž se získá sloučenina obecného vzorce IV v typickém výtěžku 88 až 92 % pro kombinaci izolace a chromatografického čištění.

b) Příprava fenylsulfidu, sloučeniny V

5,80 g, 0,00533 mol sloučeniny vzorce IV se smísí s 0,23 litry bezvodého acetonitrilu, směs se zchladí na -5°C a při této teplotě se přidá 3,10 g, 0,028 mol thiofenolu. Pak se v průběhu 20 minut přidá 36 g, 24,5 ml, 0,318 mol TFA tak, aby teplota byla udržována pod 0°C . Pak se reakční směs nechá stát při teplotě -10 až 0°C tak dlouho, až je pomocí HPLC možno prokázat množství výchozí látky méně než 3 % plochy pod křivkou, což trvá přibližně 3,75 hodin. Po této době se pomalu v průběhu 1 hodiny přidá 0,56 litrů zchlazené vody a současně se reakční směs chladí tak, aby teplota byla udržována na hodnotě nižší než 5°C . Výtěžek adičního produktu alfa- a beta-fenylsulfidu ve formě trifluoracetátu byl 71 %, celkem bylo získáno 4,82 g produktu.

Roztok byl nanesen na sloupec, popsáný ve stupni a) a sloupec byl promyt 0,57 litry vody, načež byly adsorbované organické sloučeniny vymývány 0,50 litry methanolu. Frakce, bohaté na výsledný produkt byly odpařeny na rotačním odpařovači za vysokého podtlaku. Tímto způsobem byl s čistotou 57 % hmotnostních při přítomnosti 5,1 % hmotnostních vody získáno 7,20 g surového fenylsulfidtrifluoracetátu jako amorf-ní pěnovitě pevné látky. Při dalším čištění bylo ve výtěžku 61 % získáno 4,10 g fenylsulfidu jako směs alfa- a beta-dia- stereomeru v poměru 93 : 7.

c) Přeměna fenylsulfidu na sloučeninu Ia

8,4 g, 0,00377 mol surového fenylsulfidtrifluormethan-sulfonátu s čistotou 57 % hmotnostních bylo přidáno za míchání při teplotě místnosti ke 24 ml ethylendiaminu. Výsledný roz-tok se míchá 1,5 hodiny k ukončení reakce a pak se přidá 40 ml methanolu a pak ještě 45 ml kyseliny octové, přičemž se teplo-ta udržuje lázní s vodou a ledem na hodnotě nižší než 25°C .

Vytvoří se hustá suspenze. Přidá se 160 ml vody k rozpuštění suspenze a vodná vrstva se extrahuje opatrným protřepáváním se 75 ml hexanů. Hexanová vrstva se pak zpětně extrahuje 40 ml vody, vodné vrstvy se spojí, zfiltrují se přes středně porézní sintr ve skleněné nálevce a úak se produkt čistí preparativní HPLC při použití sloupce C-18 s průměrem 50 mm. jako eluční činidlo se užije směs 22 % acetonitrilu a 78 % 0,15% vodného roztoku kyseliny octové. Frakce, bohaté na výsledný produkt se lyofilizují, čímž se získá 4,2 g sloučeniny vzorce I s čistotou 85 % hmotnostních ve formě diacetátu, výtěžek pro izolační stupeň je 78 %.

d) Krystalizace sloučeniny Ia

2,3 g pevné látky se rozpustí ve 25 ml ethanolu a pak se přidá 2,7 ml vody. Roztok se nechá projít skleněnou nálevkou se sintrem k odstranění cizorodého materiálu. K filtrátu se přidá 0,14 ml kyseliny octové a pak v průběhu 1,75 hodin pomalu ještě 14 ml ethylacetátu. Pak se roztok naočkuje a nechá se 1 hodinu stát. V průběhu 5 hodin se přidá ještě zbývající množství 32 ml ethylacetátu a roztok se znovu nechá 1 hodinu stát. Pak se krystalický pevný podíl oddělí skleněnou nálevkou se sintrem a promyje se směsí ethanolu, ethylacetátu a vody, užije se 6 ml/9 ml/0,5 ml uvedených látek. Vlhký filtrační koláč se vysuší proudem dusíku, čímž se ve výtěžku 88 % získá 1,91 g diacetátu sloučeniny vzorce Ia, což odpovídá 1,75 g čisté látky.

Příklad 2

a) Příprava fenylsulfidu, sloučenina VI

2,48 kg , 2,33 mol sloučeniny vzorce II se přidá k 78 litrům bezvodého acetonitrilu a směs se zchladí na -8°C , našež se přidá 1,08 kg, 9,8 mol thiofenolu. Pak se v průběhu 30 minut přidá ještě 12,8 kg, 8,65 litrů, 112 mol TFA tak, aby teplota reakční směsi byla udržována pod 0°C . Pak se reakční směs nechá stát při teplotě -13 až 0°C tak dlouho, až je pomocí HPLC možno prokázat výchozí materiál v množství menším než odpovídá 3 % plochy pod křivkou, což trvá přibližně 5 hodin. Po této době se pomalu přidá 35 litrů chlazené vody za chlazení reakční směsi k udržení její teploty na hodnotě nižší než 5°C . V průběhu přidání vody dojde k vysrážení produktu vzorce VI. Pak se přidá ještě další voda k úpravě poměru acetonitrilu a vody na objemový poměr 1 : 3. Pevný podíl se odfiltruje a promyje se směsí acetonitrilu a vody v objemovém poměru 1 : 3 až do dosažení pH filtrátu vyššího než 5. Pak se pevný podíl suší v proudu dusíku. Tímto způsobem se ve výtěžku 76 % získá 2,03 kg trifluoracetátu sloučeniny vzorce VI.

b) Syntéza sloučeniny vzorce V ze sloučeniny vzorce VI přes sloučeninu IIIa

922 g, 0,94 mol sloučeniny vzorce VI se přidá ke 44 l bezvodého THF. Ke vzniklé suspenzi se přidá 119 g, 0,98 mol PhB(OH)_2 . Suspenze se nechá stát 12 hodin při teplotě místnosti a pak se zahřeje na teplotu varu pod zpětným chladičem. Kondenzát se nechá projít molekulovým sítem 3A v přístroji pro extrakci pevných látek kapalinou k vysušení roztoku na obsah méně než 25 % molárních vody, vztaženo na množství sloučeniny vzorce VI. Pak se reakční směs zchladí a přidá se bezvodý THF k doplnění směsi na původní objem. Pak se směs zchladí na teplotu nižší než -4°C . V průběhu 15 minut se přidá 494 g, 6,51 mol čistého $\text{BH}_3\cdot\text{SMe}_2$ a reakční směs se pak udržuje na teplotě -4 až 0°C . Průběh reakce se sleduje pomocí

HPLC tak dlouho, až množství výchozí látky klesne pod 30 %, což trvá přibližně 9 hodin.

Směs se zchladí na -10°C a reakce se zastaví přidáním 2,98 litrů 2N HCl. Tímto způsobem se ve výtěžku 61 % získá 573 g sloučeniny obecného vzorce V ve formě hydrochloridu.

Roztok se zředí na objemový poměr THF a vody 1 : 3,76 a nanese se na sloupec pro střednětlakou chromatografii, naplněný 16,8 kg RP-C18. Po nanesení materiálu se sloupec vymývá směsí acetonitrilu a vody v objemovém poměru 1 : 2,64 a pak v objemovém poměru 1 : 2,45. Frakce, bohaté na produkt (více než 80 % plochy pod křivkou) se spojí, čímž se získá sloučenina vzorce V ve výtěžku 90 %.

Frakce, bohaté na produkt se spojí a zředí se vodou až na objemový poměr acetonitrilu a vody 1 : 2. Směs se spojí se zředěnými frakcemi další vsázky a naese na svrchu uvedený sloupec. Sloučenina obecného vzorce V se vymývá methanolem. Frakce, bohaté na tuto látku (více než 85 % plochy pod křivkou) se spojí a odpaří v rotačním odpařovači, čímž se získá sloučenina vzorce V ve výtěžku 98 %.

Sloučenina obecného vzorce V se pak převede na sloučeninu vzorce Ia způsobem podle příkladů 1c a 1d.

Informace o sekvenci 1:

vlastnosti sekvence: A) délka: 6 aminokyselin

B) typ: aminokyselina

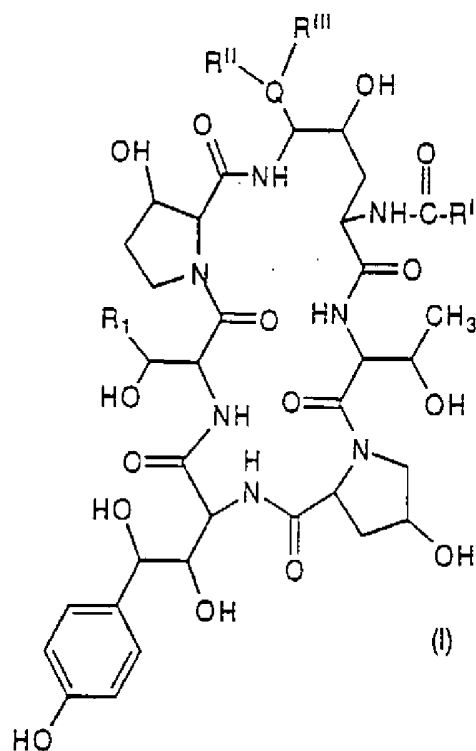
D) topologie: cirkulární

jde o peptid se sekvencí č. 1:

Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Způsob výroby azacyklohexapeptidů obecného vzorce I



(sekvence č. 1)

kde

R_1 znamená $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ nebo CH_2CONH_2 ,

R^I znamená alkyl o 9 až 21 atomech uhlíku,
 alkenyl o 9 až 21 atomech uhlíku,
 alkoxyfenyl o 1 až 10 atomech uhlíku,
 alkoxynaftyl o 1 až 10 atomech uhlíku nebo
 alkoxyterfenyl o 1 až 10 atomech uhlíku v alkoxylové
 části,

R^{II} znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, alkenyl o 3 až 4 atomech uhlíku,

$(CH_2)_{2-4}OH$ nebo
 $(CH_2)_{2-4}NR^{IV}R^V$,

R^{III} znamená vodík, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, alkenyl o 3 až 4 atomech uhlíku, $(CH_2)_{2-4}OH$, $(CH_2)_{2-4}NR^{IV}R^V$ nebo

R^{II} a R^{III} společně tvoří $(CH_2)_4$, $(CH_2)_5$, $(CH_2)_2O(CH_2)_2$ nebo $(CH_2)_2NH(CH_2)_2$,

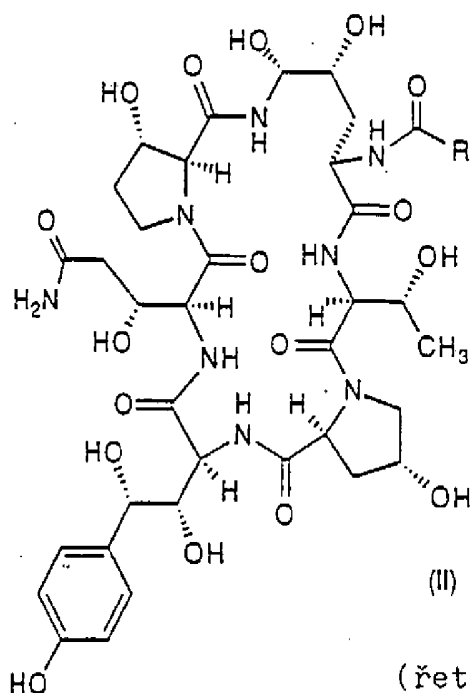
R^{IV} znamená vodík nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku,

R^V znamená vodík nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku,

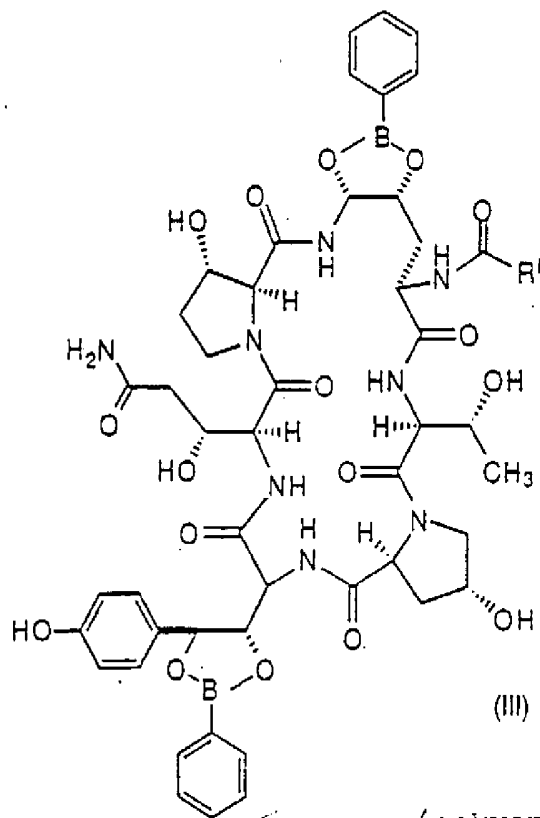
Q znamená atom dusíku nebo kyslíku,

jakož i farmaceuticky přijatelných adičních solí těchto látek s kyselinami, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se

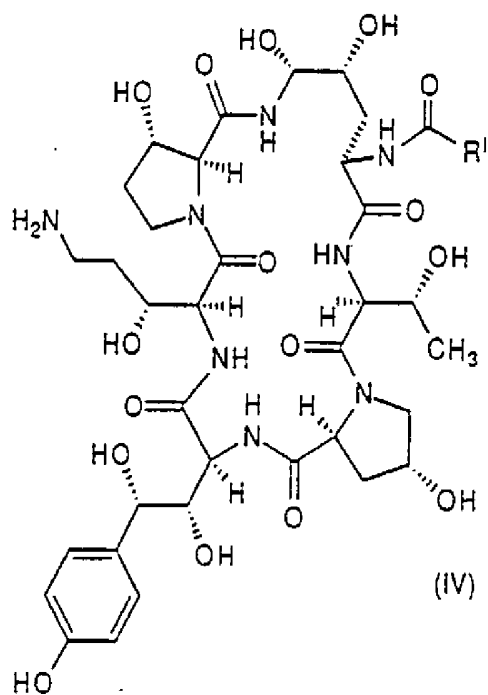
a) nechá reagovat sloučenina obecného vzorce II



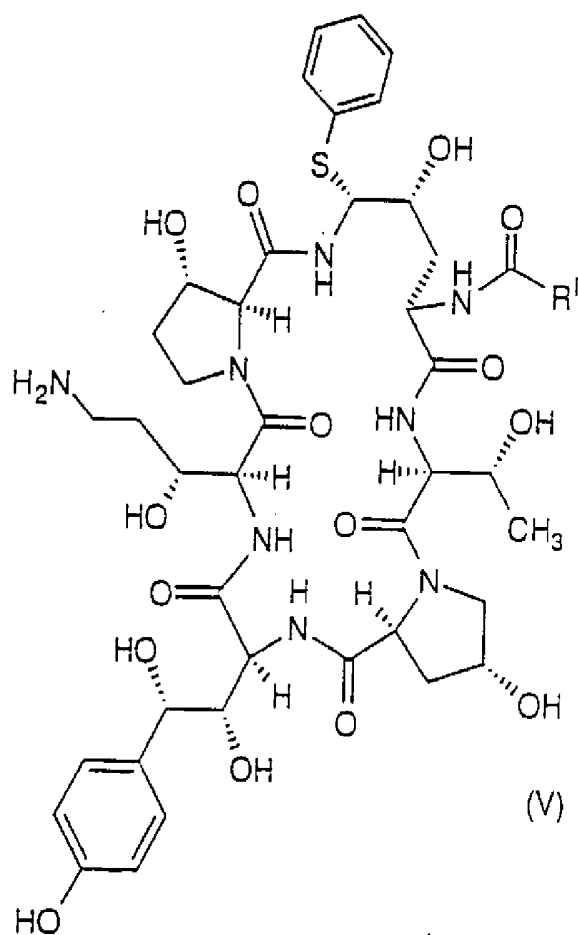
s kyselinou fenyloboritou, p-methoxyfenyloboritou nebo methanboritou za vzniku sloučeniny obecného vzorce III



b) tato látka se redukuje na amin a hydrolyzuje, čímž vzniká sloučenina obecného vzorce IV,



c) tato látka se nechá reagovat s thiofenolem ve vhodném rozpouštědle, čímž vznikne sloučenina obecného vzorce V



a tato látka se stereoselektivně převede na sloučeninu vzorce I odštěpením fenylthioskupiny.

2. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se redukce ve stupni b) uskuteční při použití boranového komplexu nebo hydroborátu kovu.

3. Způsob podle nároku 2, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se jako hydroborát kovu užije $\text{ZrCl}_4/\text{NaBH}_4$ nebo $\text{TiCl}_4/\text{NaBH}_4$ a jako boranový komplex se užije komplex boranu

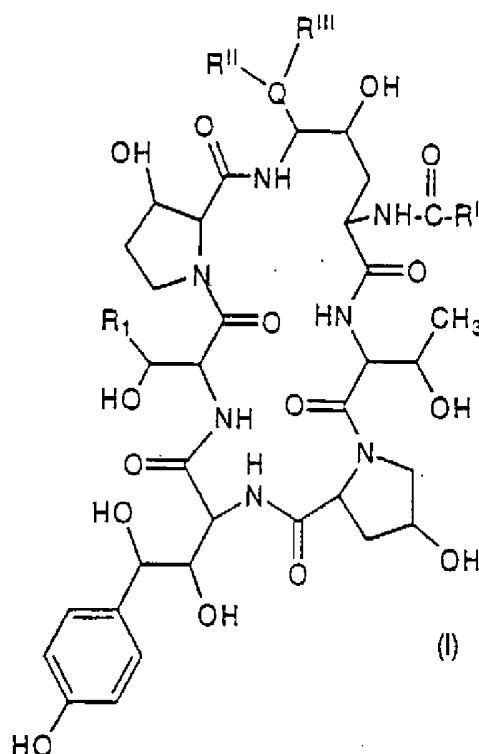
s dimethylsulfidem, dibenzylsulfidem, difenylsulfidem, THF nebo 1,4-oxathianem nebo BH_2Cl s dimethylsulfidem.

4. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se jako rozpouštědlo ve stupni c) užije acetonitril.

5. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se odstranění fenylothioskupiny provádí v čistém ethylendiaminu nebo ethylendiaminem, rozpuštěným ve vhodném rozpouštědle při teplotě 10 až 40 °C.

6. Způsob podle nároku 5, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se užije rozpouštědlo ze skupiny voda, methanol, ethanol, tetrahydrofuran, isopropanol, trifluorethanol, acetonitril nebo dichlormethan.

7. Způsob výroby azacyklohexapeptidových derivátů obecného vzorce I



(sekvence č. 1)

kde

R_1 znamená $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ nebo CH_2CONH_2 ,

R^I znamená alkyl o 9 až 21 atomech uhlíku,
alkenyl o 9 až 21 atomech uhlíku,
alkoxyfenyl o 1 až 10 atomech uhlíku,
alkoxynaftyl o 1 až 10 atomech uhlíku nebo
alkoxyterfenyl o 1 až 10 atomech uhlíku v alkoxylové
části,

R^{II} znamená atom vodíku, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku,
alkenyl o 3 až 4 atomech uhlíku,
 $(\text{CH}_2)_{2-4}\text{OH}$ nebo
 $(\text{CH}_2)_{2-4}\text{NR}^{IV}\text{R}^V$,

R^{III} znamená vodík, alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku, alkenyl
o 3 až 4 atomech uhlíku, $(\text{CH}_2)_{2-4}\text{OH}$, $(\text{CH}_2)_{2-4}\text{NR}^{IV}\text{R}^V$ nebo

R^{II} a R^{III} společně tvoří $(\text{CH}_2)_4$, $(\text{CH}_2)_5$, $(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2$ nebo
 $(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)_2$,

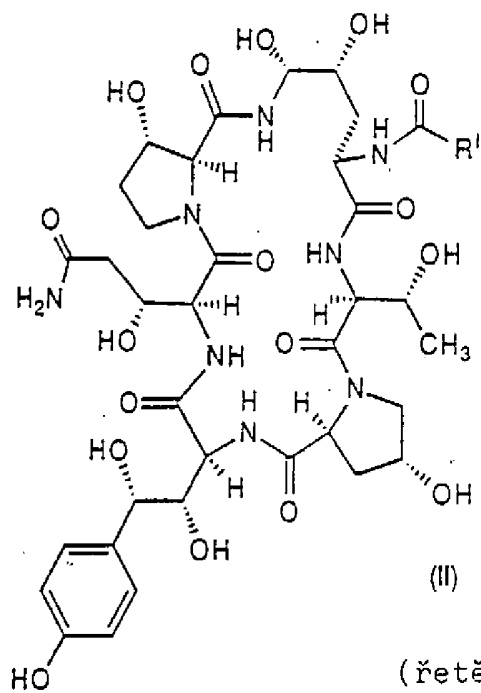
R^{IV} znamená vodík nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku,

R^V znamená vodík nebo alkyl o 1 až 4 atomech uhlíku,

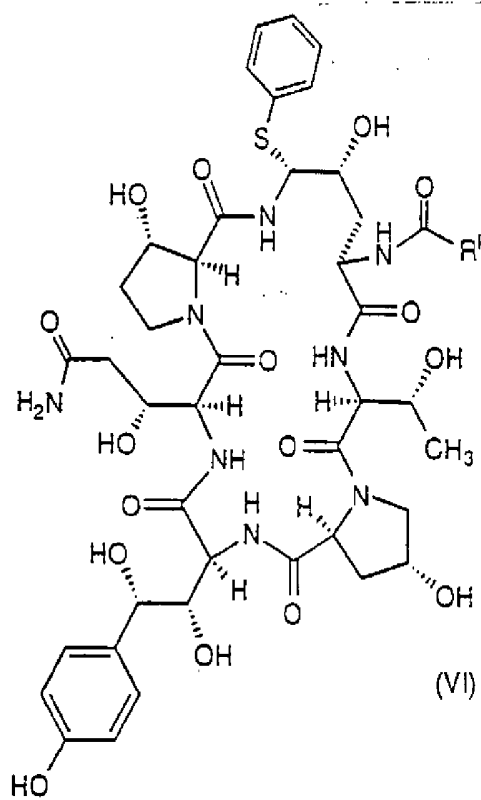
Q znamená atom dusíku nebo kyslíku,

jakož i farmaceuticky přijatelných adičních solí těchto látek
s kyselinami, v y z n a č u j í c í s e t í m, že se

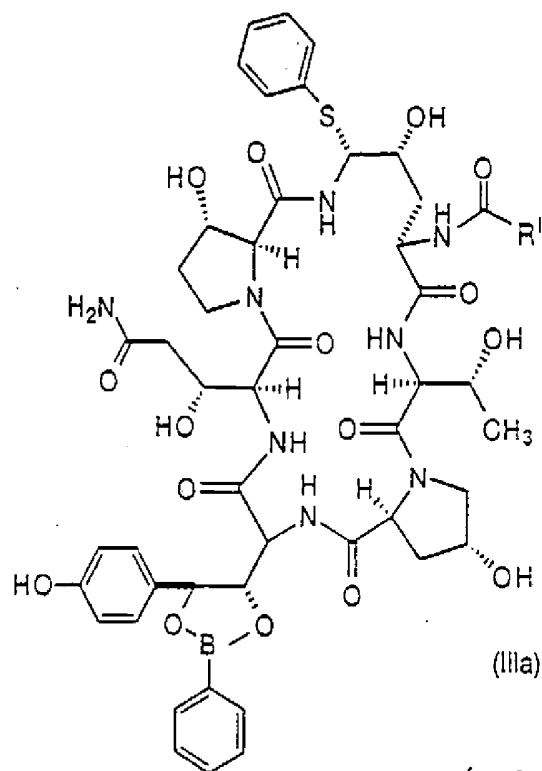
a) nechá reagovat sloučenina obecného vzorce II



s thiofenolem za vzniku sloučeniny obecného vzorce VI

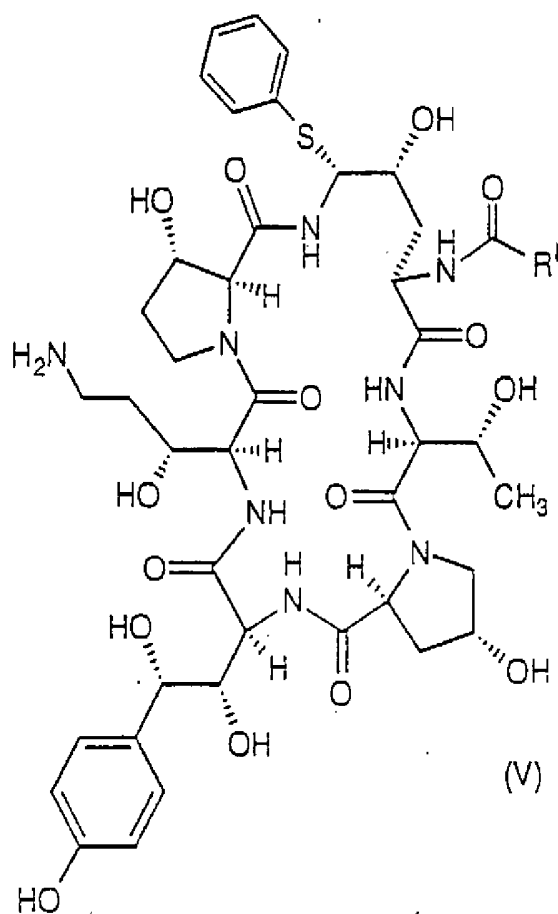


b) sloučeninu obecného vzorce VI se nechá reagovat s kyselinou fenyloboritou, p-methoxyfenyloboritou nebo methanoboritou za vzniku sloučeniny obecného vzorce IIIa



(sekvence č. 1)

c) sloučenina vzorce IIIa se redukuje na amin a hydrolyzuje, čímž se získá sloučenina obecného vzorce V



d) tato látka se odštěpením fenylthioskupiny stereo- selektivně převede na sloučeninu obecného vzorce I.

8. Způsob podle nároku 7, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se redukce ve stupni c) uskuteční při použití boranového komplexu nebo hydroborátu kovu.

9. Způsob podle nároku 8, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se jako hydroborát kovu užije $\text{ZrCl}_4/\text{NaBH}_4$ nebo $\text{TiCl}_4/\text{NaBH}_4$ a jako boranový komplex se užije komplex boranu s dimethylsulfidem, dibenzylsulfidem, difenylsulfidem, THF nebo 1,4-oxathianem nebo BH_2Cl s dimethylsulfidem.

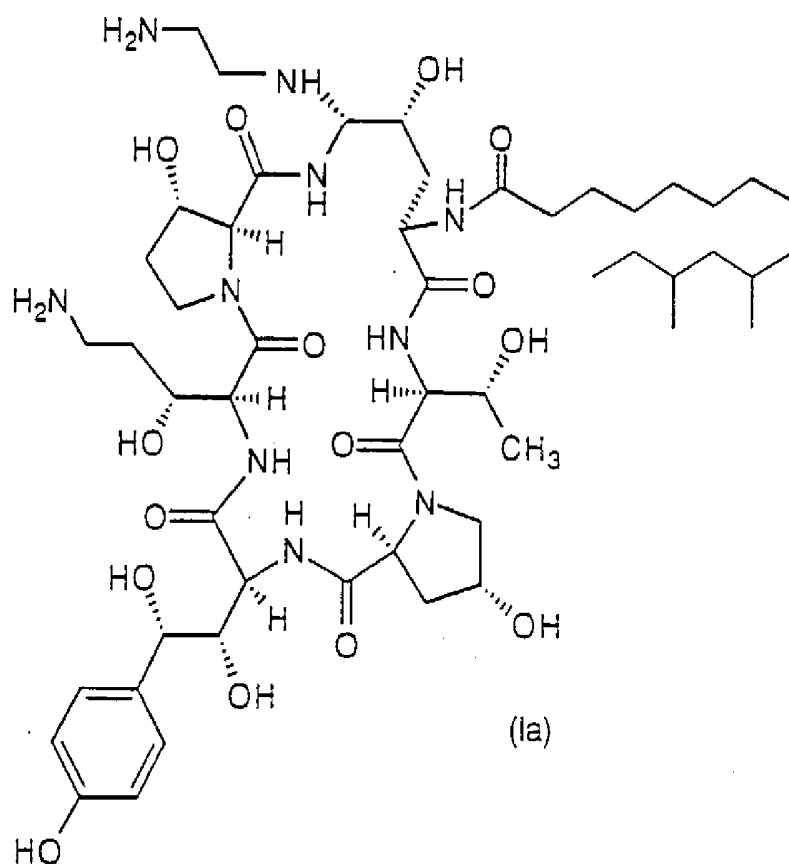
10. Způsob podle nároku 7, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se sloučenina obecného vzorce II převede na fenylsulfid reakcí s thiofenolem ve vhodném rozpouštědle.

11. Způsob podle nároku 10, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se reakce provádí v acetonitrilu.

12. Způsob podle nároku 7, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se odštěpení fenylthioskupiny provádí v čistém ethylendiaminu nebo působením ethylendiaminu, rozpuštěného ve vhodném rozpouštědle při teplotě 10 až 40 °C.

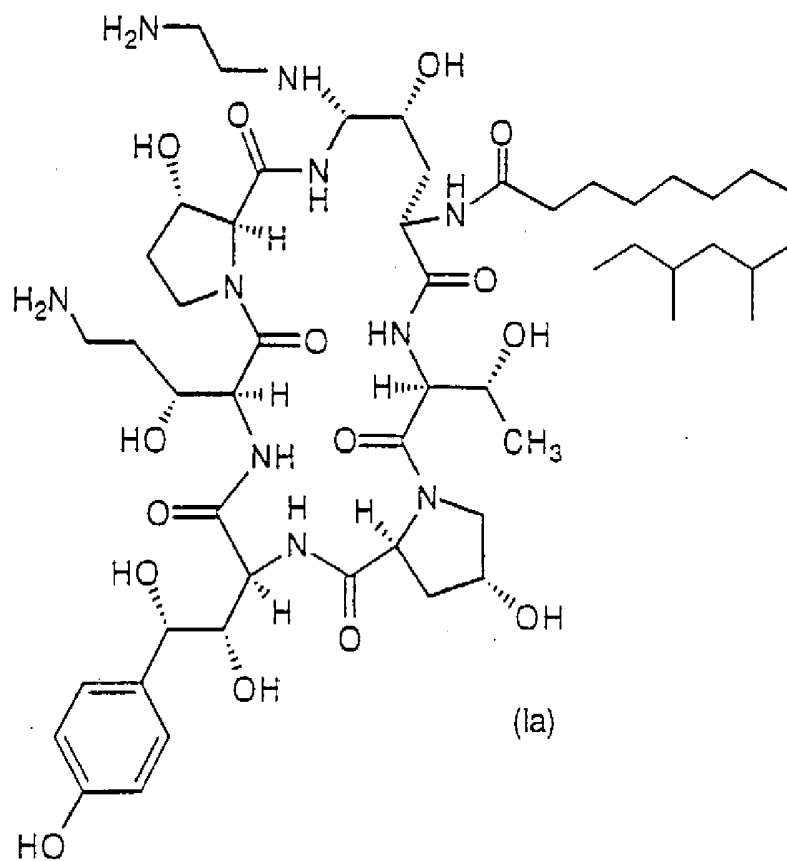
13. Způsob podle nároku 12, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se užije rozpouštědlo ze skupiny voda, ethanol, methanol, tetrahydrofuran, isopropanol, trifluorethanol, acetonitril nebo dichlormethan.

14. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m , že vede k přípravě sloučeniny obecného vzorce Ia



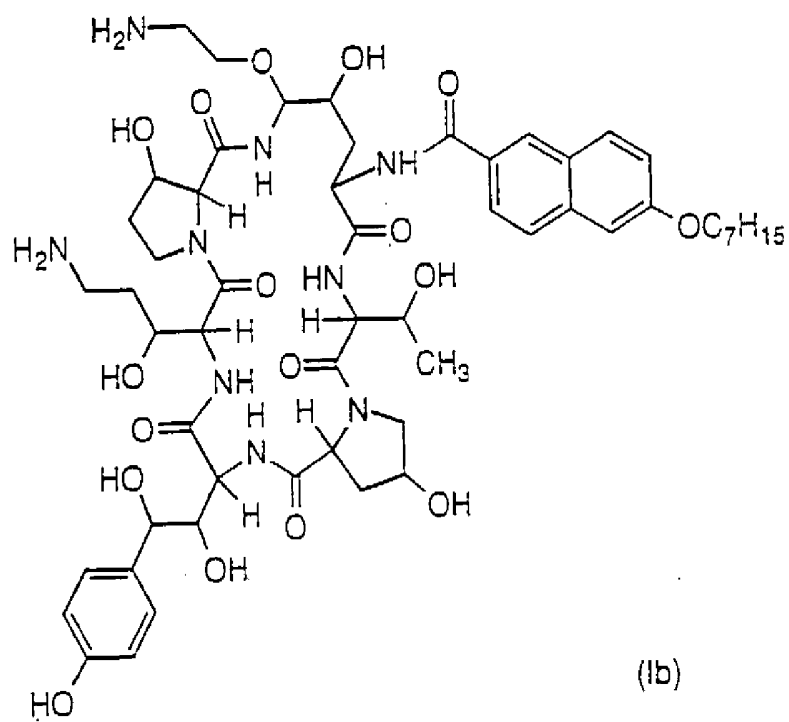
nebo její farmaceuticky přijatelné soli.

15. Způsob podle nároku 7, v y z n a č u j í c í s e
t í m , že vede k přípravě sloučeniny obecného vzorce Ia



nebo jejích farmaceuticky přijatelných solí.

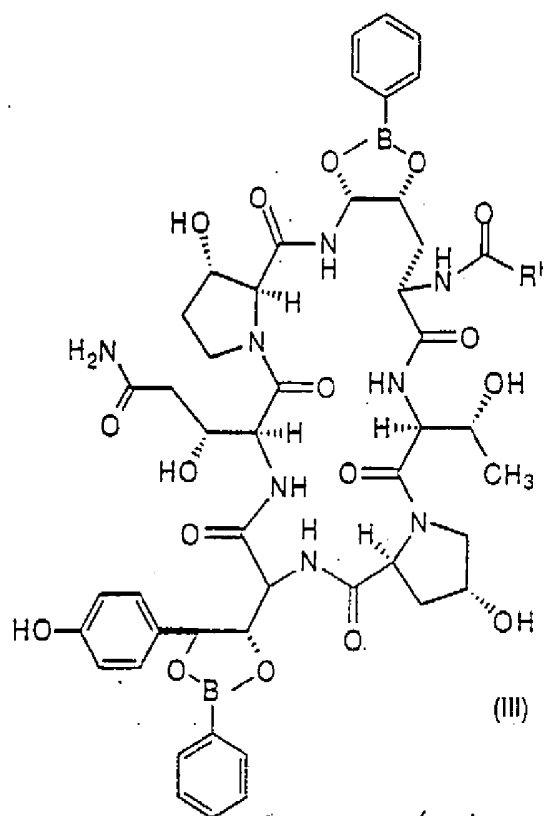
16. Způsob podle nároku 1, v y z n a č u j í c í s e
t í m , že vede k přípravě sloučeniny obecného vzorce Ib



(sekvence č. 1)

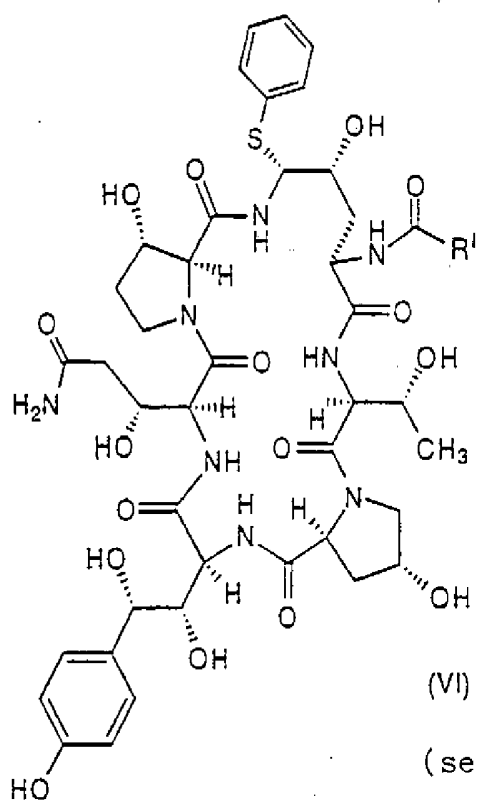
nebo jejích farmaceuticky přijatelných solí.

17. Sloučenina obecného vzorce III



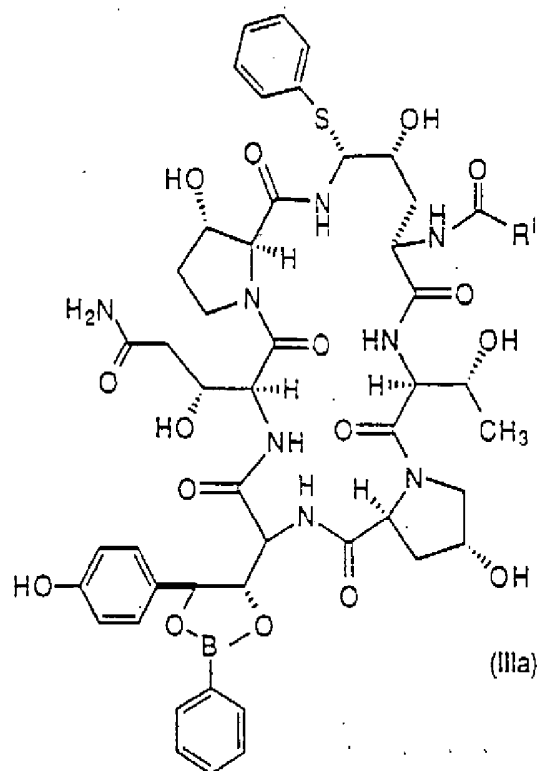
kde R^I má význam, uvedený v hlavním nároku.

18. Sloučenina obecného vzorce VI



kde R^I má význam, uvedený v nároku 1.

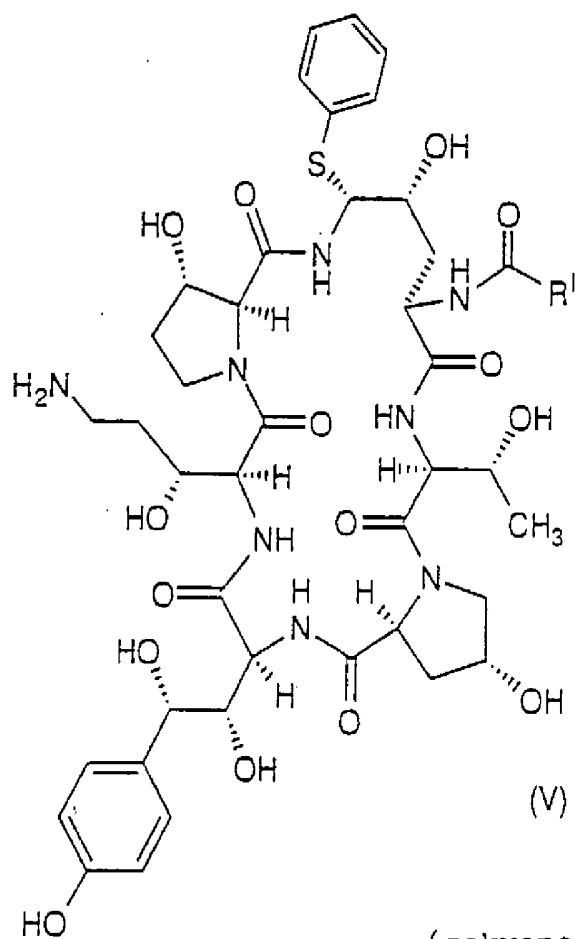
19. Sloučenina obecného vzorce IIIa



(sekvence č. 1)

kde R^I má význam, uvedený v nároku 1.

20. Sloučenina obecného vzorce V



kde R^I má význam, uvedený v nároku 1.

Zastupuje: