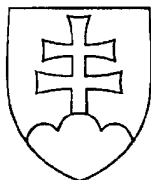


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA

- (22) Dátum podania prihlášky: 31. 8. 2001
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 60/229 398
60/277 641
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: 31. 8. 2000
21. 3. 2001
(33) Krajina alebo regionálna
organizácia priority: US, US
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: 3. 11. 2004
Vestník ÚPV SR č.: 11/2004
(62) Číslo pôvodnej prihlášky
v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: PCT/US01/26008
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: WO02/18369

(11), (21) Číslo dokumentu:

249-2003

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.7 :

C07D403/02

(71) Prihlasovateľ: ELI LILLY AND COMPANY, Indianapolis, IN, US;

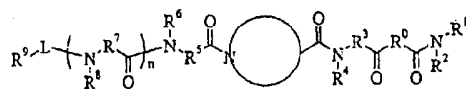
(72) Pôvodca: Babine Robert Edward, Franklin, MA, US;
Chen Shu Hui, Carmel, IN, US;
Lamar Jason Eric, Indianapolis, IN, US;
Snyder Nancy June, North Lizton, IN, US;
Sun Xicheng David, Superior, CO, US;
Tebbe Mark Joseph, Hamburg, DE;
Victor Frantz, Indianapolis, IN, US;
Wang Q. May, Indianapolis, IN, US;
Yip Yvonne Yee Mai, Indianapolis, IN, US;
Collado Ivan, Madrid, ES;
Garcia-Paredes Cristina, Madrid, ES;
Parker Raymond Samuel, III, Doylestown, PA, US;
Jin Ling, Carmel, IN, US;
Guo Deqi, Carmel, IN, US;
Glass John Irvin, Indianapolis, IN, US;

(74) Zástupca: Bezák Marián, Ing., Bratislava, SK;

(54) Názov: Peptidomimetické inhibítory proteáz

(57) Anotácia:

Sú opísané peptidomimetické zlúčeniny všeobecného vzorca (I) použiteľné ako inhibítory proteáz, obzvlášť ako inhibítory serínových proteáz a predovšetkým ako inhibítory NS3 proteáz vírusu hepatitídy C; medziprodukty na ich výrobu; ich príprava vrátane stereoselektívneho spôsobu výroby medziproduktov. Tiež sú opísané farmaceutické kompozície a použitie zlúčenín na inhibíciu HCV proteáz alebo na liečenie pacienta trpiaceho HCV infekciou alebo fyziologickými stavmi, ktoré s ňou súvisia, farmaceutické kombinácie, ktoré obsahujú okrem jedného alebo viacerých inhibítorov HCV serínovej proteázy jeden alebo viacero interferónov, ktoré sú účinné proti HCV a/alebo jednu alebo viacero zlúčenín, ktoré sú účinné proti HCV, a farmaceuticky prijateľný nosič.



(I)

PEPTIDOMIMETICKÉ INHIBÍTORY PROTEÁZ

Oblasť techniky

Predložený vynález sa týka peptidomimetických zlúčenín a medziproduktov na ich výrobu, ich prípravy vrátane stereoselektívneho spôsobu výroby medziproduktov, farmaceutických kompozícií, obsahujúcich peptidomimetické zlúčeniny a použitia peptidomimetických zlúčenín alebo kompozícií s ich obsahom ako inhibítorov proteáz, najmä ako inhibítorov serínových proteáz a predovšetkým ako inhibítorov NS3 proteáz vírusu hepatitídy C ("HCV"). Peptidomimetické zlúčeniny, ako sú inhibítory HCV NS3 proteáz, sú obzvlášť vhodné na interferenciu so životným cyklom vírusu hepatitídy C a pri liečení alebo prevencii HCV infekcií alebo fyziologických stavov, ktoré s ňou súvisia. Predložený vynález sa tiež týka spôsobov vykonávania kombináčnej terapie na inhibíciu replikácie HCV v bunkách alebo na liečenie alebo prevenciu HCV infekcie u pacienta použitím peptidomimetických zlúčenín alebo farmaceutických kompozícií alebo súprav a farmaceutických balení vytvorených na tento účel. Farmaceutické kompozície podľa predloženého vynálezu sú také, ktoré obsahujú inhibítor HCV serínovej proteázy v kombinácii s interferónom, ktorý je účinný proti HCV; inhibítor HCV serínovej proteázy v kombinácii so zlúčeninou, inou ako interferón, ktorá je účinná proti HCV; alebo inhibítor HCV serínovej proteázy v kombinácii s interferónom, ktorý je účinný proti HCV i so zlúčeninou, inou ako interferón, ktorá je účinná proti HCV. Predložený vynález sa ďalej týka stereoselektívnych spôsobov prípravy chirálnych bicykloprolinátových medziproduktov, použiteľných pri syntéze peptidomimetických zlúčenín.

Doterajší stav techniky

Infekcie spôsobené vírusom HCV predstavujú závažný problém v humánnej medicíne a v súčasnosti sa uznávajú ako príčina väčšiny prípadov hepatitídy, ktorá nie je typu A alebo B.

Predpokladá sa, že 3 % svetovej populácie sú chronicky infikované vírusom HCV (A. Alberti a kol., "Natural History of Hepatitis C", J. Hepatology, 31, (Suppl. 1), 17 - 24 (1999)). V samotných Spojených štátoch je úroveň infekcie 1,8 % alebo 3,9 miliónov osôb (M. J. Alter, "Hepatitis C Virus Infection in the United States", J. Hepatology, 31 (Suppl. 1), 88 - 91 (1999)). U viac ako 70 % pacientov sa vyvinie chronická infekcia, ktorá sa pokladá za hlavnú príčinu cirhózy a hepatocelulárneho karcinómu (D. Lavanchy, "Global Surveillance and Control of Hepatitis C", J. Viral Hepatitis, 6, 35 - 47, 1999)).

Replikácia HCV zahrňuje genomické kódovanie polyproteínu s 3010 - 3033 aminokyselinami (Q.- L. Choo a kol., "Genetic Organization and Diversity of the Hepatitis C Virus", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, 2451 - 2455 (1991)); N. Kato a kol., "Molecular Cloning of the Human Hepatitis C Virus Genome from Japanese Patients with Non-A, Non-B Hepatitis", Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 9524 - 9528 (1990); A. Takamizawa a kol., "Structure and Organization of the Hepatitis C Virus Genome Isolated from Human Carriers", J. Virol., 65, 1105 - 1113 (1991)). Predpokladá sa, že HCV neštruktúrne (NS) proteíny predstavujú základný katalytický mechanizmus vírusovej replikácie. NS proteíny vznikajú proteolytickým štiepením polyproteínu (R. Bartenschlager a kol., "Nonstructural Protein 3 of the Hepatitis C Virus Encodes a Serine-Type Proteinase Required for Cleavage at the NS3/4 and NS4/5 Junctions", J. Virol., 67, 3835 - 3844 (1993); A. Grakoui a kol., "Characterization of the Hepatitis C Virus-Encoded Serine Proteinase: Determination of Proteinase-Dependent Polyprotein Cleavage Sites", J. Virol., 67, 2832 - 2843 (1993); A. Grakoui a kol., "Expression and Identification of Hepatitis C Virus Polyprotein Cleavage Products", J. Virol., 67, 1385 - 1395 (1993), L. Tomei a kol., "NS3 is a serine protease required for processing of hepatitis C virus polyprotein", J. Virol., 67, 4017 - 4026 (1993)). Ukázalo sa, že prvých 181 aminokyselín NS3 (zvyšky 1027 - 1207 vírusového polyproteínu) obsahujú oblasť serínovej proteázy NS3, ktorá spracováva všetky štyri ďalej nasledujúce miesta HCV polyproteínu (C. Lin a kol., "Hepatitis C Virus NS3 Serine Proteinase: Trans-Cleavage Requirements and Processing Kinetics", J. Virol., 68, 8147 - 8157 (1994)).

HCV NS proteín 3 (NS3) má účinok serínovej proteázy, ktorý pomáha pri spracovaní väčšiny vírusových enzýmov, a teda sa pokladá za podstatný pre replikáciu a infekčné vlastnosti vírusu. Dôležitosť NS3 proteázy sa vyvodila z faktu, že mutácie NS3 proteázy vo víruse žltej horúčky znižujú infekčnosť vírusu (T. J. Chambers a kol., "Evidence that the A-terminal Domain of Nonstructural Protein NS3 From Yellow Fever Virus is a Serine Protease Responsible for Site-Specific Cleavages in the Viral Polyprotein", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87, 8898 - 8902 (1990)). Nedávno sa dokázalo, že mutácie aktívneho miesta HCV NS3 proteázy môžu úplne odstrániť HCV infekciu v šimpanzom modeli (C. M. Rice a kol., "Hepatitis C virus-encoded enzymatic activities and conserved RNA elements in the 3'-nontranslated region are essential for virus replication *in vivo*", *J. Virol.*, 74 (4), 2046 - 2051 (2000)). HCV NS3 serínová proteáza sa tiež pokladá za podstatnú pre replikáciu vírusu ako taká a s ňou súvisiaci kofaktor NS4A, pomáha pri spracovaní všetkých enzýmov vírusu. Zdá sa, že toto spracovanie je analogické spracovaniu aspartyllovej proteázy u vírusu ľudskej imunitnej nedostatočnosti ("HIV"). Okrem toho demonštrované použitie inhibítorov HIV proteáz ako potenciálnych protívirusových činidiel u človeka ukazuje, že prerušenie etapy spracovania proteázového proteínu v životnom cykle vírusu poskytuje terapeuticky účinné činidlá. V dôsledku toho sú proteázové enzýmy atraktívnym cieľom pri hľadaní nových liečiv.

Bolo opísaných niekoľko potenciálnych inhibítorov HCV proteáz. Publikované PCT prihlášky č. WO 00/09558, WO 00/09543, WO 99/64442, WO 99/07733, WO 99/07734, WO 99/50230, WO 98/46630, WO 98/17679 a WO 97/43310, US patent č. 5,990,276, M. Llinas-Brunet a kol., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 8, 1713 - 1718 (1998), W. Han a kol., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 10, 711 - 713 (2000), R. Dunsdon a kol., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 10, 1571 - 1579 (2000), M. Llinas-Brunet a kol., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 10, 2267 - 2270 (2000) a S. LaPlante a kol., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 10, 2271 - 2274 (2000) všetky opisujú potenciálne inhibítory HCV NS3 proteáz. Nanešťastie, v súčasnej dobe však nie sú k dispozícii žiadne inhibítory serínových proteáz ako činidlá proti HCV.

V skutočnosti nie sú k dispozícii žiadne terapie proti HCV s výnimkou interferónu- α , kombinácie interferónu- α /ribavírus a v nedávnej dobe pegylovaný interferón- α . Udržateľné pomery odozvy u terapií interferónom- α a kombináciou interferón- α /ribavirín sú však zvyčajne nízke (< 50 %) a vedľajšie účinky spôsobené týmto spôsobom liečby sú zvyčajne významné a závažné (M. A. Walker, "Hepatitis C Virus: an Overview of Current Approaches and Progress", DDT, 4, 518 - 529 (1999); D. Moradpour a kol., "Current and Evolving Therapies for Hepatitis C", Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 11, 1199 - 1202 (1999), H. L. A. Janssen a kol., "Suicide Associated with α -Interferon Therapy for Chronic Viral Hepatitis", J. Hepatol., 21, 241 - 243 (1994); a P. F. Renault a kol., "Side effects of alpha interferon", Seminars in Liver Disease, 9, 273 - 277 (1989)). Okrem toho interferónové terapie indukujú dlhodobý ústup choroby len u zlomku prípadov (približne 25 %) (O. Weiland, "Interferon Therapy in Chronic Hepatitis C Virus Infection", FEMS Mikrobiol. Rev., 14, 279 - 288 (1994)). Vyššie uvedené problémy liečenia pomocou interferónu- α dokonca viedli k vývoju a klinickým skúškam pegylačne derivatizovaných zlúčenín na základe interferónu- α ako zlepšených liečiv proti HCV.

Vzhľadom k súčasnej situácii týkajúcej sa liečiv proti HCV je zrejmé, že pretrváva potreba účinnejších a lepšie znášaných spôsobov liečenia.

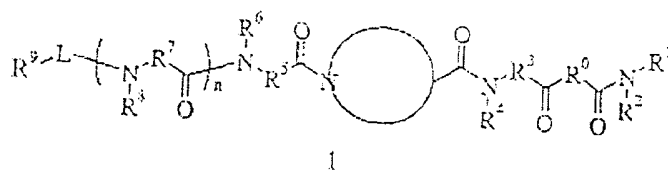
Okrem toho sa syntéza zložitých peptidomimetických zlúčenín dlho brzdila nestereoselektívnou povahou väčšiny spôsobov organickej syntézy. Je dobre známe, že terapeutický účinok enantiomérov peptidomimetických zlúčenín sa mení v širokých rozmedziach. Získanie takýchto stereošpecifických spôsobov syntézy je preto veľkým prínosom.

Predchádzajúce pokusy syntetizovať chirálne špecifické bicykloprolinátové medziprodukty, použiteľné pri syntéze terapeutických peptidomimetických inhibítorov proteáz dlho trpeli kvôli tomu, že neboli enantioselektívne alebo diastereoselektívne alebo zahrňovali dlhé postupnosti krokov syntézy alebo boli nevhodné na prípravu veľkého množstva produktu. Preto tiež existuje potreba spôsobov prípravy veľkých množstiev bicykloprolinátov diastereoselektívnym spôsobom a v enantiomericky

obohatenej forme.

Podstata vynálezu

Predložený vynález sa týka peptidomimetickej zlúčeniny všeobecného vzorca 1:



v ktorom

R^0 je väzba alebo difluórmetylén;

R^1 je atóm vodíka, prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina;

R^2 a R^9 sú každý nezávisle prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina;

R^3 , R^5 a R^7 sú každý nezávisle (prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina), (prípadne substituovaný metylén alebo prípadne substituovaný etylén), prípadne substituovaný (1,1- alebo 1,2)-cykloalkylén alebo prípadne substituovaný (1,1- alebo 1,2)-heterocyklylén;

R^4 , R^6 , R^8 a R^{10} sú každý nezávisle atóm vodíka alebo prípadne substituovaná alifatická skupina;



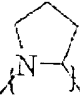
je substituovaný monocyklický azaheterocyklyl alebo prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl alebo prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklenyl, v ktorom nenasýtenosť je v kruhu vzdialenom od kruhu nesúceho skupinu $R^9-L-(N(R^8)-R^7-C(O)-)_nN(R^6)-R^5-C(O)-N$ a ku ktorému je viazaná skupina $-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)C(O)_nR^2R^1$;

L je $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-NR^{10}C(O)-$, $-S(O)_2-$ alebo $-NR^{10}S(O)_2-$;

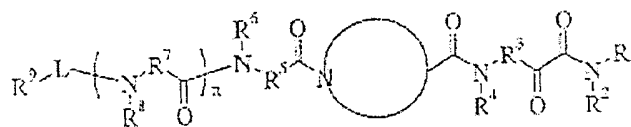
a

n je 0 alebo 1,

alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ alebo prekurzor alebo solvát takejto zlúčeniny, jej soli alebo jej prekurzora,

s podmienkou, že pokiaľ  je substituovaný , potom L je $-OC(O)-$ a R^9 je prípadne substituovaná alifatická skupina alebo aspoň jeden z R^3 , R^5 a R^7 je (prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina) (prípadne substituovaný etándiyl), alebo R^4 je prípadne substituovaná alifatická skupina.

Predložený vynález sa tiež týka zlúčeniny, ktorá má štruktúrny všeobecný vzorec:



v ktorom

R^1 je atóm vodíka, prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická

skupina;

R^2 a R^9 sú každý nezávisle prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina;

R^3 , R^5 a R^7 sú každý nezávisle (prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina) (prípadne substituovaný metándiyl alebo prípadne substituovaný etándiyl);

R^4 , R^6 , R^8 a R^{10} sú každý nezávisle atóm vodíka alebo prípadne substituovaná alifatická skupina;



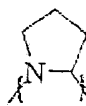
je substituovaný monocyklický azaheterocyklyl alebo prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl alebo prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklenyl, v ktorom nenasýtenosť je v kruhu vzdialenom od kruhu nesúceho skupinu $R^9-L-(N(R^8)-R^7-C(O)-)_n N(R^6)-R^5-C(O)-N$, a ku ktorému je viazaná skupina $-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)C(O)_n R^2 R^1$;

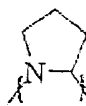
L je $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-NR^{10}C(O)-$, $-S(O)_2-$ alebo $-NR^{10}S(O)_2-$;

a

n je 0 alebo 1,

alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ alebo prekursor, alebo solvát takejto zlúčeniny, jej soli alebo jej prekursora,



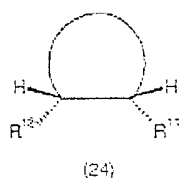
s podmienkou, že pokiaľ je substituovaný , potom L je $-OC(O)-$ a R^9 je prípadne substituovaná alifatická skupina, alebo aspoň jeden z R^3 , R^5 a R^7 je (prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina) (prípadne substituovaný etándiyl) alebo R^4 je prípadne substituovaná

alifatická skupina.

Predložený vynález sa tiež týka farmaceutickej kompozície obsahujúcej zlúčeninu všeobecného vzorca 1 a spôsobu použitia zlúčeniny všeobecného vzorca 1 na inhibíciu HCV proteázy alebo liečenie alebo prevenciu HCV infekcie u pacienta alebo fyziologického stavu vzťahujúceho sa k infekcii.

Predložený vynález sa tiež týka stereoselektívneho spôsobu prípravy chirálnej bicykloprolinátovej zlúčeniny, ktorá je medziproduktom použiteľným na prípravu zlúčeniny všeobecného vzorca 1. Spôsob syntézy zahŕňa nasledujúce kroky:

(a) štiepenie a cyklizácia zlúčeniny všeobecného vzorca 24



v ktorom



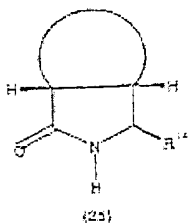
je prípadne substituovaný cykloalkyl alebo prípadne substituovaný kondenzovaný arylcykloalkyl;

R^{11} je $-\text{CO}_2R^{13}$;

R^{12} je imínový glycínimidový adukt;

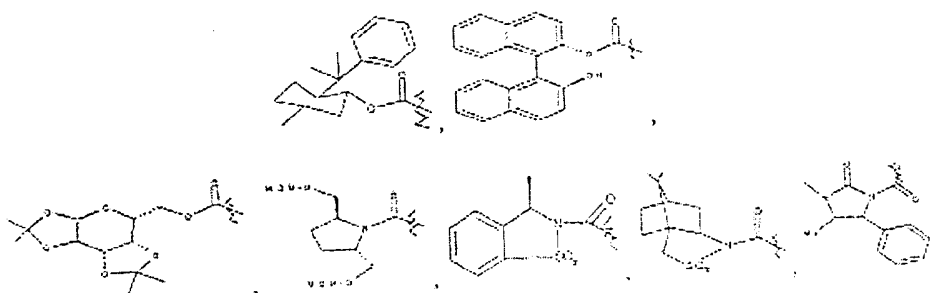
R^{13} je ochranná skupina kyseliny alebo prípadne substituovaná alifatická skupina;

za podmienok štiepenia a cyklizácie kvôli vytvoreniu zlúčeniny všeobecného vzorca 25



v ktorom

R^{14} je $\text{CONR}^{15}\text{R}^{15}$, CN ;

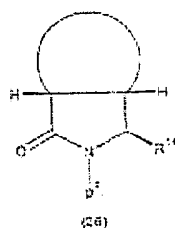


alebo $-\text{CO}_2\text{R}^{16}$;

R^{15} je prípadne substituovaná alifatická skupina;

R^{16} je ochranná skupina kyseliny, prípadne substituovaný aryl alebo prípadne substituovaná alifatická skupina; a

(b) ochrana atómu dusíka laktámovej časti zlúčeniny všeobecného vzorca 25 ochrannou skupinou amidu kvôli vytvoreniu zlúčeniny všeobecného vzorca 26

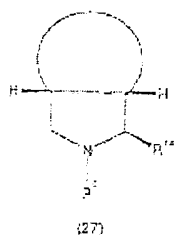


v ktorom

p^0 je ochranná skupina amidu;

R^{14} je ako bolo opísané vyššie; a

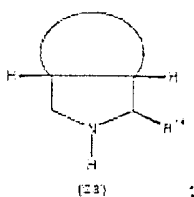
(c) redukcia zlúčeniny všeobecného vzorca 26 za redukčných podmienok kvôli vytvoreniu zlúčeniny všeobecného vzorca 27



v ktorom

p^0 a R^{14} sú ako bolo opísané vyššie; a

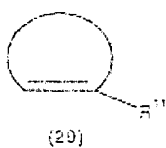
(d) odstránenie ochrannej skupiny zlúčeniny všeobecného vzorca 27 za podmienok vhodných na odstránenie ochrannej skupiny, kvôli vytvoreniu zlúčeniny všeobecného vzorca 28



v ktorom

R^{14} je ako bolo opísané vyššie.

Predložený vynález sa ďalej týka vyššie uvedeného spôsobu syntézy, ktorý ďalej zahrňuje krok, v ktorom sa zlúčenina všeobecného vzorca 24 pripraví vykonaním Michaelovej adície imínovej glycínimidovej zlúčeniny na zlúčeninu všeobecného vzorca 29

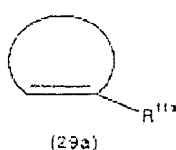


v ktorom

je prípadne substituovaný cykloalkenyl alebo prípadne substituovaný kondenzovaný arylcykloalkenyl;

R^{11} je $-\text{CO}_2R^{13}$;

kde zlúčenina všeobecného vzorca 29 sa môže pripraviť esterifikáciou zlúčeniny všeobecného vzorca 29a



v ktorom



je prípadne substituovaný cykloalkenyl alebo prípadne substituovaný kondenzovaný arylcykloalkenyl;

R^{11a} je $-\text{CHO}$, $-\text{COR}^{15}$, $-\text{C}\equiv\text{N}$ alebo $-\text{CONR}^{15}\text{R}^{15}$; a

R^{15} je ako bolo opísané vyššie.

Odborník v odbore predovšetkým vie, že premena ketónov na estery sa môže dosiahnuť napríklad Bayer-Villigerovou reakciou. Premena nitrilov a amidov na estery sa môže dosiahnuť napríklad vodnou hydrolýzou, nasledovanou ďalšou esterifikáciou. Premena aldehydov na estery sa môže dosiahnuť napríklad oxidáciou aldehydu nasledovanou esterifikáciou.

Predložený vynález sa ďalej týka zlúčeniny všeobecného vzorca 1, v ktorej substituenty sú zvolené zo súboru, zahrňujúceho kombinácie výhodných alebo zvláštnych uskutočnení, ktoré sa budú definovať.

Predložený vynález sa ďalej týka zlúčenín všeobecných vzorcov 24 - 29, kde substituenty sú zvolené zo súboru, zahrňujúceho kombinácie výhodných alebo zvláštnych uskutočnení, ktoré sa budú definovať.

Predložený vynález sa ďalej týka farmaceutických kompozícií obsahujúcich okrem jedného alebo viacerých inhibítorov HCV serínových proteáz tiež jeden alebo viacero interferónov alebo zlúčenín, ktoré indukujú tvorbu interferónov, ktoré vykazujú účinok proti HCV a/alebo jednu alebo viacero zlúčenín, ktoré majú HCV aktivitu, vrátane imunomodulačných zlúčenín, ako sú imunostimulačné cytokíny, vykazujúce HCV protívírusový účinok, a farmaceuticky prijateľný nosič.

Predložený vynález sa ďalej týka spôsobov liečenia alebo prevencie HCV infekcie u pacienta, ktorý ho potrebuje, ktorý zahŕňa podávanie uvedenému pacientovi farmaceuticky účinné množstvo kombinácie jedného alebo viacerých inhibítorov HCV serínových proteáz; jedného alebo viacerých interferónov alebo zlúčenín, ktoré indukujú tvorbu interferónu, ktorý vykazuje účinok proti HCV; a/alebo jednej alebo viacerých zlúčenín, ktoré sú účinné proti HCV, vrátane imunomodulačných zlúčenín ako sú imunostimulačné cytokíny vykazujúce HCV protívírusový účinok.

Predložený vynález sa ďalej týka použitia jedného alebo viacerých inhibítorov HCV serínových proteáz v kombinácii s jedným alebo viacerými interferónmi alebo zlúčeninami, ktoré indukujú tvorbu interferónu, ktorý vykazuje účinok proti HCV a/alebo jednej alebo viacerých zlúčenín, ktoré sú účinné proti HCV, vrátane imunomodulačných zlúčenín ako sú imunostimulačné cytokíny vykazujúce HCV protívírusový účinok, na prípravu liečiva na liečenie alebo prevenciu HCV infekcie u pacienta, ktorý ho potrebuje.

Predložený vynález sa tiež týka súpravy alebo farmaceutického balenia na liečenie alebo prevenciu HCV infekcie u pacienta, kde súprava alebo farmaceutické balenie obsahuje dve alebo viacero oddelených nádobiek, kde aspoň jedna uvedená nádobka obsahuje jeden alebo viacero inhibítorov HCV serínových proteáz (samotných alebo v kombinácii s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo riedidlom), aspoň jedna ďalšia uvedená nádobka obsahuje jeden alebo viacero interferónov alebo zlúčenín, ktoré indukujú tvorbu interferónu, ktorý vykazuje účinok proti HCV (samotný alebo v kombinácii s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo riedidlom) a prípadne aspoň jedna

uvedená nádobka obsahuje jednu alebo viacero zlúčenín, ktoré sú účinné proti HCV (samotné alebo v kombinácii s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo riedidlom), vrátane imunomodulačných zlúčenín, ako sú imunostimulačné cytokíny vykazujúce HCV protivírusový účinok.

Množstvo inhibítora alebo inhibítorov HCV serínových proteáz, interferónu alebo interferónov alebo zlúčeniny alebo zlúčenín s účinkom proti HCV vo vyššie uvedených aplikáciách môže byť farmaceuticky účinné množstvo, subklinické množstvo účinné proti HCV alebo ich kombinácie, pokiaľ výsledná kombinácia inhibítora alebo inhibítorov HCV serínových proteáz, interferónu alebo interferónov alebo zlúčeniny alebo zlúčenín, alebo zlúčenín, ktoré indukujú tvorbu interferónu, ktorý vykazuje účinok proti HCV a/alebo zlúčeniny alebo zlúčenín, ktoré vykazujú účinok proti HCV, zahŕňa farmaceuticky účinné množstvo zlúčenín, ktoré je účinné na liečenie alebo prevenciu HCV infekcie u pacienta.

Prehľad obrázkov na výkresoch

Vyššie uvedené a ďalšie znaky, charakteristiky a výhody predloženého vynálezu budú lepšie pochopiteľné po nasledujúcom detailnom opise, ktorý využíva priložené obrázky, ktoré sú všetky uvedené len ako ilustrácia a neobmedzujú predložený vynález, kde:

Obr. 1 ukazuje inhibíciu akumulácie HCV replikónovej RNA po 48 hodinách ošetrovania buniek, obsahujúcich replikón, zlúčeninou CU a interferénom- α 2B, individuálne alebo v kombinácii.

Obr. 2 graficky ukazuje izobolovú konkávnosť, ktorú vykazujú zlúčeniny, používané v kombinácii, ktoré sú antagonistické, aditívne a synergické podľa spôsobu výpočtu synergie, ako ho opísali Greco, Park a Ruston ((1990) Application of a New Approach for the Quantitation of Drug Synergism to the Combination of cis-Diamminedichloroplatinum and 1- β -D-Arabinofuranosylcytosine, Cancer Research, 50, 5318 - 5327).

Obr. 3 ukazuje geometrický vzťah medzi α a zakrivením izoboly.

Hypotetická izobola pre hladinu účinku $E = 50 \%$ je znázornená priamkovou izobolou, ktorá by sa čakala v prípade aditívnosti. M je priesečník priamky $y = x$ a hypotetickej izoboly. N je priesečník priamky $y = x$ a priamkovej izoboly. O je začiatok (0,0). S označuje zakrivenie izoboly, kde $S = ON/OM$. ON je vzdialenosť od O k N a OM je vzdialenosť od O k M. Parameter α súvisí s S rovnicou $\alpha = 4 (S^2 - S)$.

Obr. 4 ukazuje výpočet izoboly použitím spôsobu, ktorý opísali Greco a kol., supra, pre kombináciu zlúčeniny CU a interferónu α -2B (Schering - Plough) použitím 6 riedení každej zlúčeniny v Experimente 1.

Obr. 5 ukazuje výpočet izoboly použitím spôsobu, ktorý opísali Greco a kol., supra, pre kombináciu zlúčeniny CU a interferónu α -2A použitím 6 riedení každej zlúčeniny v Experimente 2.

Obr. 6 ukazuje výpočet izoboly použitím spôsobu, ktorý opísali Greco a kol., supra, pre kombináciu zlúčeniny CU a interferónu α -2B (Schering - Plough) použitím 8 riedení každej zlúčeniny v Experimente 3.

Obr. 7 ukazuje výpočet izoboly použitím spôsobu, ktorý opísali Greco a kol., supra, pre kombináciu zlúčeniny CU a interferónu α -2A použitím 8 riedení každej zlúčeniny v Experimente 4.

Obr. 8 ukazuje výpočet izoboly použitím spôsobu, ktorý opísali Greco a kol., supra, pre kombináciu zlúčeniny CU a ovčieho interferónu tau použitím 8 riedení každej zlúčeniny v Experimente 5.

Obr. 9 ukazuje výpočet izoboly použitím spôsobu, ktorý opísali Greco a kol., supra, pre kombináciu zlúčeniny EC a interferónu α -2B (Schering - Plough) použitím 8 riedení každej zlúčeniny v Experimente 6.

Obr. 10 ukazuje výpočet izoboly použitím spôsobu, ktorý opísali Greco a kol., supra, pre kombináciu zlúčeniny EC a interferónu α -2A použitím 8 riedení každej zlúčeniny v Experimente 7.

Obr. 11 ukazuje výpočet izoboly použitím spôsobu, ktorý opísali Greco a kol., supra, pre kombináciu zlúčeniny CU a interferónu β použitím 8 riedení

každej zlúčeniny v Experimente 8.

Obr. 12 ukazuje výpočet izoboly použitím spôsobu, ktorý opisali Greco a kol., supra, pre kombináciu zlúčeniny EP a interferónu α -2B (Schering - Plough) použitím 8 riedení každej zlúčeniny v Experimente 9.

Obr. 13 ukazuje výpočet izoboly použitím spôsobu, ktorý opisali Greco a kol., supra, pre kombináciu Ribavirínu a interferónu α -2B (Schering - Plough) použitím 8 riedení každej zlúčeniny v Experimente 10.

Obr. 14 ukazuje inhibíciu akumulácie HCV replikónovej RNA spôsobenú ošetrovaním replikónových buniek buď (A) Ribavirínom samotným alebo (B) interferónom α -2B samotným. Na oboch nákresoch je znázornená inhibícia rovnako ako inhibícia korigovaná na cytotoxicitu zlúčenín.

Detailný opis predloženého vynálezu

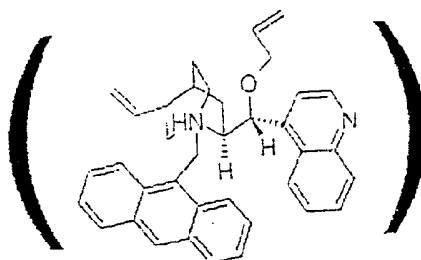
Obsah každého z patentových dokumentov a ďalších referencií tu uvedených je tu v celom svojom rozsahu zahrnutý ako referencia.

Ako sa použili vyššie a ako sa používajú ďalej v celom opise predloženého vynálezu, nasledujúce skratky, pokiaľ nie je uvedené inak, majú nasledujúce významy:

Označenie	Reakčné činidlo alebo fragment
ACN	acetonitril
AIBN	2,2'-azobisisobutyronitril
BOC alebo Boc	terc-butylkarbamát
BOP	benzotriazol-1-yl-oxytris(dimetylamino)fosfónium hexafluórfosfát
n-Bu ₃ SnH	hydrid tri-n-butylcínu
t-Bu	terc-butyl
Cbz	benzylkarbamát

chirálny PTC

chirálny katalyzátor prenosu fázy



DAST

(diethylamino)sulfurtrifluorid (Et_2NSF_3)

DCC

dicyklokarbodiimid

DCM

dichlórmétán (CH_2Cl_2)

DIBAL-H

diizobutylalumínium hydrid

DIC

1,3-diizopropylkarbodiimid

DIPEA

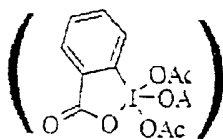
diizopropyletylamín

DMAP

4-(N,N-dimetylamino)pyridín

Činidlo DMP

Dess-Martinovo periodinánové činidlo



DMF

dimetylformamid

DMSO

dimetylsulfoxid

EA

elementárna analýza

EDCI

1-etyl-3-(3-dimetylamino)propyl)karbodiimid HCl

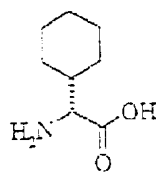
ekv.

ekvivalent(y)

Et

etyl

Et ₂ O	dietyléter
EtOH	etanol
EtOAc	etylacetát
Et ₃ Si	trietylsilán
Fmoc	9-fluórenylmetoxykarbonyl



H-Chg-OH	
HOAt	1-hydroxy-7-azabenzotriazol
HOBT	1-hydroxybenztriazol
HOSu	N-hydroxysukcínamid
HPLC	vysokovýkonná kvapalinová chromatografia
LAH	lítium alumínium anhydrid
Me	metyl
Mel	metyljodid
MeOH	metanol
MeOC(O)Cl	metylchlórmravčan
MOMCl	metoxymetylchlorid
MOM	metoxymetyl
MS	hmotnostná spektroskopia
NaBH ₄	bórhydrid sodný
Na ₂ C ₄ H ₄ O ₆	vínan sodný
NMP	N-metylpyrolidinón

NMR	nukleárna magnetická rezonancia
P-	polymerizačná väzba
PyBOP	benzotriazol-1-yl-oxytris-pyrolidino-fosfónium hexafluórfosfát
TBD	1,5,7-triazabicyklo[4.4.0]dec-5-én
RP-HPLC	vysokotlaková kvapalinová chromatografia s obrátenými fázami
TBSCI	terc-butyldimetylsilylchlorid
TCA	kyselina trichlóroctová
TFA	kyselina trifluóroctová
Tf ₂ O	triflát anhydrid
THF	tetrahydrofurán
THP	tetrahydropyrán
TLC	chromatografia na tenkej vrstve

Ako sa používali vyššie a pri opise predloženého vynálezu, majú nasledujúce výrazy, pokiaľ nie je uvedené inak, nasledujúce významy:

"Kyslý bioizoster" znamená skupinu, ktorá má chemicky a fyzikálne podobné vlastnosti, ktoré predstavujú širokú škálu podobných biologických vlastností s karboxylovou skupinou (pozri Lipinski, Annual Reports in Medicinal Chemistry, "Bioisosterism in Drug Design", 21, 283 (1986); Yun, Hwahak Sekye, "Application of Bioisosterism to New Drug Design", 33, 576 - 579 (1993); Zhao, Huaxue Tongbao, "Bioisosteric Replacement and Development of Lead Compounds in Drug Design", 34 - 38 (1995); Graham, Theochem, "Theoretical Studies Applied to Drug Design: ab initio Electronic Distributions in Bioisosteres", 343, 105 - 109 (1995)). Príklady kyslých bioizosterov zahrňujú -C(O)-NHOH, -C(O)-CH₂OH, -C(O)-CH₂SH, -C(O)-NH-CN, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxycarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-

oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl a podobne.

"Kyslá funkčná skupina" znamená skupinu, obsahujúcu kyslý atóm vodíka. Príklady kyslých funkčných skupín zahrňujú karboxyl ($-\text{C}(\text{O})\text{OH}$), $-\text{C}(\text{O})\text{NHOH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_2\text{SH}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH-CN}$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxycarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, imidazolyl, merkpto a podobne a vhodnú skupinu hydroxy, ako je skupina hydroxy na aromatickej skupine, napríklad hydroxyfenyl.

"Ochranná skupina kyseliny" znamená ľahko odstrániteľnú skupinu, o ktorej je v odbore známe, že chráni kyslý atóm vodíka karboxylovej skupiny proti nežiaducim reakciám v priebehu syntézy, napríklad blokuje alebo chráni kyslú funkčnú skupinu, zatiaľ čo prebiehajú reakcie týkajúce sa ďalších funkčných miest zlúčeniny a ochrannú skupinu je možné odstrániť selektívne. Takéto ochranné skupiny kyselín sú dobre známe odborníkom v odbore a používajú sa na ochranu karboxylových skupín, ako sú opísané v US patentoch č. 3,840,556 a 3,719,667, ktoré sú tu zahrnuté ako referencie. Príklady vhodných ochranných skupín kyselín sú uvedené v monografii T. W. Greene a P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991. Ochranné skupiny kyselín tiež zahrňujú hydrogenačne labilné ochranné skupiny kyselín, ako sú tu definované. Príklady ochranných skupín kyselín zahrňujú estery, ako je substituovaný a nesubstituovaný $\text{C}_1\text{-C}_8$ nižší alkyl, napríklad metyl, etyl, terc-butyl, metoxymetyl, metyltiometyl, 2,2,2-trichlóretyl a podobne, tetrahydropyranyl, substituovaný a nesubstituovaný fenylalkyl ako je benzyl a jeho substituované deriváty ako je alkoxybenzyl alebo nitrobenzyl a podobne, cínamyl, dialkylaminoalkyl, napríklad dimetylaminoetyl a podobne, trimetylsilyl, substituované a nesubstituované amidy a hydrazidy, napríklad amidy a hydrazidy skupín N,N-dimetylamin, 7-nitroindol, hydrazín, N-fenylhydrazín a podobne, acyloxyalkylové skupiny ako je pivaloyloxymetyl alebo propionyloxymetyl a podobne, aroyloxyalkyl ako je

benzoyloxyetyl a podobne, alkoxykarbonylalkyl ako je metoxykarbonylmetyl, cyklohexyloxykarbonyletyl a podobne, alkoxykarbonyloxyalkyl ako je terc-butyloxykarbonyloxymetyl a podobne, alkoxykarbonylaminoalkyl ako je terc-butyloxykarbonylaminometyl a podobne, alkylaminokarbonylaminoalkyl ako je metylaminokarbonylaminometyl a podobne, acylaminoalkyl ako je acetylaminometyl a podobne, heterocyklylkarbonyloxyalkyl ako je 4-metylpiperazinyalkarboxymetyl a podobne, dialkylaminokarbonylalkyl ako je dimetylaminokarbonylmetyl a podobne, (5-(nižší alkyl)-2-oxo-1,3-dioxolén-4-yl)alkyl ako je (5-terc-butyl-2-oxo-1,3-dioxolén-4-yl)metyl a podobne a (5-fenyl-2-oxo-1,3-dioxolén-4-yl)alkyl ako je (5-fenyl-2-oxo-1,3-dioxolén-4-yl)-metyl a podobne.

"Kyselinovo labilná ochranná skupina amínu" znamená ochrannú skupinu amínu, ako tu bola definovaná, ktorú je možné ľahko odstrániť pôsobením kyseliny, zatiaľ čo zostáva relatívne stabilná k iným činidlám. Výhodná kyselinovo labilná ochranná skupina amínu je BOC.

"Alifatická" skupina znamená alkyl, alkenyl alebo alkynyl, ako tu boli definované.

"Substituent(y) alifatickej skupiny" znamenajú substituenty, viazané k alifatickej skupine, ako tu bola definovaná, zahŕňujú skupiny aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, atóm halogénu, skupiny nitro, kyano, karboxy (kyselina), -C(O)-NHOH, -C(O)-CH₂OH, -C(O)-CH₂SH, -C(O)-NH-CN, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol,

metylén ($\text{H}_2\text{C}=\text{}$), oxo ($\text{O}=\text{}$), tioxo ($\text{S}=\text{}$), $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{N}-$, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NC(O)}-$, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NC(O)O}-$, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NC(O)NY}^3-$, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NSO}_2-$ alebo $\text{Y}^3\text{SO}_2\text{NY}^1-$, kde R^2 je ako tu bolo definované, Y^1 a Y^2 sú nezávisle od seba atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl a Y^3 je alkyl, cykloalkyl aryl alebo heteroaryl alebo v prípade substituentu $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{N}-$ jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako tu bolo definované vyššie, alebo v prípade substituentov $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NC(O)}-$, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NC(O)O}-$, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NC(O)NY}^3-$ alebo $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NSO}_2-$ alebo Y^1 a Y^2 môžu spolu s druhým atómom dusíka, ktorým sú Y^1 a Y^2 spojené, vytvárať 4 až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl. Kyslé/amidové substituenty alifatickej skupiny sú karboxy (kyselina), $-\text{C(O)}-\text{NHOH}$, $-\text{C(O)}-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{C(O)}-\text{CH}_2\text{SH}$, $-\text{C(O)}-\text{NH-CN}$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxycarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl a $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NCO}-$. Nekyslé polárne substituenty alifatických skupín sú hydroxy, oxo ($\text{O}=\text{}$), tioxo ($\text{S}=\text{}$), acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, tiol, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{N}-$, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NC(O)}-$, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NC(O)O}-$, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NC(O)NY}^3-$ alebo $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NSO}_2-$. Príklady alifatických skupín nesúcich alifatický substituent zahŕňujú metoxymetoxi, metoxyetoxi, etoxyetoxi, (metoxy-, benzyloxy-, fenoxi- alebo etoxy-) karbonyl (metyl alebo etyl), benzyloxykarbonyl, pyridylmetoxykarbonylmetyl, metoxyetyl, etoxymetyl, n-butoxymetyl, cyklopentylmetoxyetyl, fenoxypentyl, fenoxyalyl, trifluórmetyl, cyklopropylmetyl, cyklopentylmetyl, karboxy (metyl alebo etyl), 2-fenetenyl, benzyloxy, 1- alebo 2-naftylmetoxy, 4-pyridyl-metyloxy, benzyloxyetyl, 3-benzyloxyalyl, 4-pyridylmetoxyetyl, 4-pyridylmetoxyalyl, benzyl, 2-fenetyl, naftylmetyl, styryl, 4-fenyl-1,3-pentadienyl, fenylpropinyl, 3-fenylbut-2-inyl, pyrid-3-ylacetylenyl a chinolín-3-ylacetylenyl, 4-pyridyletinyl, 4-

pyridylvinyl, tienyletenyl, pyridyletenyl, imidazolyletenyl, pyrazinyletenyl, pyridylpentenyl, pyridylhexenyl a pyridylheptenyl, tienylmetyl, pyridylmetyl, imidazolylmetyl, pyrazinylmetyl, tetrahydropyranylmetyl, tetrahydropyranyl-metyloxymetyl a podobne.

"Acyl" znamená skupinu H-CO- alebo (alifatická skupina alebo cyklyl)-CO-, kde alifatická skupina je ako bolo opísané vyššie. Výhodné acylové skupiny obsahujú nižší alkyl. Príklady acylových skupín zahrňujú formyl, acetyl, propanoyl, 2-metylpropanoyl, butanoyl, palmitoyl, akryloyl, propinoyl, cyklohexylkarbonyl a podobne.

"Alkenoyl" znamená skupinu alkenyl-CO-, kde alkenyl je ako tu bolo definované.

"Alkenyl" znamená alifatickú uhľovodíkovú skupinu obsahujúcu dvojitú väzbu uhlík-uhlík, ktorá môže byť priama alebo rozvetvená a má od približne 2 do približne 15 atómov uhlíka v reťazci.

Výhodné alkenylové skupiny majú od približne 2 do približne 12 atómov uhlíka v reťazci; a výhodnejšie od približne 2 do približne 4 atómov uhlíka v reťazci. Rozvetvený znamená, že jedna alebo viacero nižších alkylových skupín, ako je metyl, etyl alebo propyl, je viazaná k priamemu alkenylovému reťazcu. "Nižší alkenyl" znamená od približne 2 do približne 4 atómov uhlíka v reťazci, ktorý môže byť priamy alebo rozvetvený. Príklady alkenylových skupín zahrňujú etenyl, propenyl, n-butenyl, i-butenyl, 3-metylbut-2-enyl, n-pentenyl, heptenyl, oktenyl, cyklohexylbutenyl, decenyl a podobne. "Substituovaný alkenyl" znamená alkenylovú skupinu ako bolo definované vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi alifatických skupín" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako tu bolo definované. Príklady substituentov alkenylových alifatických skupín zahrňujú atóm halogénu alebo cykloalkylové skupiny.

"Alkenyloxy" znamená skupinu alkenyl-O-, kde alkenylová skupina je ako bolo opísané vyššie. Príklady alkenyloxy skupín zahrňujú alyloxy, 3-butenyloxy a podobne.

"Alkoxy" znamená skupinu alkyl-O-, kde alkylová skupina je ako bolo opísané vyššie. Príklady alkoxy skupín zahrňujú metoxy, etoxy, n-propoxy, i-propoxy, n-butoxy, heptoxy a podobne.

"Alkoxykarbonyl" znamená skupinu alkyl-O-CO-, kde alkylová skupina je ako bolo definované vyššie. Príklady alkoxykarbonylových skupín zahrňujú metoxykarbonyl, etoxykarbonyl, terc-butyloxykarbonyl a podobne.

"Alkyl" znamená alifatickú uhľovodíkovú skupinu, ktorá môže byť priama alebo rozvetvená a mať od približne 1 do približne 20 atómov uhlíka v reťazci. Výhodné alkylové skupiny majú od 1 do približne 12 atómov uhlíka v reťazci, výhodnejší je nižší alkyl, ako tu bolo definované. Rozvetvený znamená, že jedna alebo viacero nižších alkylových skupín, ako je metyl, etyl alebo propyl, sú viazané na priamy alkylový reťazec.

"Nižší alkyl" znamená alkyl, ktorý má od približne 1 do približne 4 atómov uhlíka v reťazci a môže byť priamy alebo rozvetvený. "Substituovaný alkyl" znamená alkylovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi alifatických skupín" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako tu bolo definované.

"Alkylsulfinyl" znamená skupinu alkyl-SO-, kde alkylová skupina je ako bolo definované vyššie. Výhodné skupiny sú tie, v ktorých alkylová skupina je nižší alkyl.

"Alkylsulfonyl" znamená skupinu alkyl-SO₂-, kde alkylová skupina je ako bolo definované vyššie. Výhodné skupiny sú tie, v ktorých alkylová skupina je nižší alkyl.

"Alkylsulfonylkarbamoyl" znamená skupinu alkyl-SO₂-NH-C(=O)-, kde alkylová skupina je ako bolo opísané vyššie. Výhodné alkylsulfonylkarbamoylové skupiny sú také, kde alkylová skupina je nižší alkyl.

"Alkyltio" znamená skupinu alkyl-S-, kde alkylová skupina je ako bolo opísané vyššie. Príklady alkyltio skupín zahrňujú metyltio, etyltio, i-propyltio a heptyltio.

"Alkinyl" znamená alifatickú uhľovodíkovú skupinu, obsahujúcu trojitú

väzbu uhlík-uhlík, ktorá môže byť priama alebo rozvetvená a mať od približne 2 do približne 15 atómov uhlíka v reťazci.

Výhodné alkinylové skupiny majú od približne 2 do približne 12 atómov uhlíka v reťazci a výhodnejšie od približne 2 do približne 4 atómov uhlíka v reťazci. Rozvetvený znamená, že jedna alebo viacero nižších alkylových skupín, ako je metyl, etyl alebo propyl, sú viazané na priamy alkinylový reťazec. "Nižší alkynyl" znamená skupinu, ktorá má od približne 2 do približne 4 atómov uhlíka v reťazci a môže byť priama alebo rozvetvená. Alkinylová skupina môže byť substituovaná jedným alebo viacerými atómami halogénu. Príklady alkinylových skupín zahŕňujú etynyl, propynyl, n-butynyl, 2-butynyl, 3-metylbutynyl, n-pentynyl, heptynyl, oktynyl, decynyl a podobne. "Substituovaný alkynyl" znamená alkynyl ako bol definovaný vyššie, ktorý je substituovaný jedným alebo viacerými "substituentmi alifatických skupín" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako tu bolo definované.

"Ochranná skupina amínovej skupiny" alebo "ochranná skupina amínu" znamená ľahko odstrániteľnú skupinu, o ktorej je v odbore známe, že chráni atóm dusíka v amínovej alebo amidovej skupine proti nežiaducej reakcii v priebehu syntézy a je selektívne odstrániteľná. Použitie ochranných skupín amínu/amidu je v odbore dobre známe na ochranu skupín proti nežiaducim reakciám počas syntézy a veľa takýchto ochranných skupín je známych, pozri napríklad monografia T. W. Greene a P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2. vydanie, John Wiley and Sons, New York (1991), ktorá je tu zahrnutá ako referencia. Ochranné skupiny amínu/amidu tiež zahŕňujú "kyselinovo labilné ochranné skupiny amínu/amidu" a "hydrogenačne labilné ochranné skupiny amínu/amidu".

Príkladmi ochranných skupín amínu/amidu sú acyl, do toho počítajúc formyl, acetyl, chlóracetyl, trichlóracetyl, o-nitrofenylacetyl, o-nitrofenoxyacetyl, trifluóracetyl, acetoacetyl, 4-chlórbutyryl, izobutyryl, o-nitrocínamoyl, pikolinoyl, acylizotiokyanát, aminokaproyl, benzoyl a podobne a acyloxy, do toho počítajúc metoxykarbonyl, 9-fluórenylmetoxykarbonyl, 2,2,2-trifluóretoxykarbonyl, 2-trimetylsilyletoxykarbonyl, vinyloxykarbonyl, alyloxykarbonyl, terc-

butyloxykarbonyl (BOC), 1,1-dimetyl-propinyloxykarbonyl, benzyloxykarbonyl (CBZ), p-nitrobenzyloxykarbonyl, 2,4-dichlór-benzyloxykarbonyl a podobne.

"Ochranná skupina amidu" znamená ľahko odstrániteľnú skupinu, o ktorej je v odbore známe, že chráni atóm dusíka amidovej skupiny proti nežiaducej reakcii v priebehu syntézy a je selektívne odstrániteľná po jej premene na amín. Použitie ochranných skupín amidu je v odbore dobre známe pre ochranné skupiny proti nežiaducim reakciám počas syntézy a je známych veľa takýchto ochranných skupín, pozri napríklad monografia T. W. Greene a P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2. vydanie, John Wiley and Sons, New York (1991), ktorá je tu zahrnutá ako referencia. Ochranné skupiny amidu tiež zahrňujú "kyselinovo labilné ochranné skupiny amidu" a "hydrogenačne labilné ochranné skupiny amidu".

Príkladmi ochranných skupín amidu sú o-nitrocínamoyl, pikolinoyl, aminokaproyl, benzoyl a podobne a acyloxy, do toho počítajúc metoxykarbonyl, 9-fluórenylmetoxykarbonyl, 2,2,2-trifluóretoxykarbonyl, 2-trimetylsilyletoxykarbonyl, vinyloxykarbonyl, alyloxykarbonyl, terc-butyloxykarbonyl (BOC), 1,1-dimetyl-propinyloxykarbonyl, benzyloxykarbonyl (CBZ), p-nitrobenzyloxykarbonyl, 2,4-dichlór-benzyloxykarbonyl a podobne.

"Aminokyselina" znamená aminokyselinu zvolenú zo súboru, zahrňujúceho prírodné a v prírode sa nevyskytujúce aminokyseliny, ako tu boli definované. Aminokyselina tiež zahrňuje aminokyseliny, ktoré majú stereochemiu L alebo D na α -uhlíku. Výhodné aminokyseliny sú tie, ktoré majú α -amínovú skupinu. Aminokyseliny môžu byť neutrálne, kladné alebo záporné v závislosti od substituentov v bočnom reťazci. "Neutrálna aminokyselina" znamená aminokyselinu, obsahujúcu nenabitú substituenty v bočnom reťazci. Príklady neutrálnych aminokyselín zahrňujú alanín, valín, leucín, izoleucín, prolín, fenylalanín, tryptofán, metionín, glycín, serín, treonín a cysteín. "Kladná aminokyselina" znamená aminokyselinu, v ktorej sú substituenty v bočnom reťazci kladne nabité pri fyziologickom pH. Príklady kladných aminokyselín zahrňujú lyzín, arginín a histidín. "Záporná aminokyselina" znamená aminokyselinu, v ktorej substituenty v bočnom reťazci nesú pri fyziologickom pH

záporný náboj. Príklady záporných aminokyselín zahrňujú kyselinu asparágovú a kyselinu glutámovú. Výhodné aminokyseliny sú α -aminokyseliny. Príklady prírodných aminokyselín sú izoleucín, prolín, fenylalanín, tryptofán, metionín, glycín, serín, treonín, cysteín, tyrozín, asparagín, glutamín, lyzín, arginín, histidín, kyselina asparágová a kyselina glutámová. "V prírode sa nevyskytujúce aminokyseliny" znamenajú aminokyseliny, pre ktoré neexistuje kodón v nukleových kyselinách.

Príklady v prírode sa nevyskytujúcich aminokyselín zahrňujú napríklad D-izoméry prírodných α -aminokyselín uvedených vyššie; Aib (kyselina aminomaslová), β Aib (kyselina 3-aminoizomaslová), Nva (norvalín), β -Ala, Aad (kyselina 2-aminoadipová), β Aad (kyselina 3-aminoadipová), Abu (kyselina 2-aminoimaslová), Gaba (kyselina γ -aminomaslová), Acp (kyselina 6-aminokaprónová), Dbu (kyselina 2,4-diaminomaslová), kyselina α -aminopimelová, TMSA (trimetylsilyl-Ala), Ale (allo-izoleucín), Nle (norleucín), terc-Leu, Cit (citrulín), Orn, Dpm (kyselina 2,2'-diaminopimelová), Dpr (kyselina 2,3-diaminopropiónová), α - alebo β -Nal, Cha (cyklohexyl-Ala), hydroxyprolín, Sar (sarkozín) a podobne; cyklické aminokyseliny; Na-alkylované aminokyseliny ako je MeGly (Na-metylglycín), EtGly (Na-etyl-glycín) a EtAsn (Na-etyl-asparagín); a aminokyseliny, v ktorých α -uhlík má dva bočné reťazce. Mená prírodných a v prírode sa nevyskytujúcich aminokyselín a ich zvyškov, ktoré sa tu používajú, sú vytvorené podľa nomenklatúrnych konvencií, ktoré navrhla IUPAC Commission on the Nomenclature of Organic Chemistry a IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, ako sú uvedené v "Nomenclature of α -amino Acids (Recommendations, 1974)", Biochemistry, 14 (2) (1975). Pokiaľ sa v tomto opise a priložených nárokoch použijú odlišné mená a skratky aminokyselín a ich zvyškov, budú uvedené odlišné mená a skratky aminokyselín vysvetlené.

"Ochranná skupina aminokyseliny" znamená skupinu, ktorá chráni kyslú alebo aminovú časť aminokyseliny, alebo ďalšiu reaktívnu skupinu v bočnom reťazci aminokyseliny, napríklad skupinu hydroxy alebo tiol. Príklady "zodpovedajúcich chránených derivátov" aminokyselinových bočných reťazcov,

pozri T. W. Greene a P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

Ochranné skupiny kyslej skupiny aminokyseliny sú opísané na inom mieste, napríklad v oddiele "kyslá funkčná skupina" a "hydrogenačne labilná ochranná skupina kyseliny". Ochranné skupiny amínovej skupiny aminokyseliny sú opísané na inom mieste, napríklad v oddiele "ochranná skupina amínu", "kyselinovo labilná ochranná skupina amínu" a "hydrogenačne labilná ochranná skupina amínu".

"Aminokyselinový zvyšok" znamená individuálnu jednotku aminokyseliny vloženú do zlúčeniny podľa predloženého vynálezu.

"Bočný reťazec aminokyseliny" znamená substituent, nachádzajúci sa na atóme uhlíka medzi amínovou a karboxy skupinou α -aminokyseliny. Príklady bočných reťazcov aminokyseliny zahŕňujú izopropyl, metyl a karboxymetyl pre valín, alanín, resp. kyselinu asparágovú.

"Ekvivalent aminokyseliny" znamená aminokyselinu, ktorou môže byť nahradená ďalšia aminokyselina v peptidoch podľa predloženého vynálezu bez toho, aby prišlo k badateľnému úbytku funkčných vlastností. Pri vytváraní takýchto náhrad sa substitúcie podobných aminokyselín vykonávajú na základe relatívnej podobnosti bočných reťazcov, napríklad čo do veľkosti, náboja, hydrofilít, hydropaticity a hydrofóbnosti, ako bolo opísané vyššie.

"Aromatická skupina" znamená aryl alebo heteroaryl, ako tu boli definované. Príklady aromatických skupín zahŕňujú fenyl, atómom halogénu substituovaný fenyl, azaheteroaryl a podobne.

"Aroyl" znamená skupinu aryl-CO-, kde arylová skupina je ako bolo opísané vyššie.

Príklady aroylových skupín zahŕňujú benzoyl, 1- a 2-naftoyl a podobne.

"Aryl" znamená aromatický monocyklický alebo multicyklický kruhový systém obsahujúci od približne 6 do približne 14 atómov uhlíka, výhodne od približne 6 do približne 10 atómov uhlíka. V pojme aryl sú zahrnuté

kondenzovaný arylcykloalkenyl, kondenzovaný arylcykloalkyl, kondenzovaný arylheterocyklenyl a kondenzovaný arylheterocyklyl, ako tu boli definované, pokiaľ sú viazané prostredníctvom ich arylovej časti. Aryl je prípadne substituovaný jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov", ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako tu bolo definované. Príklady arylových skupín zahŕňujú fenyl alebo naftyl alebo substituovaný fenyl alebo substituovaný naftyl. "Substituovaný aryl" znamená arylovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako tu boli definované.

"Aryldiazo" znamená skupinu aryl-diazo-, v ktorej arylové a diazo skupiny sú ako tu boli definované.

"Arylén" znamená prípadne substituovanú 1,2-, 1,3-, 1,4-dvojväzbovú arylovú skupinu, kde arylová skupina je ako tu bolo definované. Príklady arylénových skupín zahŕňujú prípadne substituovaný fenylén, naftylén a indanylén. Obzvlášť vhodný arylén je prípadne substituovaný fenylén.

"Substituovaný arylén" znamená arylénovú skupinu ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako tu boli definované.

"Aryloxy" znamená skupinu aryl-O-, kde arylová skupina je ako tu bolo definované. Príklady aryloxy skupín zahŕňujú fenoxi a 2-naftyloxy.

"Aryloxykarbonyl" znamená skupinu aryl-O-CO-, kde arylová skupina je ako tu bolo definované. Príklady aryloxykarbonyl skupín zahŕňujú fenoxycarbonyl a naftoxycarbonyl.

"Arylsulfonyl" znamená skupinu aryl-SO₂-, kde arylová skupina je ako tu bolo definované.

"Arylsulfonylkarbamoyl" znamená skupinu aryl-SO₂-NH-C(=O)-, kde arylová skupina je ako bolo opísané vyššie. Príkladom arylsulfonylkarbamoylovej skupiny je fenylsulfonylkarbamoyl.

"Arylsulfinyl" znamená skupinu aryl-SO-, kde aryllová skupina je ako tu bolo definované.

"Aryltio" znamená skupinu aryl-S-, kde aryllová skupina je ako bolo opísané vyššie.

Príklady aryltio skupín zahrňujú fenyltio a naftyltio.

"Bázický atóm dusíka" znamená sp^2 alebo sp^3 hybridizovaný atóm dusíka, ktorý má neviazaný pár elektrónov, ktorý možno protonovať. Príklady bázických atómov dusíka zahrňujú prípadne substituovanú imínovú skupinu, prípadne substituovanú amínovú skupinu a prípadne substituovanú amidínovú skupinu.

"Karboxy" znamená skupinu HO(O)C- (karboxylová kyselina).

"Kopulačné činidlo" znamená zlúčeninu, ktorá reaguje s hydroxylovou časťou karboxy skupiny, čím ju upraví tak, že je náchylná k nukleofilnému ataku. Príklady kopulačných činidiel zahrňujú DIC, EDCI, DCC a podobne.

"Cykloalkenyl" znamená nearomatický mono- alebo multicyklický kruhový systém s od približne 3 do približne 10 atómov uhlíka, výhodne od približne 5 do približne 10 atómov uhlíka, ktorý obsahuje aspoň jednu dvojitú väzbu uhlík-uhlík. Pod pojem cykloalkenyl spadajú kondenzovaný arylcykloalkenyl a kondenzovaný heteroarylcykloalkenyl, ako tu boli definované, pokiaľ sú viazané prostredníctvom ich cykloalkenylovej časti. Výhodné veľkosti kruhov v kruhovom systéme sú v rozmedzí od približne 5 do približne 6 atómov kruhu; a takéto vhodné veľkosti kruhu sa tiež označujú ako "nižšie". "Substituovaný cykloalkenyl" znamená cykloalkenyllovú skupinu ako bolo definované vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako tu bolo definované.

Príklady monocyklických cykloalkenyllov zahrňujú cyklopentenyl, cyklohexenyl, cykloheptenyl a podobne. Príkladom multicyklického cykloalkenylu je norbornylenyl.

"Cykloalkyl" znamená nearomatický mono- alebo multicyklický kruhový

systém od približne 3 do približne 10 atómov uhlíka, výhodne od približne 5 do približne 10 atómov uhlíka. Výhodné veľkosti kruhov kruhového systému sú od približne 5 do približne 6 atómov kruhu; a takéto výhodné veľkosti kruhu sa tiež označujú ako "nižšie". Pod pojem cykloalkyl spadajú kondenzovaný arylcykloalkyl a kondenzovaný heteroarylcykloalkyl, ako tu boli definované, pokiaľ sú viazané prostredníctvom ich cykloalkylovej časti.

"Substituovaný cykloalkyl" znamená cykloalkylovú skupinu ako bolo definované vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako tu boli definované. Príklady monocyklického cykloalkylu zahrňujú cyklopentyl, cyklohexyl, cykloheptyl a podobne. Príklady multicyklických cykloalkylov zahrňujú 1-dekalín, norbornyl, adamant-(1- alebo 2-)-yl a podobne.

"Cykloalkylén" znamená dvojväzbovú cykloalkylovú skupinu, ako tu bola definovaná, ktorá má od približne 4 do približne 8 atómov uhlíka. Výhodné veľkosti kruhov cykloalkylénu zahrňujú od približne 5 do približne 6 atómov kruhu; a takéto výhodné veľkosti kruhov sa tiež označujú ako "nižšie". Miesta väzby cykloalkylénových skupín zahrňujú usporiadanie 1,1-, 1,2-, 1,3- alebo 1,4- a pokiaľ je to aplikovateľné, stereochemický vzťah miest väzby je buď cis alebo trans. Príklady cykloalkylénových skupín zahrňujú (1,1-, 1,2- alebo 1,3)-cyklohexylén a (1,1- alebo 1,2-)-cyklopentylén.

"Substituovaný cykloalkylén" znamená cykloalkylénovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako tu boli definované. "Cyklický" alebo "cyklyl" znamená cykloalkyl, cykloalkenyl, heterocyklyl alebo heterocyklenyl, ako tu boli definované. Výraz "nižší", ako sa používa v spojení s výrazom cyklický, je rovnaký, ako sa použilo v spojitosti s výrazom cykloalkyl, cykloalkenyl, heterocyklyl alebo heterocyklenyl.

"Cyklyloxy" znamená skupinu cyklyl-O-, kde cyklylová skupina je ako bolo opísané vyššie. Príklady cykloalkoxy skupín zahrňujú cyklopentyloxy,

cyklohexyloxy, chinuklidyloxy, pentametylénsulfidoxy, tetrahydropyranyloxy, tetrahydrotiofenyloxy, pyrolidinyloxy, tetrahydrofuranyloxy alebo 7-oxabicyklo[2.2.1] heptanyloxy, hydroxytetrahydropyranyloxy, hydroxy-7-oxabicyklo[2.2.1]-heptanyloxy a podobne.

"Cyklylsulfinyl" znamená skupinu cyklyl-S(O)- , kde cyklylová skupina je ako bolo opísané vyššie.

"Cyklylsulfonyl" znamená skupinu cyklyl-S(O)_2- , kde cyklylová skupina je ako bolo opísané vyššie.

"Cyklyltio" znamená skupinu cyklyl-S- , kde cyklylová skupina je ako bolo opísané vyššie.

"Diazo" znamená dvojväzbový zvyšok -N=N- .

"Premiestniteľná skupina" znamená skupinu, ktorá, ak sa asociuje s L, ako tu bolo definované, sa vystaví premiestneniu nukleofilným atakom mono- alebo di-substituovanou amínovou skupinou za alebo bez prítomnosti činidla, ktoré uľahčuje uvedený atak, napríklad kopulačného činidla. Príklady premiestniteľných skupín zahŕňujú skupiny hydroxy, alifatický oxy, halogén, N-oxysukcínimid, acyloxy a podobne.

"Účinné množstvo" znamená množstvo zlúčeniny/kompozície podľa predloženého vynálezu, ktoré umožňuje dosiahnutie požadovaného terapeutického účinku.

"Kondenzovaný arylcykloalkenyl" znamená kondenzovaný aryl a cykloalkenyl, ako tu boli definované.

Výhodné kondenzované arylcykloalkenyly sú tie, v ktorých ich arylová časť je fenyl a cykloalkenyl obsahuje od približne 5 do približne 6 atómov kruhu. Kondenzovaný arylcykloalkenyl sa môže viazať prostredníctvom ľubovoľného atómu jeho kruhového systému, ktorý je schopný takejto väzby. "Substituovaný kondenzovaný arylcykloalkenyl" znamená kondenzovanú arylcykloalkenyllovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť

rovnaké alebo rôzne a sú, ako tu boli definované.

Príklady kondenzovaných arylcykloalkenylov zahŕňujú 1,2-dihydronaftylén, indén a podobne.

"Kondenzovaný arylcykloalkyl" znamená kondenzovaný aryl a cykloalkyl, ako tu boli definované. Výhodné kondenzované arylcykloalkyly sú tie, v ktorých ich arylová časť je fenyl a cykloalkyl obsahuje od približne 5 do približne 6 atómov kruhu. Kondenzovaný arylcykloalkyl sa môže viazať prostredníctvom ľubovoľného atómu jeho kruhového systému, ktorý je schopný takejto väzby. "Substituovaný kondenzovaný arylcykloalkyl" znamená kondenzovanú arylcykloalkylovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú, ako tu boli definované.

Príklady kondenzovaných arylcykloalkylov zahŕňujú 1,2,3,4-tetrahydronaftylén a podobne.

"Kondenzovaný arylheterocyklenenyl" znamená kondenzovaný aryl a heterocyklenenyl, ako tu boli definované.

Výhodné kondenzované arylheterocyklenyly sú tie, v ktorých ich arylová časť je fenyl a heterocyklenenyl obsahuje od približne 5 do približne 6 atómov kruhu. Kondenzovaný arylheterocyklenenyl sa môže viazať prostredníctvom ľubovoľného atómu jeho kruhového systému, ktorý je schopný takejto väzby. Označenie aza, oxa alebo tia ako prefix pred heterocyklenylovou časťou kondenzovaného arylheterocyklenenylu označuje, že aspoň jeden atóm dusíka, atóm kyslíka, resp. atóm síry je prítomný ako atóm kruhu.

"Substituovaný kondenzovaný arylheterocyklenenyl" znamená kondenzovanú arylheterocyklenylovú skupinu, ako bolo definované vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú, ako tu boli definované. Atóm dusíka kondenzovaného arylheterocyklenenylu môže byť bázičný atóm dusíka. Atóm dusíka alebo atóm síry heterocyklenylovej časti kondenzovaného arylheterocyklenenylu sa môže tiež prípadne oxidovať na

zodpovedajúci N-oxid, S-oxid alebo S,S-dioxid. Príklady kondenzovaných arylheterocyklylov zahrňujú 3H-indoliny, 1H-2-oxochinolyl, 2H-1-oxoizochinolyl, 1,2-dihydrochinoliny, 3,4-dihydrochinoliny, 1,2-dihydroizochinoliny, 3,4-dihydroizochinoliny a podobne.

"Kondenzovaný arylheterocyklyl" znamená kondenzovaný aryl a heterocyklyl, ako tu boli definované. Výhodné kondenzované arylheterocyklyly sú tie, v ktorých ich arylová časť je fenyl a heterocyklyl obsahuje od približne 5 do približne 6 atómov kruhu. Kondenzovaný arylheterocyklyl sa môže viazať prostredníctvom ľubovoľného atómu jeho kruhového systému, ktorý je schopný takejto väzby. Označenie aza, oxa alebo tia ako prefix pred heterocyklylovou časťou kondenzovaného arylheterocyklylu definuje, že aspoň jeden atóm dusíka, atóm kyslíka, resp. atóm síry je prítomný ako atóm kruhu. "Substituovaný kondenzovaný arylheterocyklyl" znamená kondenzovanú arylheterocyklylovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne, a sú, ako tu boli definované. Atóm dusíka kondenzovaného arylheterocyklylu môže byť bázičný atóm dusíka. Atóm dusíka alebo atóm síry heterocyklylovej časti kondenzovaného arylheterocyklylu sa môže tiež prípadne oxidovať na zodpovedajúci N-oxid, S-oxid alebo S,S-dioxid. Príklady kondenzovaných arylheterocyklylových kruhových systémov zahrňujú indoliny, 1,2,3,4-tetrahydroizochinolín, 1,2,3,4-tetrahydrochinolín, 1H-2,3-dihydroizoindol-2-yl, 2,3-dihydrobenz[f]izoindol-2-yl, 1,2,3,4-tetrahydrobenz[g]-izochinolín-2-yl a podobne.

"Kondenzovaný heteroarylcykloalkenyl" znamená kondenzovaný heteroaryl a cykloalkenyl, ako tu boli definované. Výhodné kondenzované heteroarylcykloalkenily sú tie, ktorých heteroarylová časť je fenyl a cykloalkenyl obsahuje od približne 5 do približne 6 atómov kruhu. Kondenzovaný heteroarylcykloalkenyl sa môže viazať prostredníctvom ľubovoľného atómu jeho kruhového systému, ktorý je schopný takejto väzby. Označenie aza, oxa alebo tia ako prefix pred heteroarylovou časťou kondenzovaného heteroarylcykloalkenylu definuje, že aspoň jeden atóm dusíka, atóm kyslíka,

resp. atóm síry je prítomný ako atóm kruhu. "Substituovaný kondenzovaný heteroarylcykloalkenyl" znamená kondenzovanú heteroarylcyklo-alkenylovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne, a sú ako tu boli definované. Atóm dusíka kondenzovaného heteroarylcykloalkenylu môže byť bázičný atóm dusíka. Atóm dusíka heteroarylovej časti kondenzovaného heteroarylcykloalkenylu sa môže tiež prípadne oxidovať na zodpovedajúci N-oxid. Príklady kondenzovaných heteroarylcykloalkenyllov zahŕňujú 5,6-dihydrochinolyl, 5,6-dihydroizochinolyl, 5,6-dihydrochinoxalyl, 5,6-dihydrochinazolyl, 4,5-dihydro-1H-benzimidazolyl, 4,5-dihydrobenzoxazolyl a podobne.

"Kondenzovaný heteroarylcykloalkyl" znamená kondenzovaný heteroaryl a cykloalkyl, ako tu boli definované. Výhodné kondenzované heteroarylcykloalkyly sú tie, ktorých heteroarylová časť obsahuje od približne 5 do približne 6 atómov kruhu a cykloalkyl obsahuje od približne 5 do približne 6 atómov kruhu. Kondenzovaný heteroarylcykloalkyl sa môže viazať prostredníctvom ľubovoľného atómu jeho kruhového systému, ktorý je schopný takejto väzby. Označenie aza, oxa alebo tia ako prefix pred heteroarylovou časťou kondenzovaného heteroarylcykloalkylu definuje, že aspoň jeden atóm dusíka, atóm kyslíka, resp. atóm síry je prítomný ako atóm kruhu. "Substituovaný kondenzovaný heteroarylcykloalkyl" znamená kondenzovanú heteroarylcykloalkylovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne, a sú ako tu boli definované. Atóm dusíka kondenzovaného heteroarylcykloalkylu môže byť bázičný atóm dusíka. Atóm dusíka heteroarylovej časti kondenzovaného heteroarylcykloalkylu sa môže tiež prípadne oxidovať na zodpovedajúci N-oxid. Príklady kondenzovaných heteroarylcykloalkyllov zahŕňujú 5,6,7,8-tetrahydrochinolyl, 5,6,7,8-tetrahydroizochinolyl, 5,6,7,8-tetrahydrochinoxalyl, 5,6,7,8-tetrahydrochinazolyl, 4,5,6,7-tetrahydro-1H-benzimidazolyl, 4,5,6,7-tetrahydrobenzoxazolyl, 1H-4-oxa-1,5-diazanaftalén-2-onyl, 1,3-dihydroimidazol-[4,5]-

pyridín-2-onyl a podobne.

"Kondenzovaný heteroarylheterocyklenyl" znamená kondenzovaný heteroaryl a heterocyklenyl, ako tu boli definované. Výhodné kondenzované heteroarylheterocyklenyly sú také, ktorých heteroarylová časť obsahuje od približne 5 do približne 6 atómov kruhu a heterocyklenyl obsahuje od približne 5 do približne 6 atómov kruhu. Kondenzovaný heteroarylheterocyklenyl sa môže viazať prostredníctvom ľubovoľného atómu jeho kruhového systému, ktorý je schopný takejto väzby. Označenie aza, oxa alebo tia ako prefix pred heteroarylovou alebo heterocyklenylovou časťou kondenzovaného heteroarylheterocyklenylu definuje, že aspoň jeden atóm dusíka, atóm kyslíka, resp. atóm síry je prítomný ako atóm kruhu. "Substituovaný kondenzovaný heteroarylheterocyklenyl" znamená kondenzovanú heteroarylheterocyklenylovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne, a sú ako tu boli definované. Atóm dusíka kondenzovaného heteroarylazaheterocyklenylu môže byť bázický atóm dusíka. Atóm dusíka alebo atóm síry heteroarylovej časti kondenzovaného heteroarylheterocyklenylu sa môže tiež prípadne oxidovať na zodpovedajúci N-oxid. Atóm dusíka alebo atóm síry heteroarylovej alebo heterocyklylovej časti kondenzovaného heteroarylheterocyklenylu sa môže tiež prípadne oxidovať na zodpovedajúci N-oxid, S-oxid alebo S,S-dioxid. Príklady kondenzovaných heteroarylheterocyklenylov zahrňujú 7,8-dihydro[1,7]naftyridinyl, 1,2-dihydro[2,7]naftyridinyl, 6,7-dihydro-3H-imidazo[4,5-c]pyridyl, 1,2-dihydro-1,5-naftyridinyl, 1,2-dihydro-1,6-naftyridinyl, 1,2-dihydro-1,7-naftyridinyl, 1,2-dihydro-1,8-naftyridinyl, 1,2-dihydro-2,6-naftyridinyl a podobne.

"Kondenzovaný heteroarylheterocyklyl" znamená kondenzovaný heteroaryl a heterocyklyl, ako tu boli definované. Výhodné kondenzované heteroarylheterocyklyly sú také, ktorých heteroaryl obsahuje od približne 5 do približne 6 atómov kruhu a heterocyklyl obsahuje od približne 5 do približne 6 atómov kruhu. Kondenzovaný heteroarylheterocyklyl sa môže viazať prostredníctvom ľubovoľného atómu jeho kruhového systému, ktorý je schopný

takejto väzby. Označenie aza, oxa alebo tia ako prefix pred heteroarylovou alebo heterocyklylovou časťou kondenzovaného heteroarylheterocyklylu definuje, že aspoň jeden atóm dusíka, atóm kyslíka, resp. atóm síry je prítomný ako atóm kruhu. "Substituovaný kondenzovaný heteroarylheterocyklyl" znamená kondenzovanú heteroarylheterocyklylovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne, a sú ako tu boli definované. Atóm dusíka kondenzovaného heteroarylheterocyklylu môže byť bázičný atóm dusíka. Atóm dusíka alebo atóm síry heteroarylovej časti kondenzovaného heteroarylheterocyklylu sa môže tiež prípadne oxidovať na zodpovedajúci N-oxid. Atóm dusíka alebo atóm síry heteroarylovej alebo heterocyklylovej časti kondenzovaného heteroarylheterocyklylu sa môže tiež prípadne oxidovať na zodpovedajúci N-oxid, S-oxid alebo S,S-dioxid.

Príklady kondenzovaných heteroarylheterocyklylov zahŕňujú 2,3-dihydro-1H-pyrol[3,4-b]chinolín-2-yl, 1,2,3,4-tetrahydrobenz[b][1,7]naftyridín-2-yl, 1,2,3,4-tetrahydrobenz[b][1,6]naftyridín-2-yl, 1,2,3,4-tetrahydro-9H-pyrido[3,4-b]indol-2-yl, 1,2,3,4-tetrahydro-9H-pyrido[4,3-b]indol-2-yl, 2,3-dihydro-1H-pyrol[3,4-b]indol-2-yl, 1H-2,3,4,5-tetrahydroazepino[3,4-b]indol-2-yl, 1H-2,3,4,5-tetrahydroazepino[4,3-b]indol-3-yl, 1H-2,3,4,5-tetrahydroazepino[4,5-b]indol-2-yl, 5,6,7,8-tetrahydro[1,7]naftyridyl, 1,2,3,4-tetrahydro[2,7]naftyridyl, 2,3-dihydro[1,4]dioxino[2,3-b]pyridyl, 2,3-dihydro-[1,4]dioxino[2,3-b]pyridyl, 3,4-dihydro-2H-1-oxa[4,6]diazanaftalenyl, 4,5,6,7-tetrahydro-3H-imidazo[4,5-c]pyridyl, 6,7-dihydro[5,8]diazanaftalenyl, 1,2,3,4-tetrahydro[1,5]naftyridinyl, 1,2,3,4-tetrahydro[1,6]naftyridinyl, 1,2,3,4-tetrahydro[1,7]naftyridinyl, 1,2,3,4-tetrahydro[1,8]naftyridinyl, 1,2,3,4-tetrahydro[2,6]naftyridinyl a podobne.

"Halogén" znamená fluór, chlór, bróm alebo jód. Výhodné sú fluór, chlór alebo bróm, a výhodnejšie sú fluór alebo chlór.

"Heteroaroyl" znamená skupinu heteroaryl-CO-, kde heteroarylová skupina je ako bolo opísané vyššie. Príklady heteroaroylových skupín zahŕňujú

tiofenoyl, nikotinoyl, pyrol-2-ylkarbonyl, 1- a 2-naftoyl, pyridinoyl a podobne.

"Heteroaryl" znamená aromatický monocyklický alebo multicyklický systém kruhov, obsahujúci od približne 5 do približne 14 atómov uhlíka, výhodne od približne 5 do približne 10 atómov uhlíka, v ktorom jeden alebo viacero atómov kruhovom systéme je/sú heteroatómy iné ako uhlík, napríklad atóm dusíka, atóm kyslíka alebo atóm síry. Výhodne kruhový systém obsahuje 1 až 3 heteroatómy. Výhodné veľkosti kruhov kruhového systému zahrňujú od približne 5 do približne 6 atómov kruhu. Pod pojem heteroaryl spadajú kondenzovaný heteroarylcykloalkenyl, kondenzovaný heteroarylcykloalkyl, kondenzovaný heteroarylheterocyklenyl a kondenzovaný heteroarylheterocyklyl, ako tu boli definované, pokiaľ sa viažu pomocou ich heteroarylovej časti. "Substituovaný heteroaryl" znamená heteroarylovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú, ako tu boli definované. Označenie aza, oxa alebo tia ako prefix pred heteroarylom definuje, že aspoň jeden atóm dusíka, atóm kyslíka, resp. atóm síry sú prítomné ako atóm kruhu. Atóm dusíka heteroarylu môže byť bázičný atóm dusíka a môže sa tiež prípadne oxidovať na zodpovedajúci N-oxid. Príklady heteroarylových a substituovaných heteroarylových skupín zahrňujú pyrazinyl, tienyl, izotiazolyl, oxazolyl, pyrazolyl, furazanyl, pyrolyl, 1,2,4-tiadiazolyl, pyridazinyl, chinoxaliny, ftalazinyl, imidazo[1,2-a]pyridín, imidazo[2,1-b]tiazolyl, benzofurazanyl, azaindolyl, benzimidazolyl, benzotienyl, tienopyridyl, tienopyrimidyl, pyrolopyridyl, imidazopyridyl, benzoazaindolyl, 1,2,4-triazinyl, benzotiazolyl, furanyl, imidazolyl, indolyl, indoliziny, izoxazolyl, izochinoliny, izotiazolyl, oxadiazolyl, pyrazinyl, pyridazinyl, pyrazolyl, pyridyl, pyrimidiny, pyrolyl, chinazoliny, chinoliny, 1,3,4-tiadiazolyl, tiazolyl, tienyl, triazolyl a podobne. Výhodná heteroarylová skupina je pyrazinyl.

"Heteroaryldiazo" znamená skupinu heteroaryl-azo-, kde skupiny heteroaryl a azo sú ako tu boli definované.

"Heteroaryldiyl" znamená dvojväzbový zvyšok, odvodený od heteroarylu, kde heteroaryl je ako bolo opísané vyššie. Príkladom heteroaryldiylového

zvyšku je prípadne substituovaný pyridíndiyl.

"Heteroarylsulfonylkarbamoyl" znamená skupinu heteroaryl-SO₂-NH-C(=O)-, kde heteroarylová skupina je ako bolo opísané vyššie.

"Heterocyklenyl" znamená nearomatický monocyklický alebo multicyklický uhl'ovodíkový kruhový systém od približne 3 do približne 10 atómov uhlíka, výhodne od približne 5 do približne 10 atómov uhlíka, v ktorom jeden alebo viacero atómov v kruhovom systéme je/sú heteroatóm iný ako uhlík, napríklad atóm dusíka, atóm kyslíka alebo atóm síry a ktorý obsahuje aspoň jednu dvojitú väzbu uhlík-uhlík alebo dvojitú väzbu uhlík-dusík. Výhodne kruh obsahuje 1 až 3 heteroatómy. Výhodné veľkosti kruhov v kruhovom systéme zahŕňujú od približne 5 do približne 6 atómov kruhu; a takéto výhodné veľkosti kruhov sa tiež označujú ako "nižšie". Pod pojem heterocyklenyl spadajú kondenzovaný arylheterocyklenyl a kondenzovaný heteroarylheterocyklenyl, ako tu boli definované, pokiaľ sa viažu pomocou ich heterocyklenylovej časti. Označenie aza, oxa alebo tia ako prefix pred heterocyklenyl definuje, že aspoň jeden atóm dusíka, atóm kyslíka, resp. atóm síry je prítomný ako atóm kruhu. "Substituovaný heterocyklenyl" znamená heterocyklenylovú skupinu ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako tu boli definované. Atóm dusíka heterocyklenylu môže byť bázičný atóm dusíka. Atóm dusíka alebo atóm síry heterocyklenylu sa môžu tiež prípadne oxidovať na zodpovedajúci N-oxid, S-oxid alebo S,S-dioxid.

Príklady monocyklických azaheterocyklenylových skupín zahŕňujú 1,2,3,4-tetrahydrohydropyridín, 1,2-dihydropyridyl, 1,4-dihydropyridyl, 1,2,3,6-tetrahydropyridín, 1,4,5,6-tetrahydropyrimidín, 2-pyrolinyl, 3-pyrolinyl, 2-imidazoliny, 2-pyrazoliny a podobne. Príklady oxaheterocyklenylových skupín zahŕňujú 3,4-dihydro-2H-pyrán, dihydrofuranyl a fluórdihydrofuranyl. Príkladom multicyklickej oxaheterocyklenylovej skupiny je 7-oxabicyklo[2.2.1]heptenyl.

Príklady monocyklických tiaheterocyklenylových kruhov zahŕňujú dihydrotiofenyl a dihydrotiopyranyl.

"Heterocyklyl" znamená nearomatický nasýtený monocyklický alebo multicyklický kruhový systém od približne 3 do približne 10 atómov uhlíka, výhodne od približne 5 do približne 10 atómov uhlíka, v ktorom jeden alebo viacero atómov v kruhovom systéme je/sú heteroatóm iný ako uhlík, napríklad atóm dusíka, atóm kyslíka alebo atóm síry. Výhodne kruhový systém obsahuje od 1 do 3 heteroatómov. Výhodné veľkosti kruhov v kruhovom systéme zahŕňujú od približne 5 do približne 6 atómov kruhu; a takéto výhodné veľkosti kruhov sa tiež označujú ako "nižšie". Pod pojem heterocyklyl spadajú kondenzovaný arylheterocyklyl a kondenzovaný heteroarylheterocyklyl, ako tu boli definované, pokiaľ sú viazané pomocou ich heterocyklylovej časti. Označenie aza, oxa alebo tia ako prefix pred heterocyklylom definuje, že aspoň jeden atóm dusíka, atóm kyslíka, resp. atóm síry je prítomný ako atóm kruhu. "Substituovaný heterocyklyl" znamená heterocyklylovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako tu boli definované. Atóm dusíka heterocyklylu môže byť bázičný atóm dusíka. Atóm dusíka alebo atóm síry heterocyklylu sa môžu tiež prípadne oxidovať na zodpovedajúci N-oxid, S-oxid alebo S,S-dioxid. Príklady monocyklických heterocyklylových kruhov zahŕňujú piperidyl, pyrrolidiny, piperaziny, morfoliny, tiomorfoliny, tiazolidiny, 1,3-dioxolany, 1,4-dioxany, tetrahydrofurany, tetrahydrotiofeny, tetrahydrotiopyrany a podobne.



ako substituovaný monocyklický azaheterocyklyl je substituovaný priamo alebo cez spojovací člen aspoň jedným substituentom, ktorý je alebo zahŕňa alebo je substituovaný aromatickou skupinou, ako tu bola definovaná; napríklad aryl, heteroaryl, aryloxy, heteroaryloxy, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, aroyloxy, heteroaroyloxy, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, aryltio, heteroaryltio, arylidazo, heteroaryldiido, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, kde aspoň jeden z Y^1 a Y^2 je, zahŕňa alebo je substituovaný arylovou alebo heteroarylovou

skupinou. Výhodné spojovacie členy sú $-C(O)-$, $-OC(O)-$, nižší alkyl, nižší alkoxy, nižší alkenyl, $-O-$, $-S-$, $-C(O)C(O)-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-NR^{80}-$, kde R^{80} je atóm vodíka, skupiny alkyl, cykloalkyl, aryl, aralkyl, heterocyklyl alebo heteroaryl. Obzvlášť výhodné spojovacie členy sú $-C(O)-$ a $-OC(O)-$. "Substituovaný multicyklický azaheterocyklyl" znamená multicyklickú azaheterocyklylovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako boli tu definované. "Substituovaný multicyklický azaheterocyklenyl" znamená multicyklickú azaheterocyklenylovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako tu boli definované.

"Heterocyklylén" znamená dvojitý heterocyklylovú skupinu, ako tu bola definovaná, ktorá obsahuje od približne 4 do približne 8 atómov uhlíka. Výhodné veľkosti kruhov heterocyklylénu zahŕňujú od približne 5 do približne 6 atómov kruhu; a takéto výhodné veľkosti kruhu sa tiež označujú ako "nižšie". Miesta väzby cykloalkylénovej skupiny zahŕňujú možnosti 1,1-, 1,2-, 1,3- alebo 1,4- a pokiaľ je to možné aplikovať, stereochemický vzťah miest väzby je buď cis alebo trans. Príklady heterocyklylénových skupín zahŕňujú (1,1-, 1,2- alebo 1,3-) piperidinylen a (1,1- alebo 1,2-) tetrahydrofuranylen. "Substituovaný heterocyklylén" znamená heterocyklylénovú skupinu, ako bola definovaná vyššie, ktorá je substituovaná jedným alebo viacerými "substituentmi skupiny kruhov" (výhodne 1 až 3), ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú ako tu boli definované.

"Hydrát" znamená solvát, v ktorom molekula alebo molekuly rozpúšťadla je/sú H_2O .

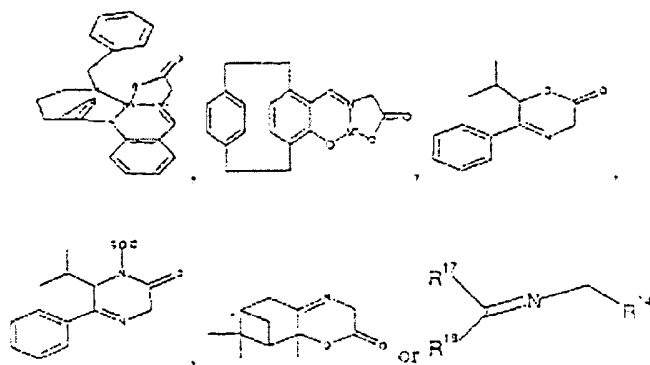
"Hydrogenačne labilná ochranná skupina amínu" znamená ochrannú skupinu amínu, ako tu bola definovaná, ktorá je ľahko odstrániteľná hydrogenáciou, zatiaľ čo zostáva relatívne stabilná voči ostatným činidlám. Výhodná hydrogenačne labilná ochranná skupina amínu je Cbz.

"Hydrogenačne labilná ochranná skupina kyseliny" znamená ochrannú

skupinu kyseliny, ako tu bola definovaná, ktorá je ľahko odstrániteľná hydrogenáciou, zatiaľ čo zostáva relatívne stabilná voči ostatným činidlám. Výhodná hydrogenačne labilná ochranná skupina kyseliny je benzyl.

"Hygroscopicita" znamená sorpciu, implikujúcu získané množstvo vody alebo stavovú vodu, dostatočnú na ovplyvnenie fyzikálnych alebo chemických vlastností látky (editori J. Swarbrick a J. C. Boylan, *Encyklopedia of Pharmaceutical Technology*, 10, 33).

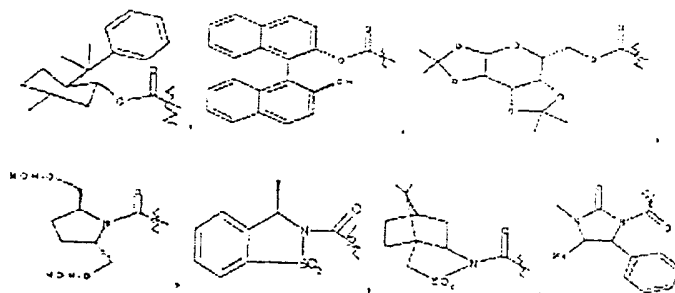
"Imínový glycínimidový derivát" znamená imínovú Schiffovu bázu glycínu, ktorá sa môže použiť pri syntéze α -aminokyselín, ako prirodzených, tak i v prírode sa nevyskytujúcich. Imínová esterová funkčná skupina môže obsahovať jedno alebo viacero asymetrických centier, ktoré môžu pomáhať stereoindukcii v priebehu procesu vytvárania väzby. Okrem toho tieto imínové glycínimidové deriváty sa môžu zabudovať do polymerizačného nosiča kvôli uľahčeniu kombinatorickej syntézy. Imínové glycínimidové deriváty sa môžu pripraviť kondenzáciou glycínesteru s vhodným ketónom v prítomnosti kyslého katalyzátora. Reakcia sa uľahčí odoberaním vody. Imínové glycínimidové deriváty sú dobre známe v odbore na použitie v Michaelovom adičnom spôsobe syntézy, ako je opísané napríklad v práci Guillena, G. a kol., *J. Org. Chem.*, 2000, 65, 7310 - 7322, ktorá je tu zahrnutá ako referencia. Konkrétne príklady imínových glycínimidových derivátov podľa predloženého vynálezu zahrňujú deriváty zvolené zo súboru, zahrňujúceho skupiny všeobecných vzorcov:



kde:

M^* je prechodný kov, výhodne CU, výhodnejšie CU^{II} ,

R^{14} je $-CO_2R^{16}$, $-CN$,

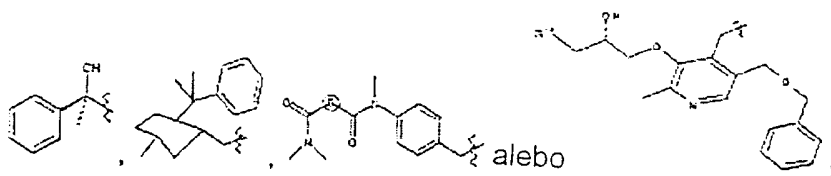


alebo $-CONR^{15}R^{15}$,

R^{15} je prípadne substituovaná alifatická skupina;

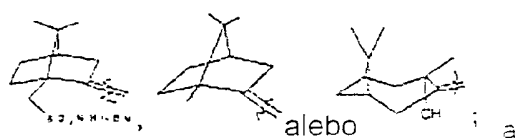
R^{16} je ochranná skupina kyseliny, prípadne substituovaný aryl alebo prípadne substituovaná alifatická skupina;

R^{17} je prípadne substituovaný aryl, prípadne substituovaná alifatická skupina;



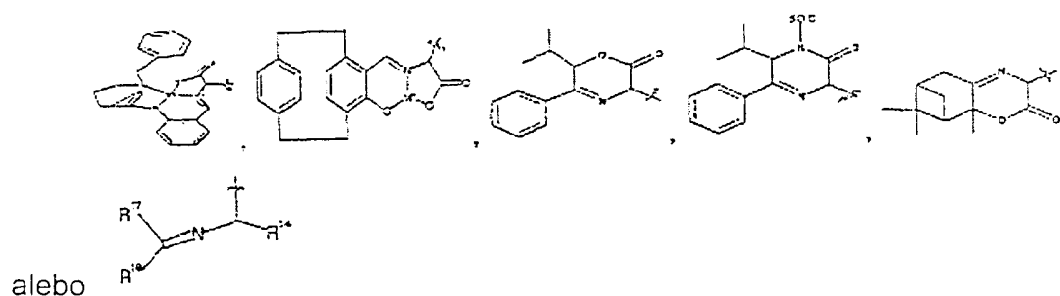
R^{18} je atóm vodíka, skupiny alkyl alebo alkyltio; alebo prípadne substituovaný aryl;

R^{17} a R^{18} spoločne s atómom uhlíka, ku ktorému sú R^{17} a R^{18} viazané, je



Ⓢ je pevná fáza.

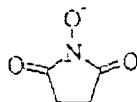
"Adukt imínového glycinimidového derivátu" znamená výslednú zlúčeninu, kde časť od α -atómu vodíka k atómu dusíka a karbonylová časť Schiffovej bázy sa odstráni a použijú na vytvorenie pripojenia kvôli tvorbe väzby. Konkrétne príklady aduktov imínových glycinimidových derivátov podľa predloženého vynálezu zahrňujú také, ktoré sa zvolia zo súboru, zahrňujúceho všeobecné vzorce:



kde:

R^{14} , R^{17} a R^{18} sú definované, ako je opísané v definícii imínového glycinimidového derivátu, uvedenej vyššie.

"N-oxysukcínimid" znamená skupinu nasledujúcej štruktúry



"N-oxid" znamená skupinu nasledujúcej štruktúry



"Pacient" je človek a ďalšie cicavce.

"Peptidomimetický" znamená polymér obsahujúci aminokyselinové

zvyšky, spojené spolu amidovými väzbami.

"Farmaceuticky prijateľný ester" označuje estery, ktoré sa hydrolyzujú *in vivo* a zahrňuje estery, ktoré sa v ľudskom tele ľahko rozpadajú kvôli zanechaniu pôvodnej zlúčeniny alebo jej soli.

Vhodné esterové skupiny zahrňujú napríklad skupiny odvodené od farmaceuticky prijateľných alifatických karboxylových kyselín, najmä alkánových kyselín, alkénových kyselín, cykloalkánových kyselín a alkándiových kyselín, v ktorých každý alkyl alebo alkenyl výhodne nemá viac ako 6 atómov uhlíka.

Príklady esterov zahrňujú mravčany, octany, propionáty, maslany, akryláty, etyljantarany a podobne.

Výraz "farmaceuticky prijateľné prekurzory", ako sa tu používa, označuje také prekurzory zlúčenín podľa predloženého vynálezu, ktoré sú v rámci zdravého lekárskeho úsudku vhodné na použitie v kontakte s ľudskými tkanivami a tkanivami nižších živočíchov bez nadmernej toxicity, podráždenia, alergickej odozvy a podobne, majú rozumný pomer prínosu a rizika a sú účinné na ich zamýšľané použitie, rovnako tak ako zwiteriónové formy, ak sú možné, zlúčenín podľa predloženého vynálezu. Výraz "prekurzor" označuje zlúčeniny, ktoré sa rýchlo transformujú *in vivo* kvôli získaniu pôvodnej zlúčeniny vyššie uvedeného všeobecného vzorca, napríklad hydrolýzou v krvi. Funkčné skupiny, ktoré sa môžu rýchlo transformovať, napríklad metabolickým štiepením *in vivo*, vytvárajú triedu zlúčenín reagujúcich s karboxylovou skupinou zlúčenín podľa predloženého vynálezu. Tieto zlúčeniny zahrňujú neobmedzujúcim spôsobom také skupiny ako je alkanoyl (ako je acetyl, propanoyl, butanoyl a podobne), nesubstituovaný a substituovaný aroyl (ako je benzoyl a substituovaný benzoyl), alkoxykarbonyl (ako je etoxykarbonyl), trialkylsilyl (ako je trimetyl- a trietyl-silyl), monoestery vytvorené s dikarboxylovými kyselinami (ako je jantaran) a podobne. V dôsledku ľahkosti, s ktorou sa metabolicky odštiepiteľné skupiny zlúčenín podľa predloženého vynálezu štiepia *in vivo*, zlúčeniny nesúce takéto skupiny pôsobia ako prekurzory. Zlúčeniny nesúce metabolicky odštiepiteľné skupiny majú výhodu v tom, že môžu vykazovať zlepšenú biologickú dostupnosť ako výsledok zvýšenej rozpustnosti a/alebo rýchlosti absorpcie,

ktorú im v porovnaní s pôvodnou zlúčeninou prináša metabolicky odštiepiteľná skupina. Dôkladná diskusia sa podala v monografii *Design of Prodrugs*, H. Bundgaard, ed., Elsevier (1985); *Methods in Enzymology*; K. Widder a kol., ed., Academic Press, 42, 309 - 396 (1985); *A Textbook of Drug Design and Development*, Krogsgaard - Larsen a H. Bandaged, ed., kapitola 5; "Design and Applications of Prodrugs", 113 - 191 (1991); *Advanced Drug Delivery Reviews*, H. Bundgaard, 8, 1 - 38 (1992), *J. Pharm. Sci.*, 77, 285 (1988); *Chem. Pharm. Bull.*, N. Nakeya a kol., 32, 692 (1984); *Prodrugs as Novel Delivery Systems*, T. Higuchi a V. Stella, 14 A.C.S. Symposium Series, and *Bioreversible Supports in Drug Design*, E. B. Roche, ed., American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987, ktoré sú tu všetky zahrnuté ako referencie.

"Farmaceuticky prijateľná soľ" označuje relatívne netoxickú, anorganickú a organickú adičnú soľ kyseliny a adičnú soľ bázy zlúčeniny podľa predloženého vynálezu. Tieto soli sa môžu pripraviť *in situ* v priebehu záverečnej izolácie a čistenia zlúčenín. Obzvlášť sa môžu adičné soli kyselín pripraviť oddelenou reakciou čistenej zlúčeniny vo forme jej voľnej bázy s vhodnou organickou alebo anorganickou kyselinou a izoláciou takto vytvorenej kyseliny.

Príklady adičných solí kyselín zahrňujú hydrobromid, hydrochlorid, síran, hydrogénsíran, fosforečnan, dusičnan, octan, šťaveľan, valerát, olej, palmitan, stearan, laurát, boritan, benzoát, mliečnan, fosfát, tosylát, citronan, maleát, fumaran, jantaran, vínan, naftylát, mesylát, glukohexonát, laktobionát, sulfamáty, malonát, salicyláty, propionáty, metylén-bis-(3-hydroxynaftoáty), gentizáty, izetionáty, di-p-toluoylvínany, metánsulfonáty, etánsulfonáty, benzénsulfonáty, p-toluénsulfonáty, cyklohexylsulfamáty a chinátlaurylsulfonáty a podobne. Pozri napríklad S. M. Berge a kol., "Pharmaceutical Salts", *J. Pharm. Sci.*, 66, 1 - 19 (1977), ktorý je tu zahrnutý ako referencia. Adičné soli báz sa môžu tiež pripraviť oddelenou reakciou čistenej zlúčeniny vo forme kyseliny s vhodnou organickou alebo anorganickou bázou a izoláciou takto vznikutej soli. Adičné soli báz zahrňujú farmaceuticky prijateľné soli kovov a aminové soli. Vhodné soli kovov zahrňujú soli sodné,

draselné, vápenaté, bárnaté, zinočnaté, horečnaté a hlinité. Sodné a draselné soli sú výhodné. Vhodné anorganické adičné soli báz sa pripravujú z báz tvorených kovmi, ktoré zahrňujú hydrid sodný, hydroxid sodný, hydroxid draselný, hydroxid vápenatý, hydroxid hlinitý, hydroxid lítny, hydroxid horečnatý, hydroxid zinočnatý a podobne. Vhodné amínové adičné soli báz sa pripravujú z amínov, ktoré majú dostatočnú zásaditosť na vytvorenie stabilnej soli a výhodne zahrňujú tie amíny, ktoré sa často používajú v lekárskej chémii kvôli ich nízkej toxicite a prijateľnosti na lekárske použitie. Ako príklad možno uviesť soli amónia, etyléndiamínu, N-metyl-glukamínu, lyzínu, arginínu, ornitínu, cholínu, N,N'-dibenzyletyléndiamínu, chlórprokaínu, dietanolamínu, prokaínu, N-benzylfenetylamínu, dietylamínu, piperazínu, tris(hydroxymetyl)-aminometánu, tetrametylamónium hydroxidu, trietylamínu, dibenzylamínu, efenamínu, dehydroabietylamínu, N-etyl piperidínu, benzylamínu, tetrametylamónia, tetraetylamónia, metylamínu, dimetylamínu, trimetylamínu, etylamínu, bázických aminokyselín, napríklad lyzínu a arginínu, a dicyklohexylamínu a podobne.

"Substituenty skupiny kruhov" znamenajú substituentov viazaných k aromatickému alebo nearomatickému kruhovému systému, ktoré zahrňujú skupiny aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxy-karbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2$, kde Y^1 , Y^2 a Y^3 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl alebo keď

substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je definovaný vyššie, alebo keď substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s dusíkovým atómom, prostredníctvom ktorého sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl. Pokiaľ kruhový systém je nasýtený alebo čiastočne nasýtený, "substituenty skupiny kruhov" ďalej zahrňujú metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$) a tioxo ($S=$). Kyslé/amidové substituenty skupiny kruhov sú karboxy (kyselina), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl a Y^1Y^2NCO- . Nekyslé polárne substituenty skupiny kruhov sú hydroxy, oxo ($O=$), tioxo ($S=$), acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, tiol, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$.

"Solvát" znamená fyzikálne spojenie zlúčeniny podľa predloženého vynálezu s jednou alebo viacerými molekulami rozpúšťadla. Toto fyzikálne spojenie zahrňuje vodíkovú väzbu. V istých prípadoch je solvát schopný izolácie, napríklad pokiaľ jedna alebo viacero molekúl rozpúšťadla sú zabudované do kryštalickej mriežky kryštalickej pevnej látky. "Solvát" zahrňuje roztokovú fázu a izolovateľné solváty. Príklady solvátov zahrňujú hydráty, etanoláty, metanoláty a podobne.

Výhodné uskutočnenia

V ďalšom texte sú uvedené konkrétne a výhodné uskutočnenia

predloženého vynálezu.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^0 je väzba.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^0 je difluórmetylén.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^1 je atóm vodíka alebo prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^1 je atóm vodíka alebo nižší alkyl.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^1 je atóm vodíka.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^2 je prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina alebo prípadne substituovaná monocyklická skupina.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^2 je prípadne substituovaný nižší alkyl, prípadne substituovaný nižší alkenyl alebo prípadne substituovaný monocyklický cykloalkyl.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^2 je karboxymetyl, 1-karboxy-2-fenyletyl, cyklopropyl, cyklobutyl, 1-cyklohexyletyl, 1-fenyletyl, but-2-yl, 1-pyrid-4-yletyl, propén-3-yl alebo 3-metylbut-2-yl; výhodnejší je cyklopropyl.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^3 je prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina metylén.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^3 je prípadne atómom halogénu substituovaný nižší (alkyl alebo alkenyl)metylén.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^3 je propylmetylén, 2,2-difluóretylmetylén, 2,2,2-trifluórmetylén alebo propén-3-ylmetylén; výhodnejší R^3 je propylmetylén alebo 2,2-difluóretylmetylén; ešte výhodnejší R^3 je propylmetylén.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^4 je atóm vodíka alebo prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^4 je atóm vodíka alebo nižší alkyl.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^4 je atóm vodíka.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^5 je prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina metylén.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^5 je prípadne (fenyľ, karboxy, karboxamido alebo alkoxykarbonyl) substituovaný nižší (alkyl alebo alkenyl) metylén.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^5 je metylmetylén, izopropylmetylén, terc-butylmetylén, but-2-ylmetylén, butylmetylén, benzylmetylén, 3-metylbutylmetylén, 2-metylpropyl-metylén, karboxymethylmetylén, karboxamido-methylmetylén, benzyloxykarbonylmethylmetylén, benzyloxykarbonylpropylmetylén alebo fenylpropén-3-ylmetylén; výhodnejší R^5 je izopropylmetylén alebo terc-butyl-metylén.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^6 je atóm vodíka alebo prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^6 je atóm vodíka alebo nižší alkyl.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^6 je atóm vodíka.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^7 je prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina metylén, prípadne substituovaná nižšia cyklická skupina metylén alebo prípadne substituovaný monocyklický (aryl alebo heteroaryl) metylén.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^7 je prípadne substituovaný nižší alkylmetylén, prípadne substituovaný nižší

cykloalkylmetylén alebo prípadne substituovaný fenylmetylén.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^7 je metylmetylén, izopropylmetylén, n-propylmetylén, fenylmetylén, cyklohexylmetylén, cyklopentylmetylén, terc-butylmetylén, s-butylmetylén, cyklohexylmetylmetylén alebo fenylmetylmetylén; výhodnejší je izopropylmetylén, cyklohexylmetylén, cyklopentylmetylén, terc-butylmetylén alebo s-butylmetylén.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je tiež také, že každý z R^3 , R^5 a R^7 je monosubstituovaný metylén.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je tiež také, že R^3 je monosubstituovaný metylén a má (S) konfiguráciu na atóme uhlíka viazanom k skupine $-C(O)-R^0-C(O)-NR^1R^2$.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^8 je atóm vodíka alebo prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^8 je atóm vodíka alebo nižší alkyl.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^8 je atóm vodíka.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^9 je prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina alebo prípadne substituovaná monocyklická aromatická skupina.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^9 je prípadne substituovaný nižší alkyl alebo prípadne substituovaný monocyklický heteroaryl.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^9 je prípadne (karboxy, (nižší alkyl)) SO_2NH- , (nižší alkyl) $HNCO-$, hydroxy, fenyl, heteroaryl, alebo (nižší alkyl) $OC(O)_nH$ -substituovaný nižší alkyl alebo prípadne substituovaný monocyklický heteroaryl.

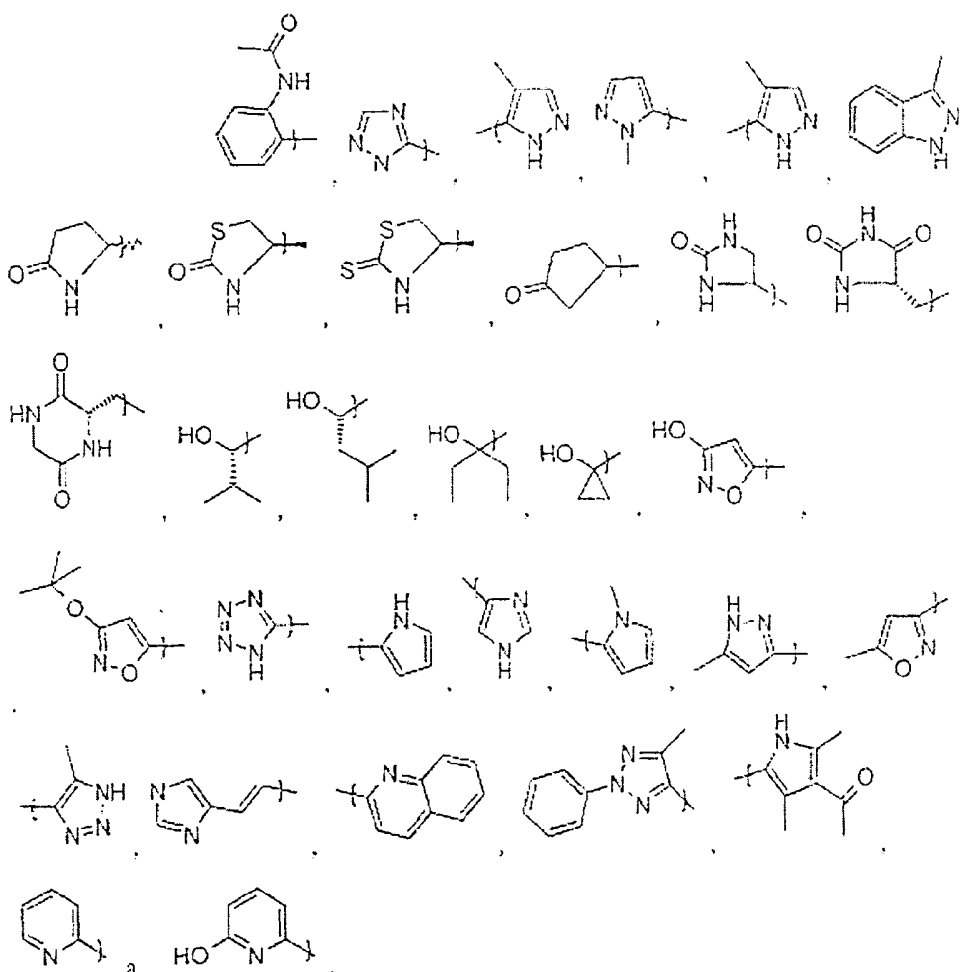
Ešte výhodnejšie uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^9 je

nižší alkyl substituovaný skupinou (mono- alebo di-)MeOC(O)_nH-; výhodnejšie je 1,2-di(MeOC(O)_nH)-etyl alebo 1-(MeOC(O)_nH)-etyl.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R⁹ je (karboxy, (nižší alkyl) HNCO- alebo tetrazolyl) substituovaný nižší alkyl; výhodnejšie 3-karboxypropyl, 2-tetrazol-5-ylpropyl, 3-(N-metylkarboxamido)propyl alebo 3-karboxy-2,2-dimetylpropyl; ešte výhodnejšie je 3-karboxypropyl, 2-tetrazol-5-ylpropyl alebo 3-(N-metylkarboxamido)propyl.

Ďalšie výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R⁹ je prípadne substituovaný nižší alkyl; výhodnejšie je 1-hydroxy-2-fenyletyl, metyl, izopropyl alebo terc-butyl; ešte výhodnejšie je metyl, izopropyl alebo terc-butyl.

Ďalšie výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R⁹ je zvolený zo súboru, zahrňujúceho:



Ešte ďalšie výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^9 je pyrazinyl.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{10} je atóm vodíka alebo prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{10} je atóm vodíka alebo nižší alkyl.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{10} je atóm vodíka.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že

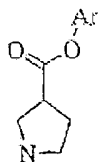


ako substituovaný monocyklický azaheterocyklyl je substituovaný pyrrolidinyl.

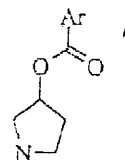
Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že



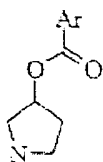
ako substituovaný monocyklický azaheterocyklyl je prípadne substituovaný



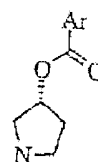
alebo prípadne substituovaný



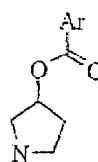
kde Ar je R^2 obsahujúci aromatickú časť; výhodnejšie je prípadne substituovaný



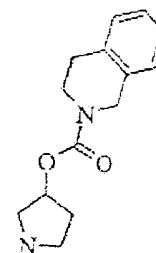
; ešte výhodnejšie je prípadne substituovaný

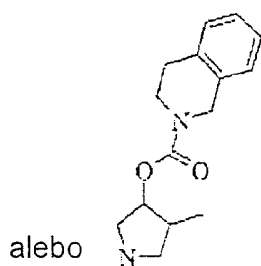


Ďalší výhodný prípadne substituovaný

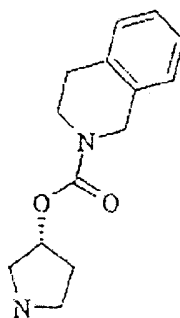


je

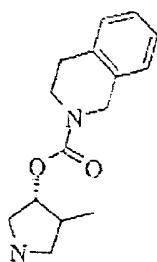




; ešte výhodnejší je



alebo



Iné výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že



ako prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl je prípadne substituovaný



, výhodnejší je prípadne substituovaný



Zvlášťne substituenty pre



sú hydroxy, fluór alebo oxo.

Iné výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že



ako prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl je prípadne substituovaný



; výhodnejší je



;

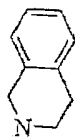
ešte výhodnejší je



Iné výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že



ako prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl je prípadne substituovaný



Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že

$-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)R^0C(O)_nR^2R^1$ časť viazaná k



je viazaná α -

atómom uhlíka k atómu dusíka.

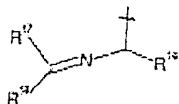
Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že L je $-C(O)-$ alebo $-OC(O)-$.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že n je 0.

Iné výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že n je 1.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{11} je $-CO_2R^{13}$.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{12} je



Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{13} je prípadne substituovaná alifatická skupina.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{13} je alkylová skupina.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{13} je nižší alkyl.

Iné výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{13} je metyl.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{14} je $-CO_2R^{16}$.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{15} je alkyl.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{15} je nižší alkyl.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{15} je metyl.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{16} je prípadne substituovaná alifatická skupina.

Ďalšie konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{16} je alkyl.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{16} je nižší alkyl.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{16} je t-Bu.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{17} je prípadne substituovaný aryl.

Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{17} je fenyl.

Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{18} je prípadne substituovaný aryl.

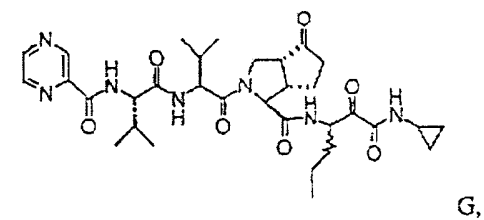
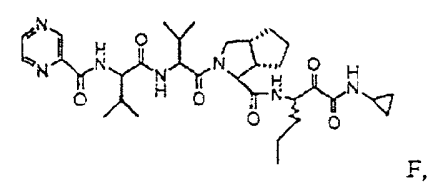
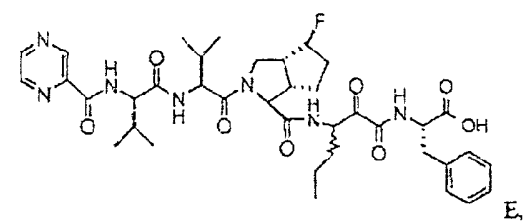
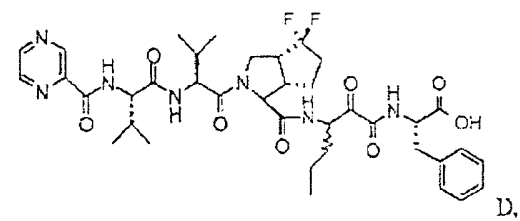
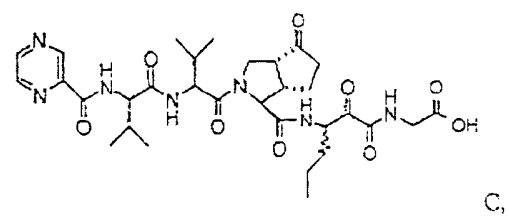
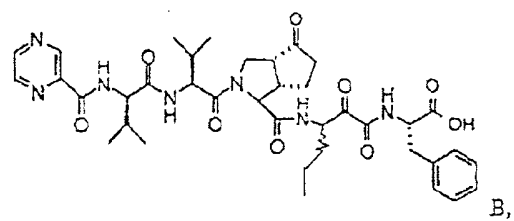
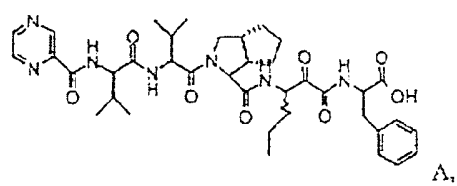
Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že R^{18} je fenyl.

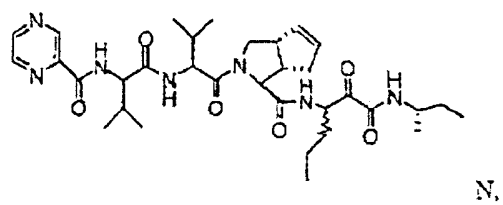
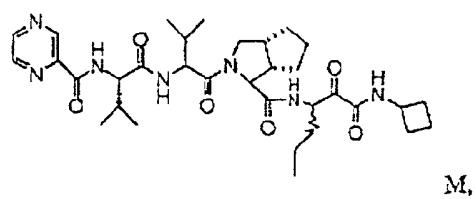
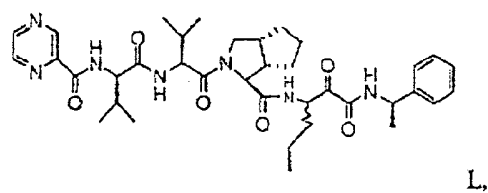
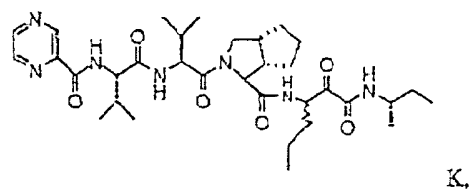
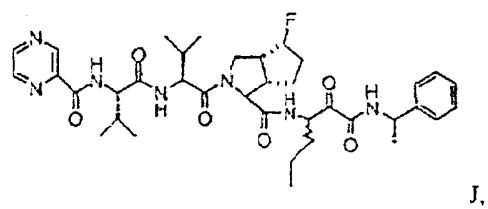
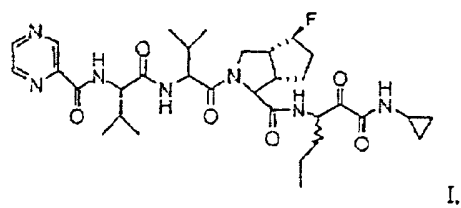
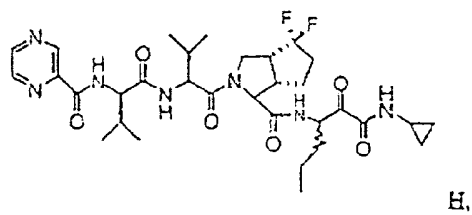
Konkrétne uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že p^0 je zvolený zo súboru, zahrňujúceho BOC, CBz a -CO-alkyl.

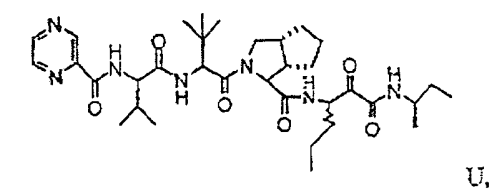
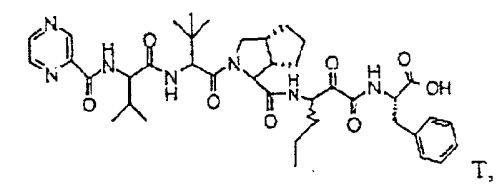
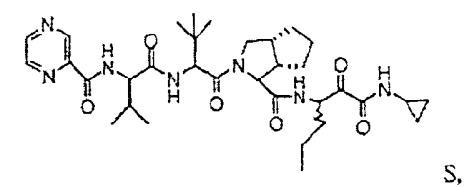
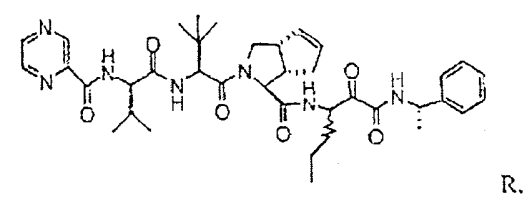
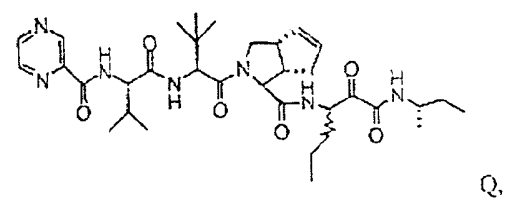
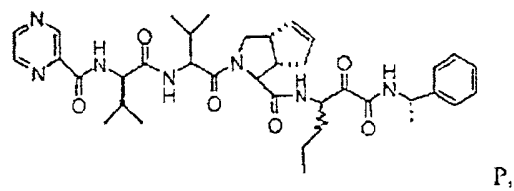
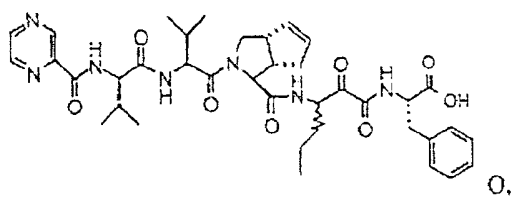
Výhodné uskutočnenie predloženého vynálezu je také, že p^0 je BOC.

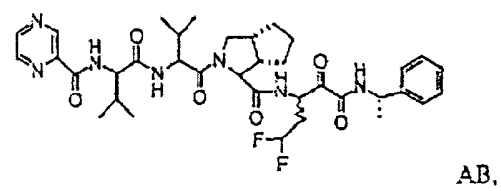
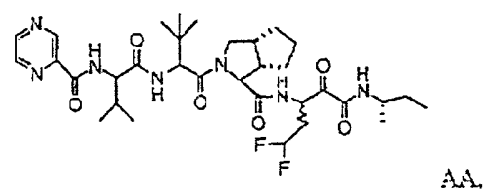
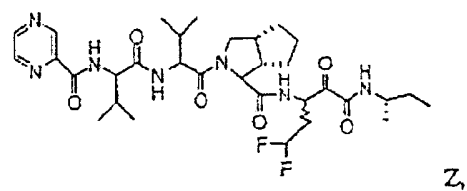
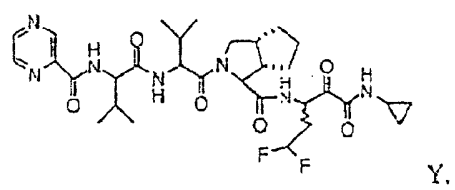
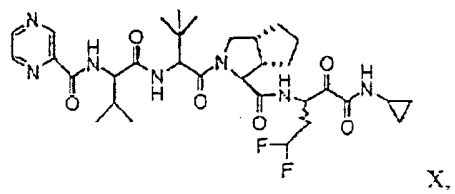
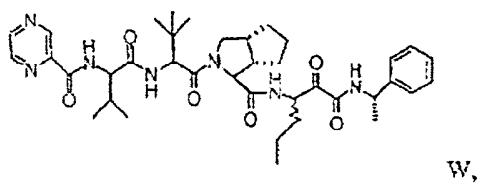
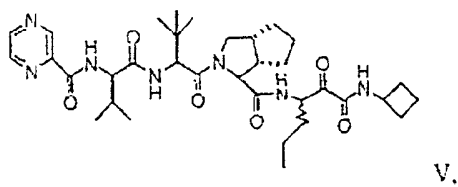
Je zrejmé, že predložený vynález zahrňuje všetky vhodné kombinácie konkrétnych výhodných uskutočnení.

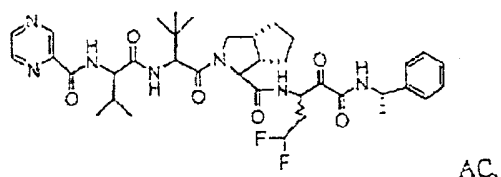
Konkrétne zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sú zvolené zo súboru, zahrňujúceho zlúčeniny A-FH, ktoré postupne sú nasledujúce:



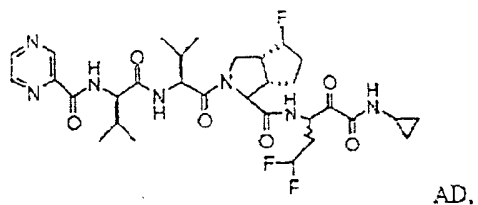




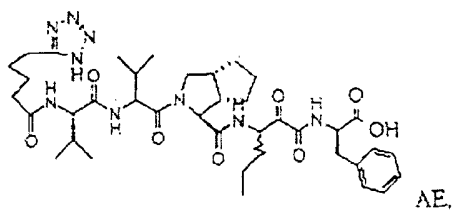




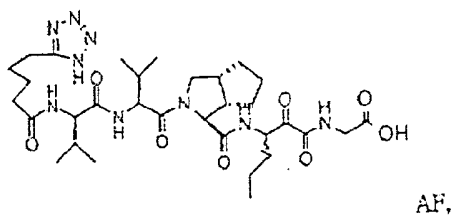
AC,



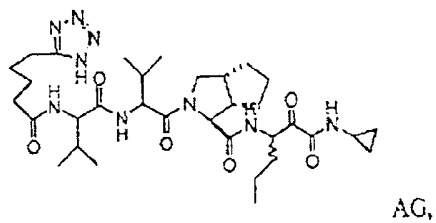
AD,



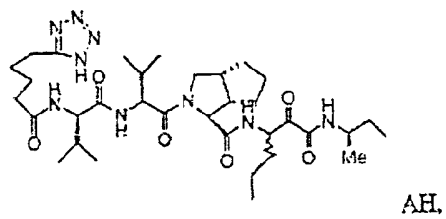
AE,



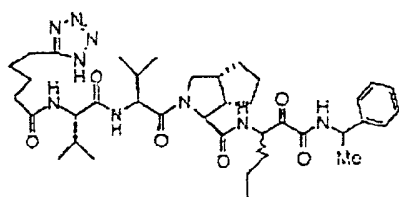
AF,



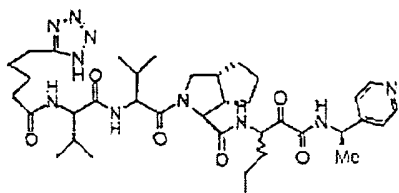
AG,



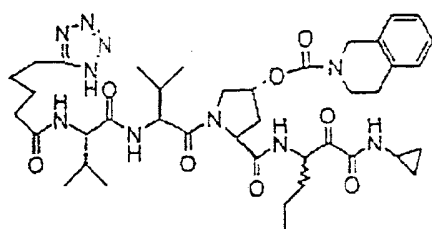
AH,



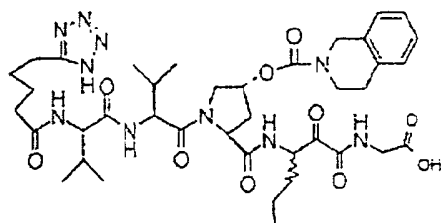
AI,



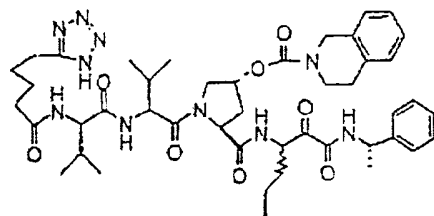
AJ,



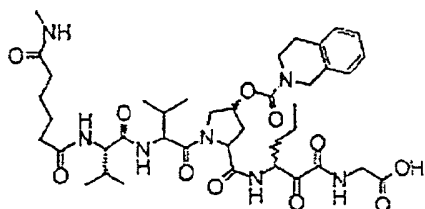
AK,



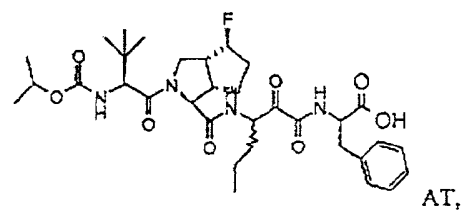
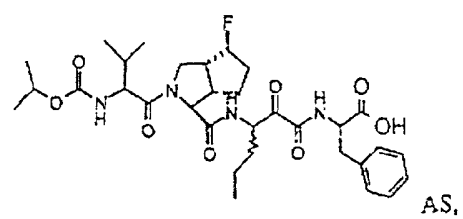
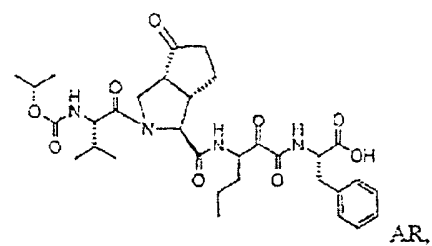
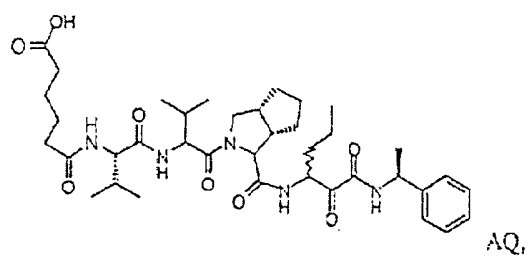
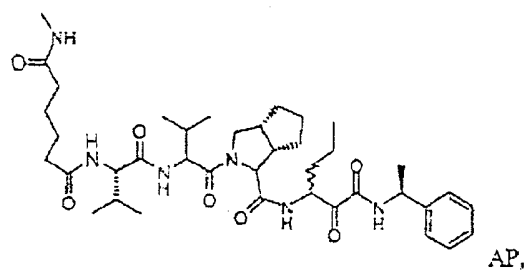
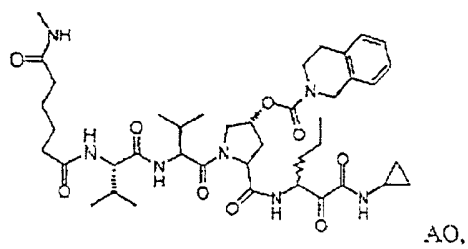
AL,

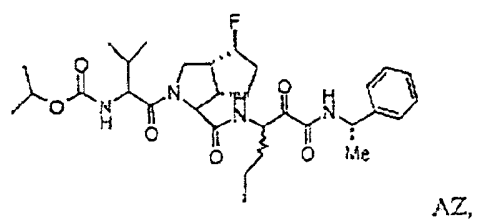
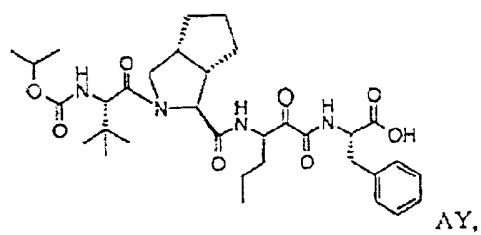
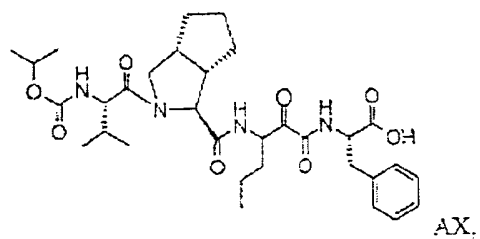
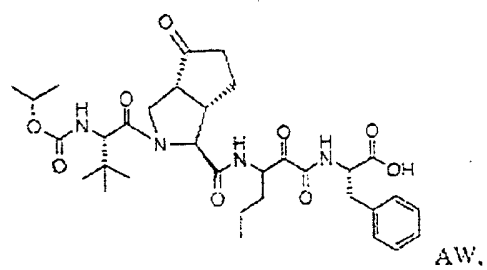
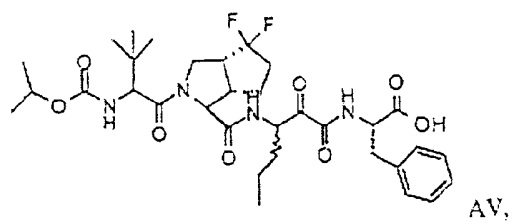
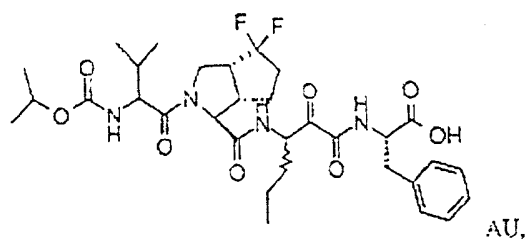


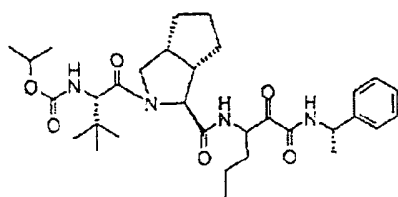
AM,



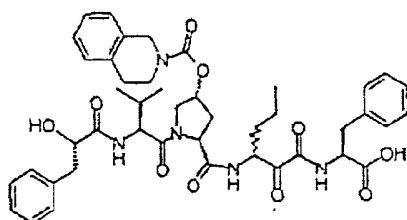
AN,



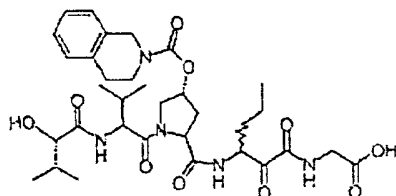




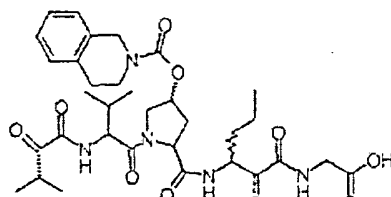
BG,



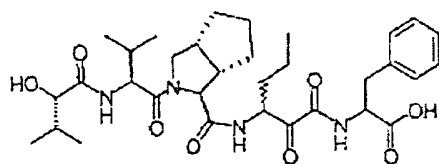
BH,



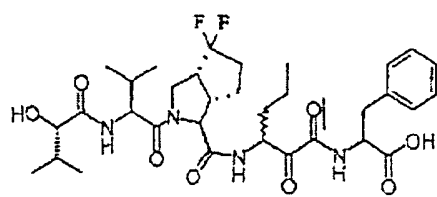
BL



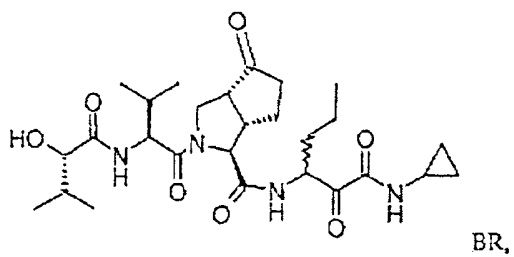
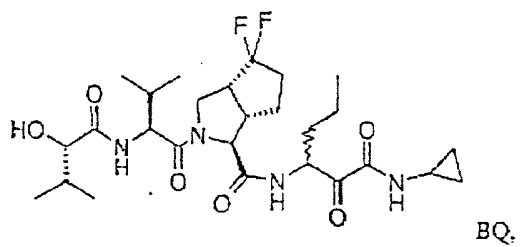
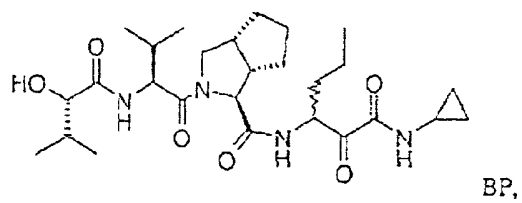
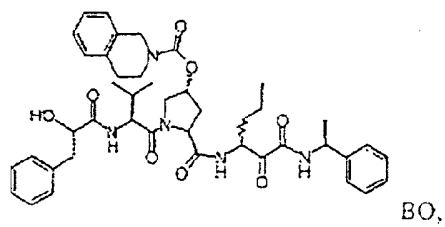
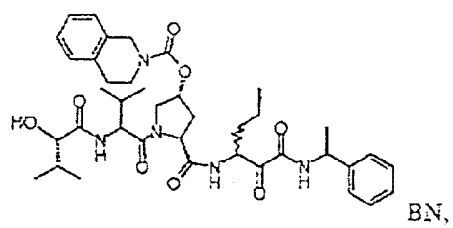
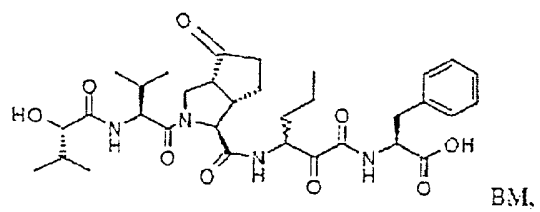
BJ,

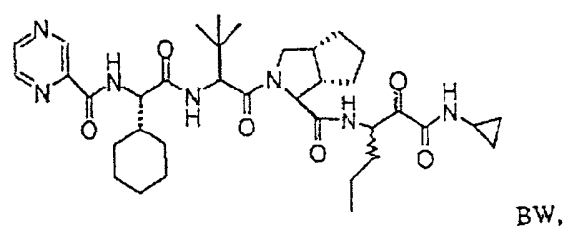
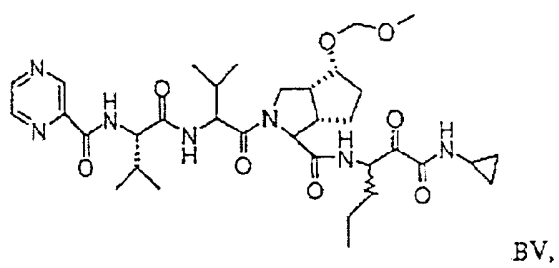
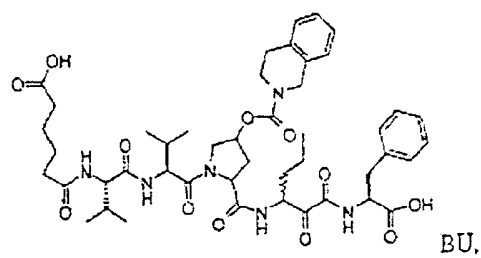
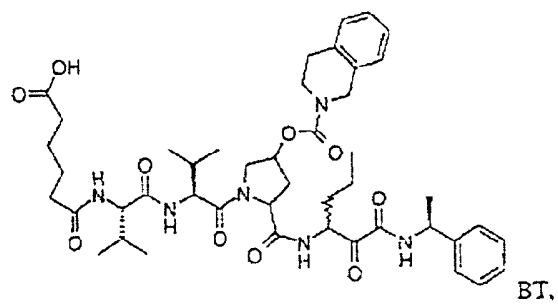
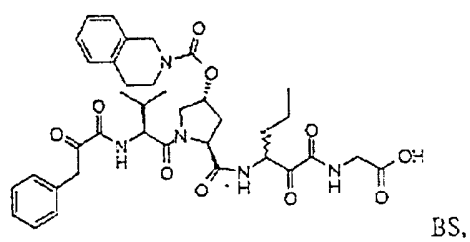


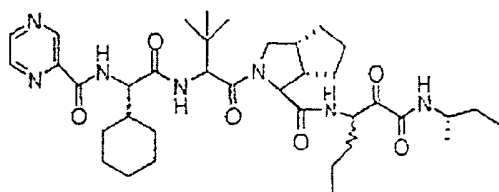
BK,



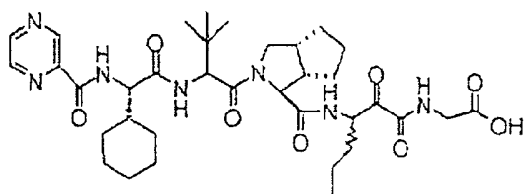
BL,



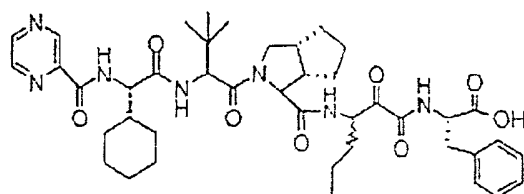




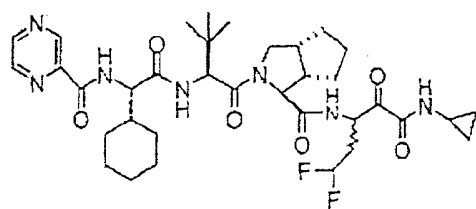
BX,



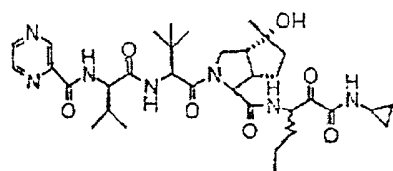
BY,



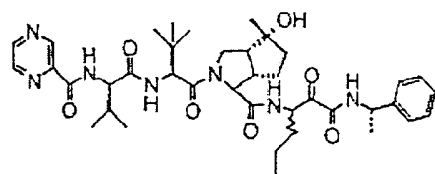
BZ,



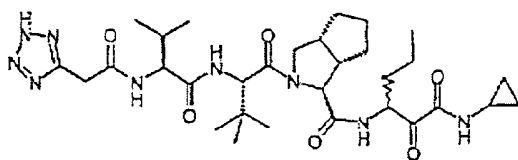
CA,



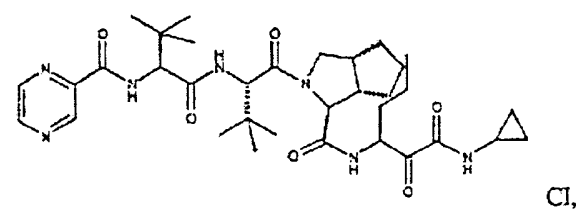
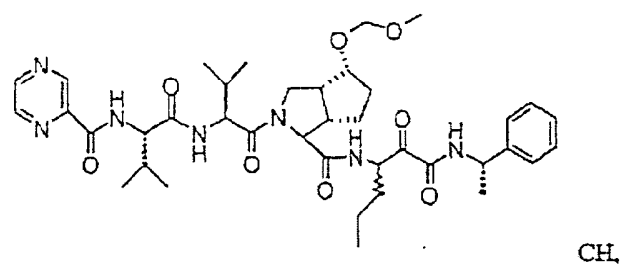
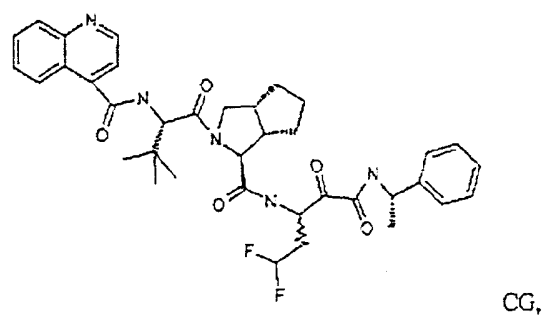
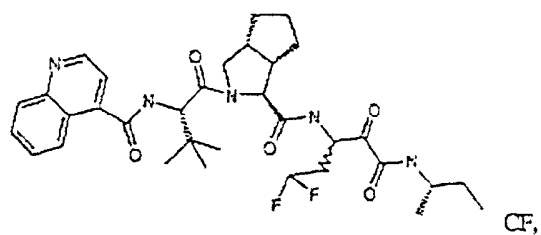
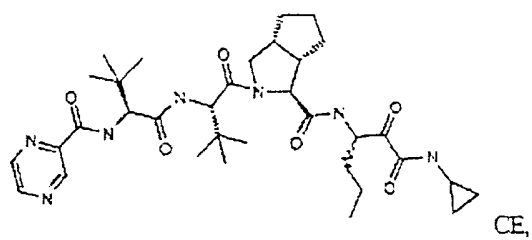
CB,

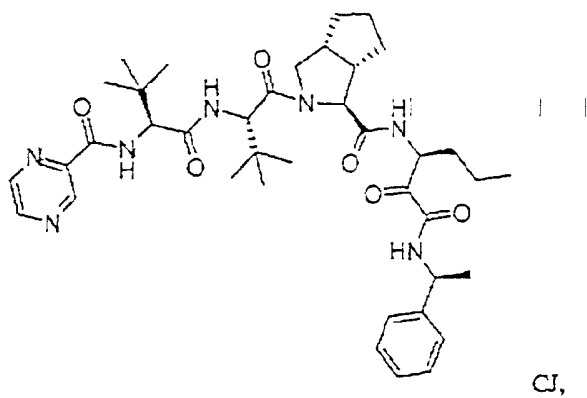


CC,

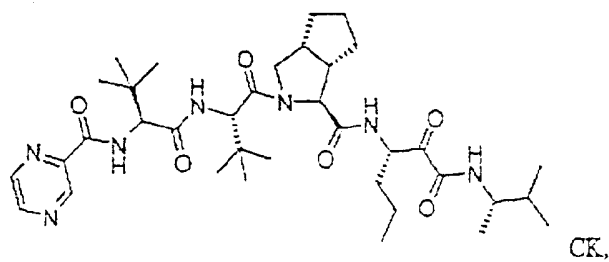


CD,

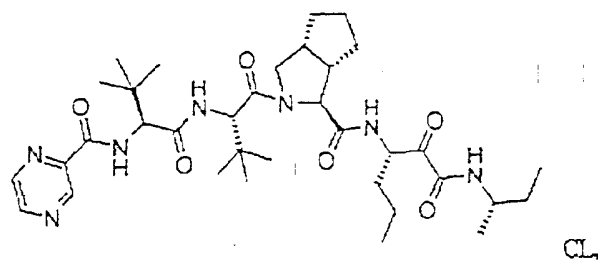




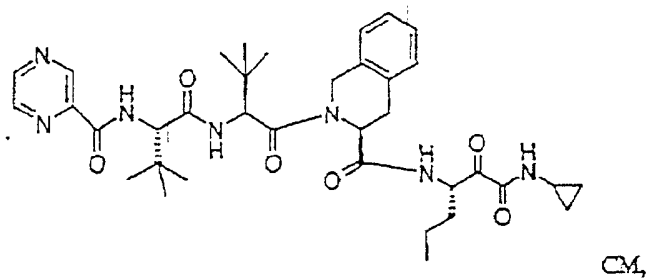
CJ,



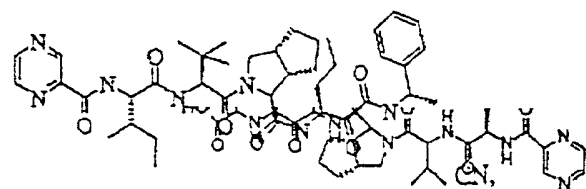
CK,



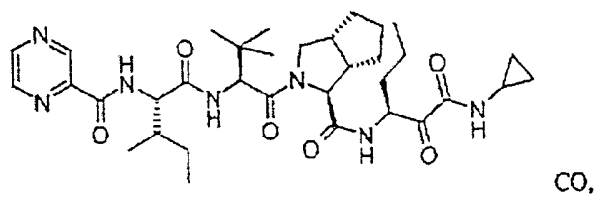
CL



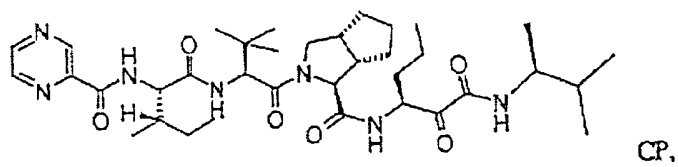
CM,



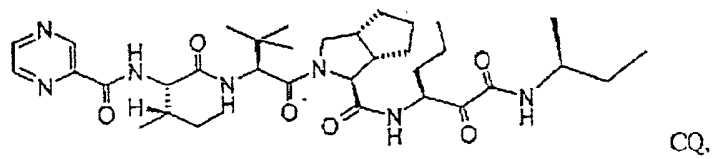
CN,



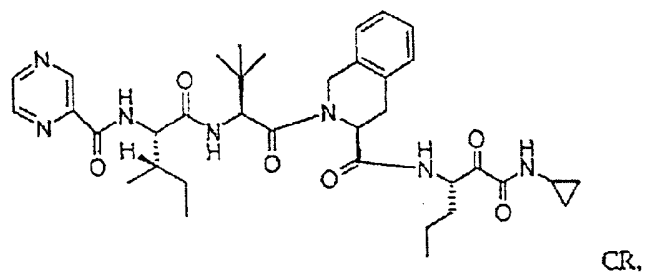
CO,



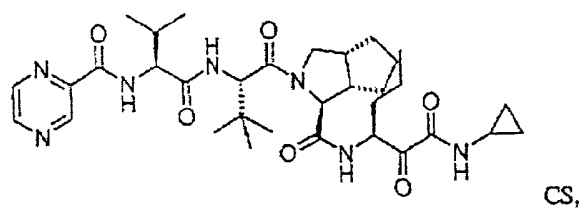
CP,



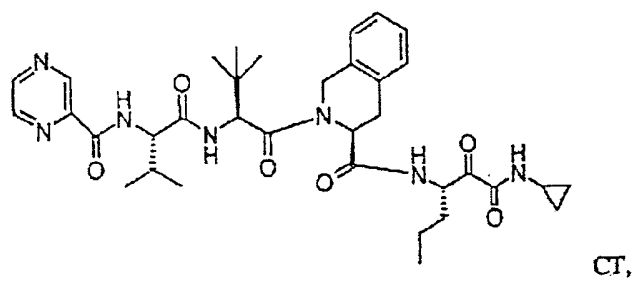
CQ,



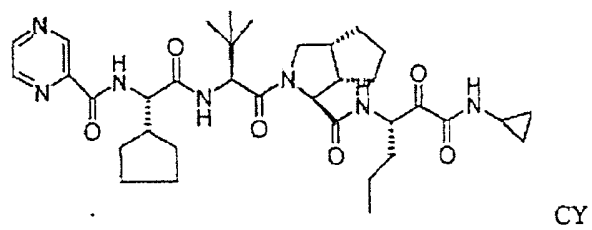
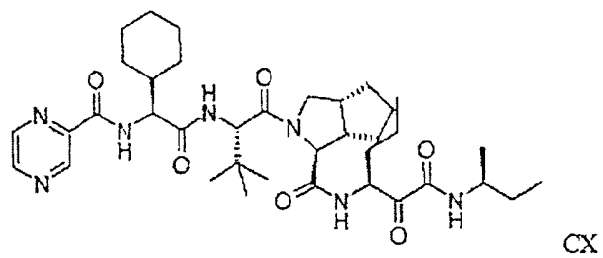
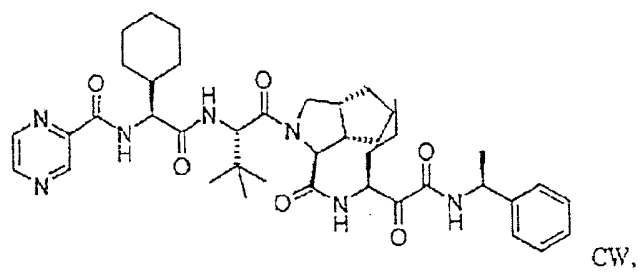
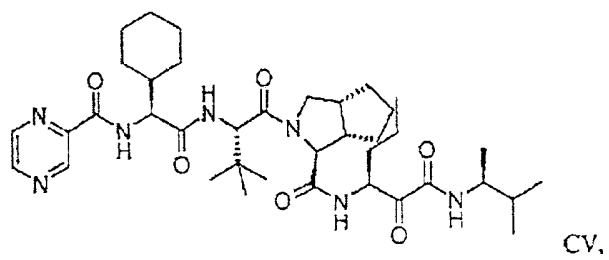
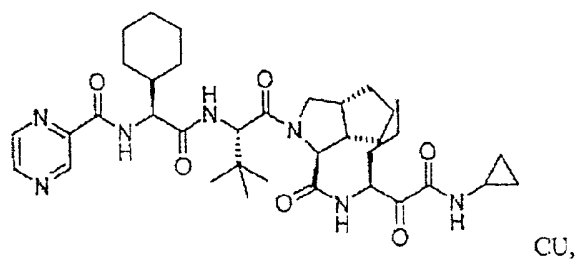
CR,

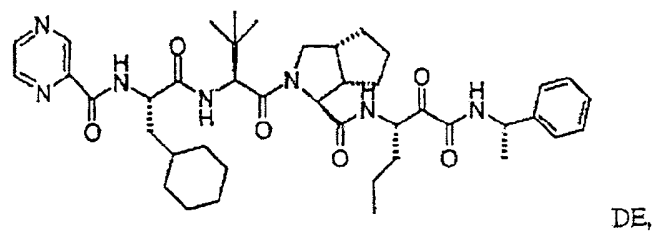
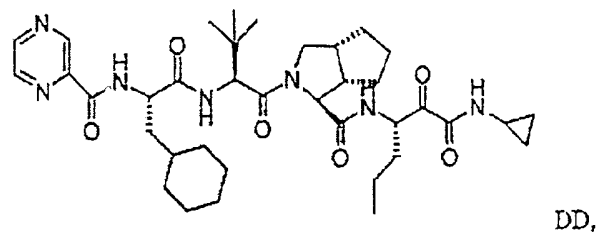
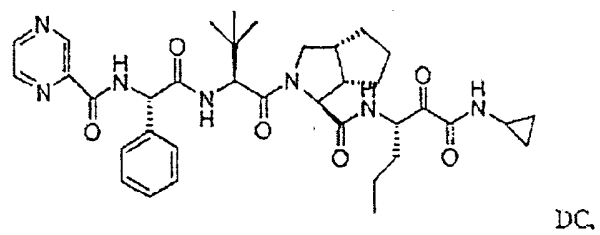
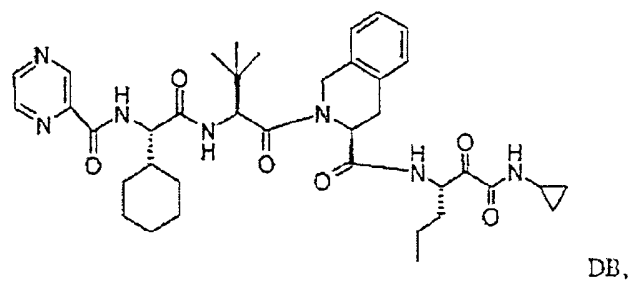
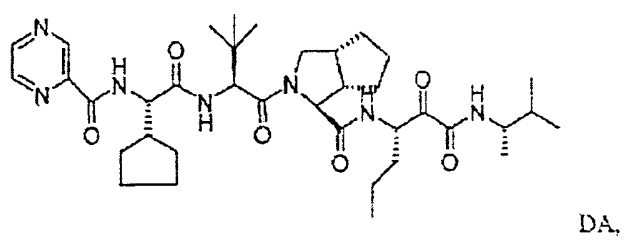
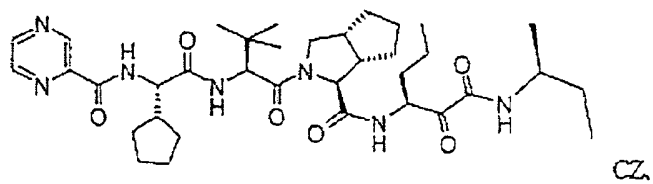


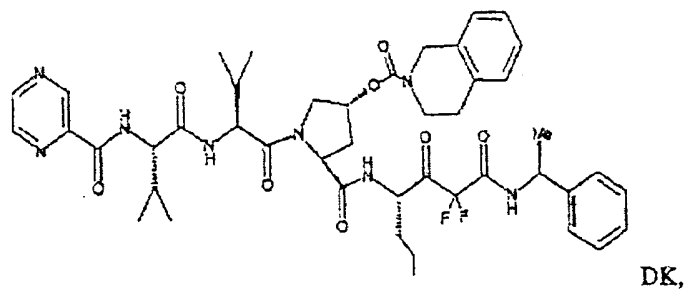
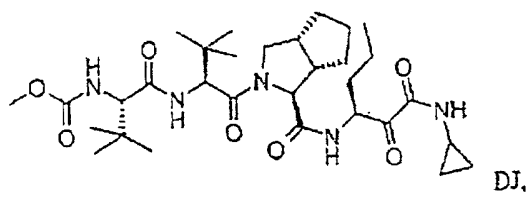
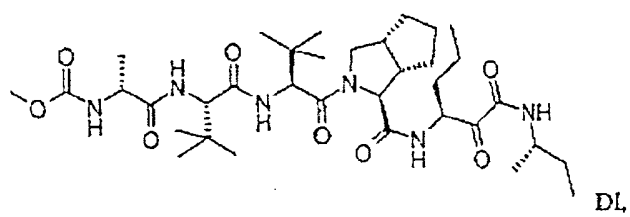
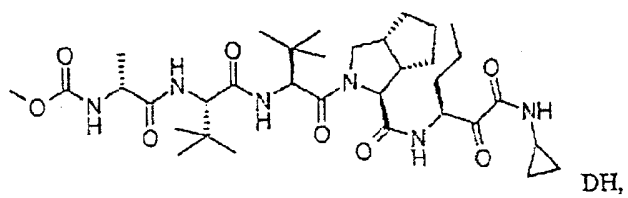
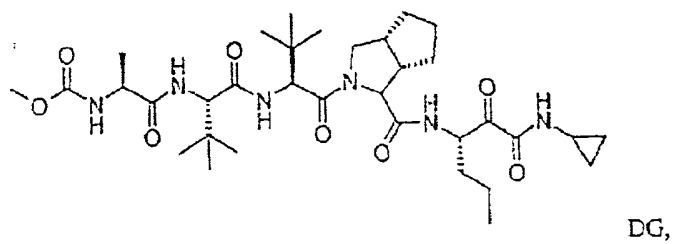
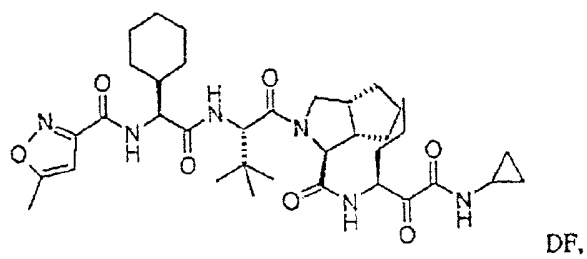
CS,

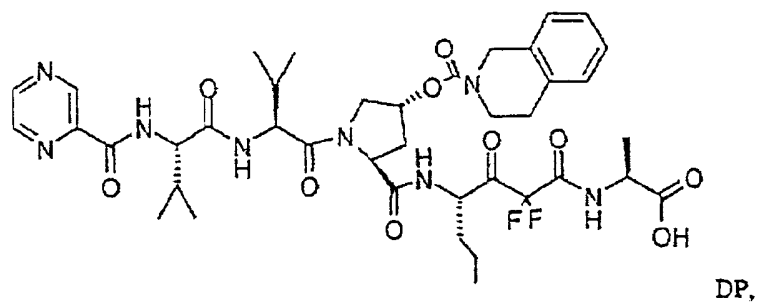
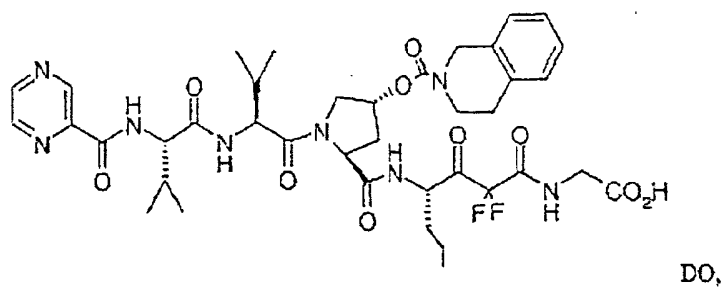
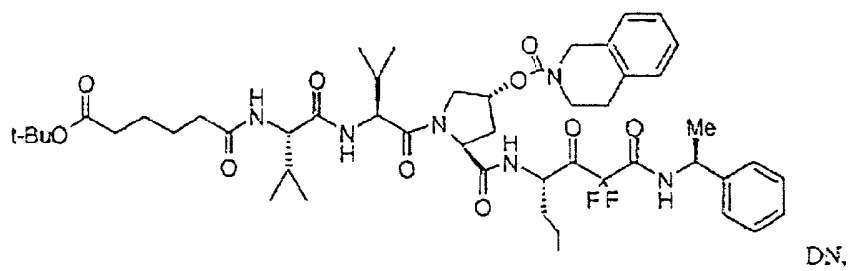
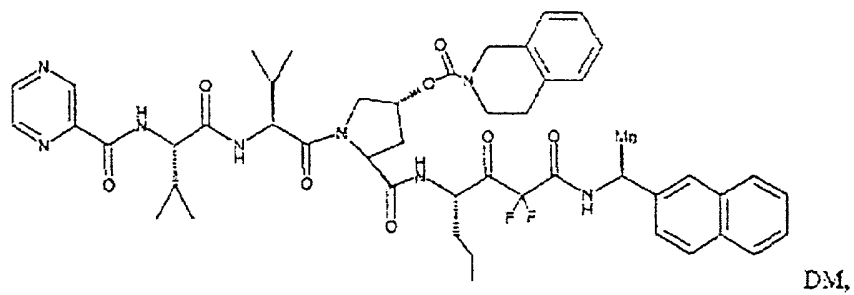
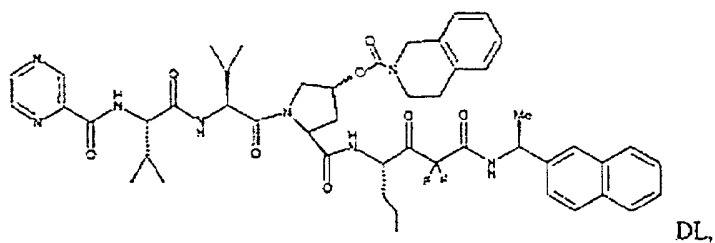


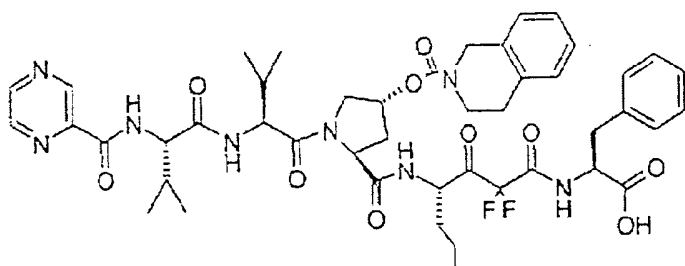
CT,



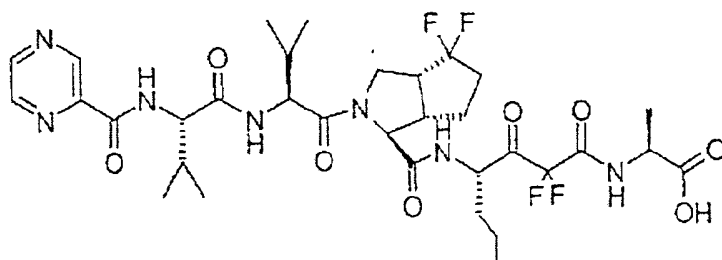




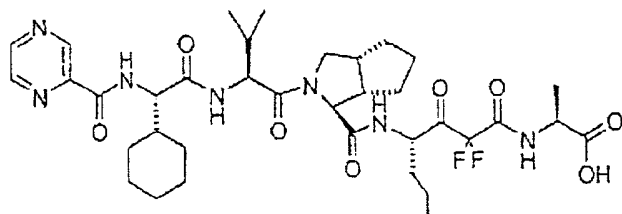




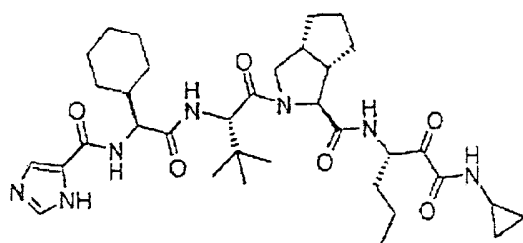
DQ,



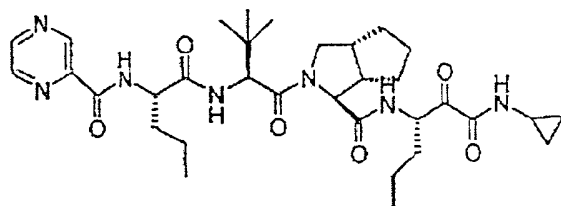
DR,



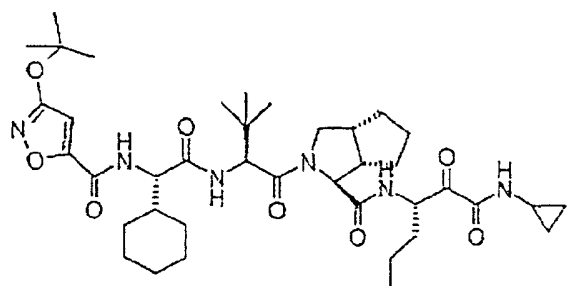
DS,



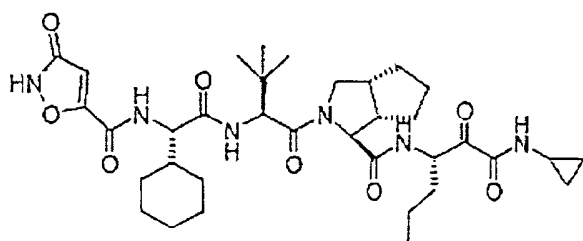
DT,



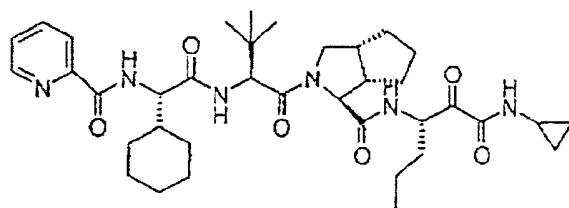
DU,



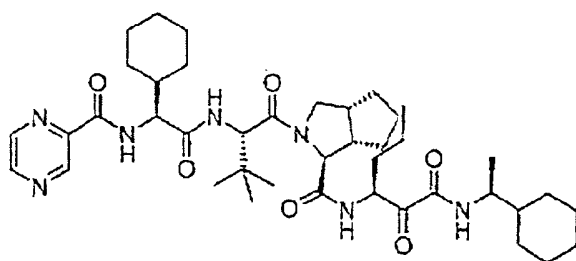
DV,



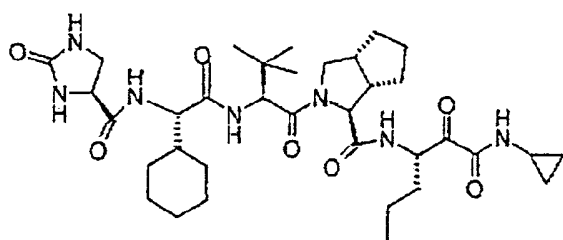
DW,



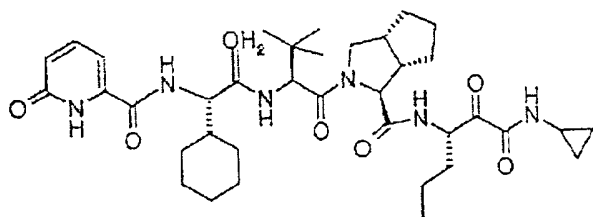
DX,



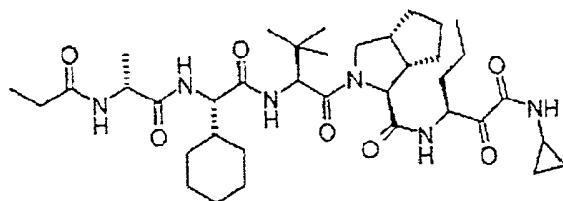
DY,



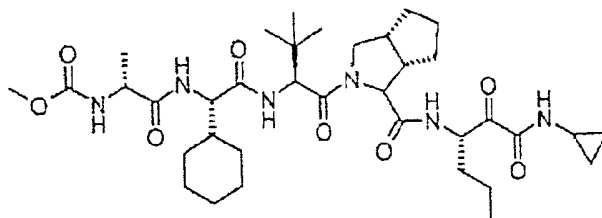
DZ,



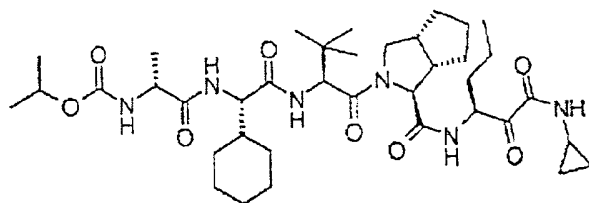
EA,



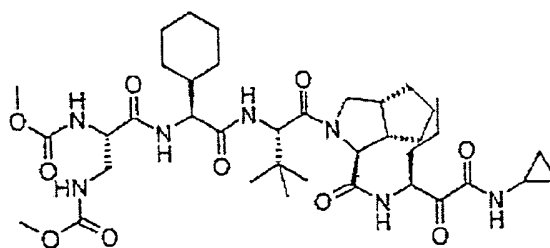
EB,



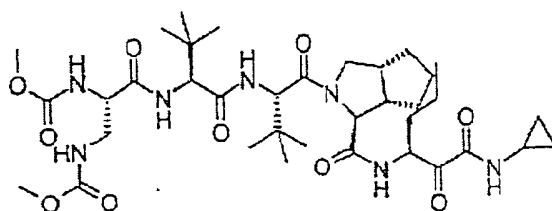
EC,



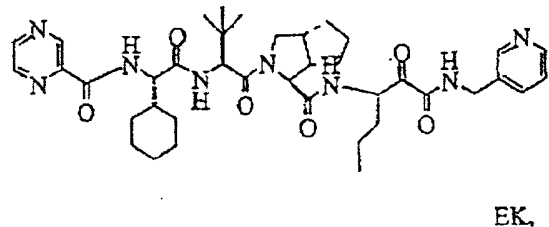
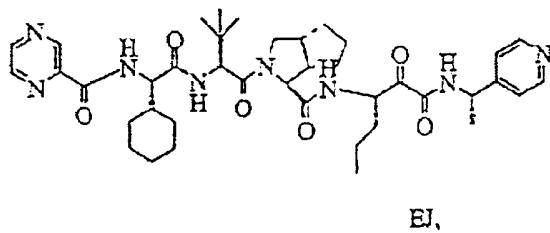
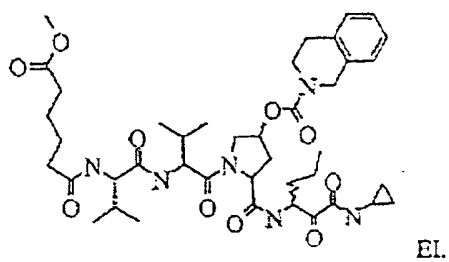
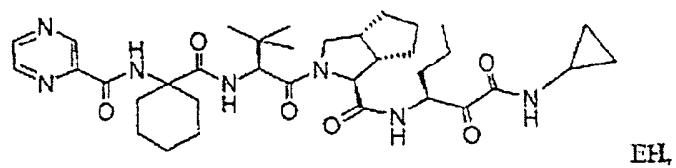
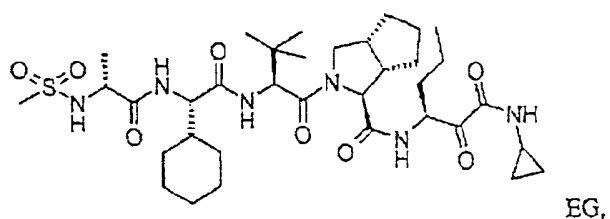
ED,

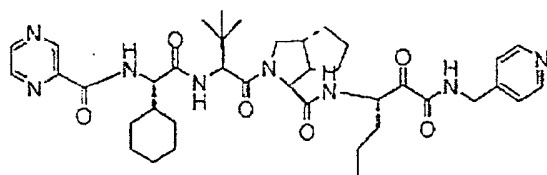


EE,

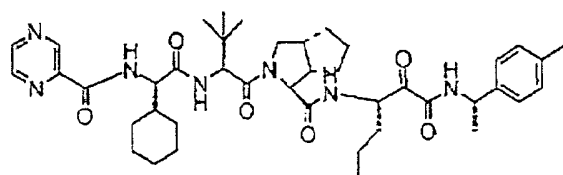


EF,

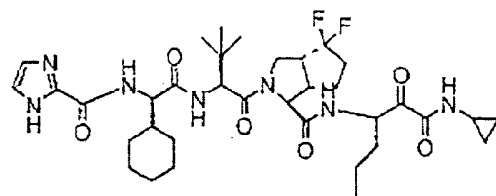




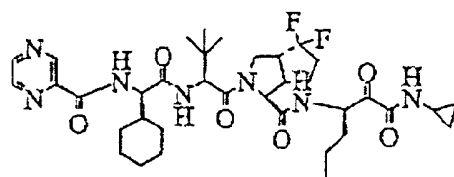
EL,



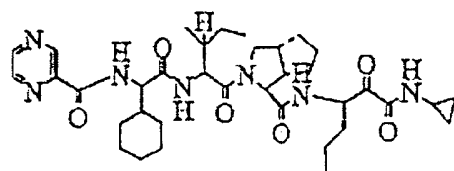
EM,



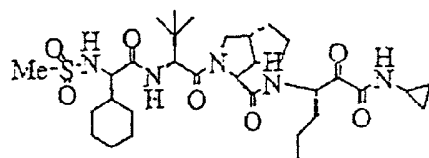
EN,



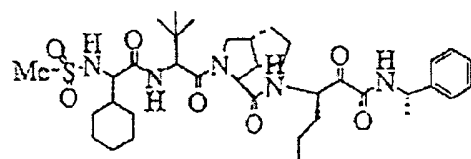
EO,



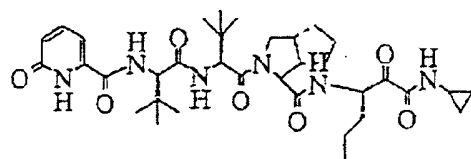
EP,



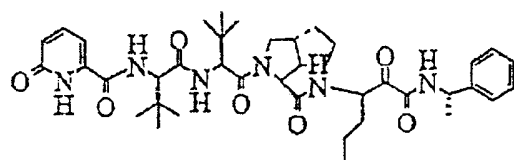
EQ,



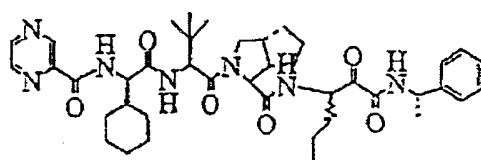
ER,



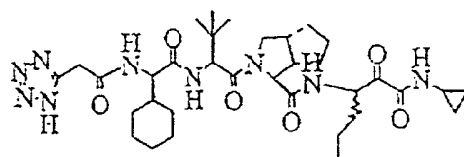
ES,



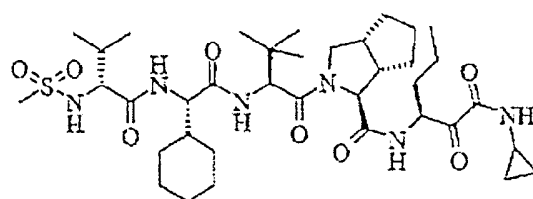
ET,



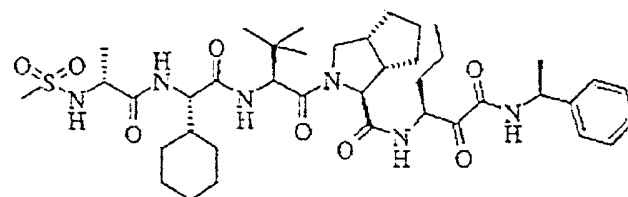
EU,



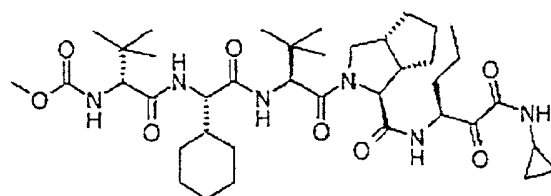
EV,



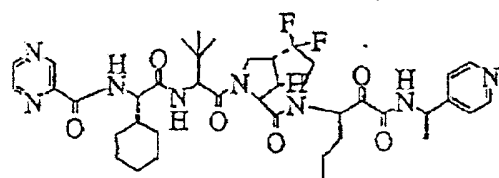
EW,



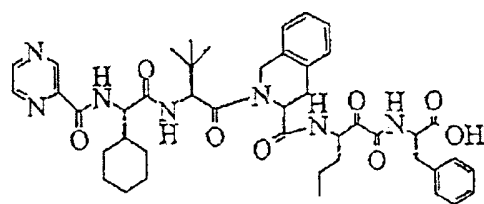
EX,



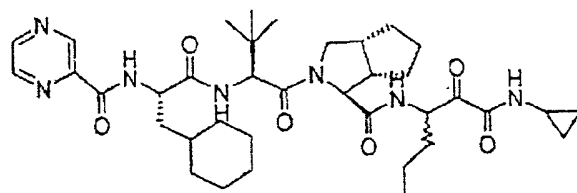
EY,



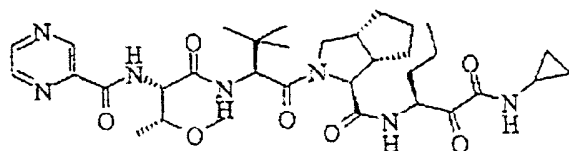
EZ,



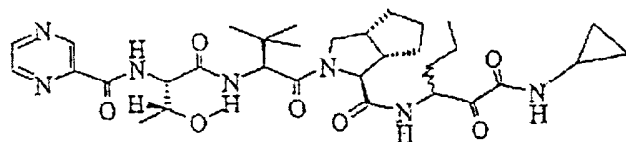
FA,



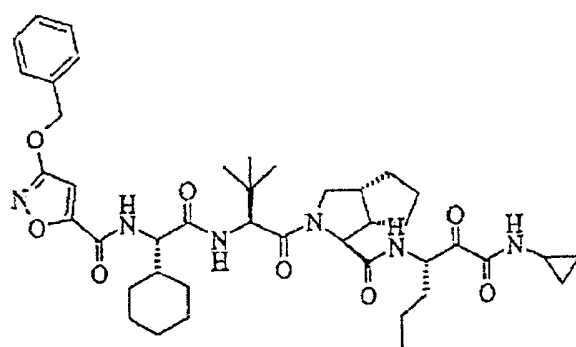
FB,



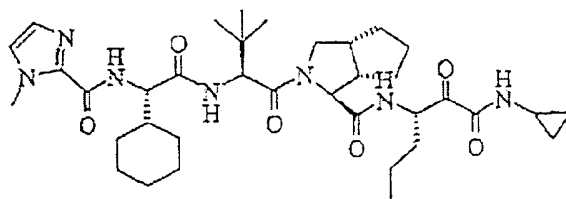
FC,



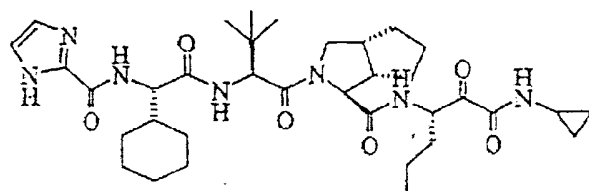
FD,



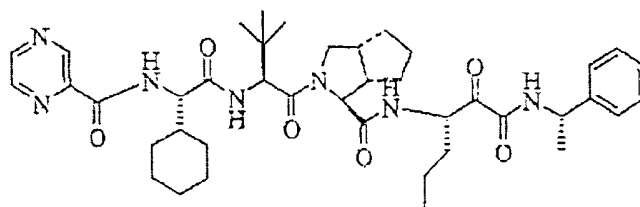
FE,



FF,



FG, and

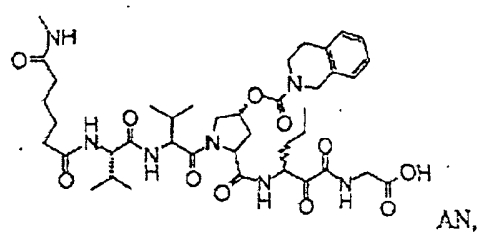


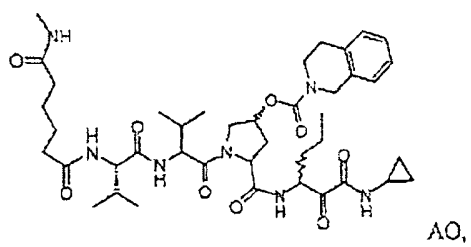
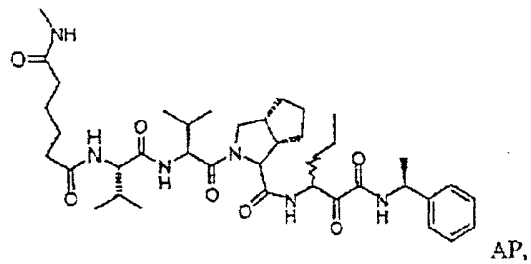
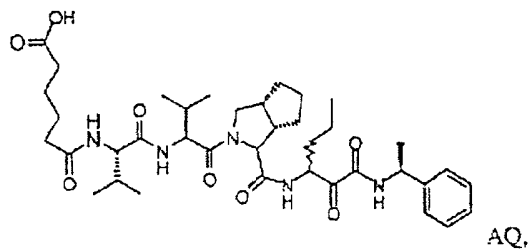
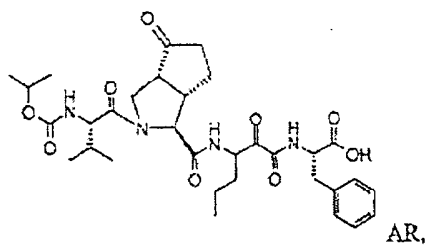
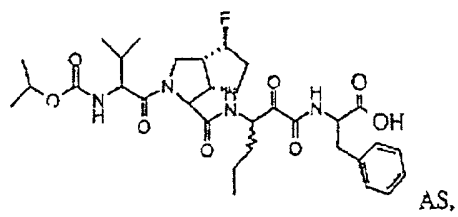
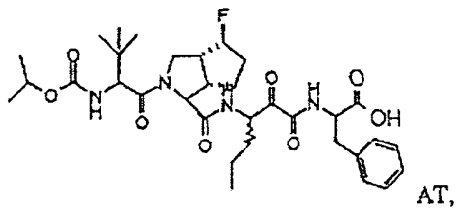
FH,

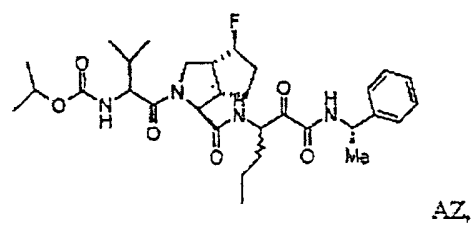
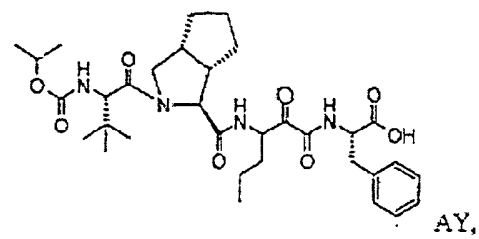
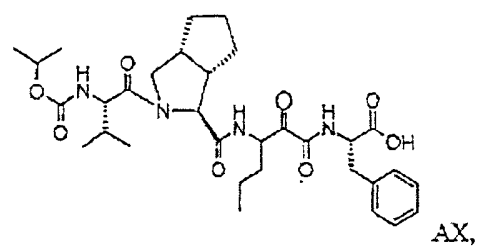
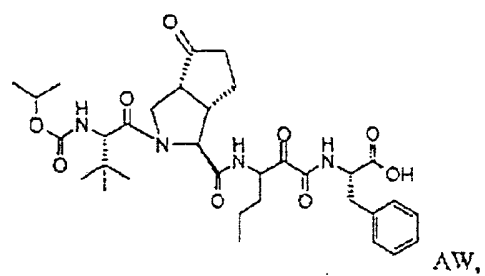
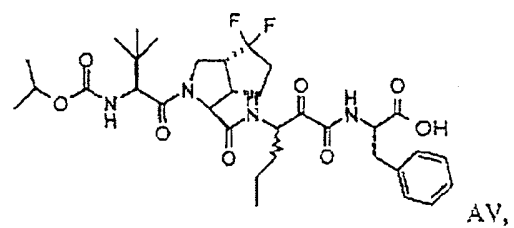
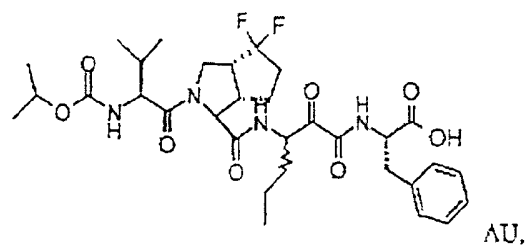
alebo ich farmaceuticky prijateľné soli alebo prekursorov alebo solváty takýchto zlúčenín, ich soli alebo prekursorov.

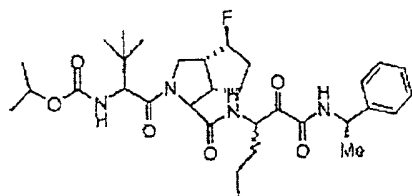
Výhodná zlúčenina je zlúčenina zvolená zo súboru, zahrňujúceho S, U, BW, BX, BY, BZ, CE, CU, CW, CY, DZ, EA, EC, EJ, FH, EW, EO, EZ, FG a EN a ich farmaceuticky prijateľné soli alebo prekursorov alebo solváty takýchto zlúčenín, ich soli alebo prekursorov.

Iné výhodné uskutočnenia predloženého vynálezu sú zvolené zo súboru, zahrňujúceho nasledujúcu skupinu zlúčenín:

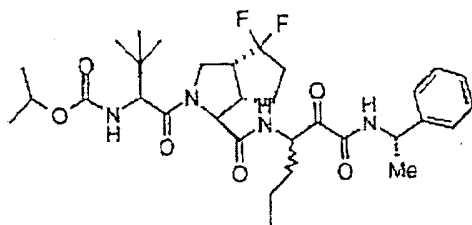


AQ₁AP₁AQ₂AR₁AS₁AT₁

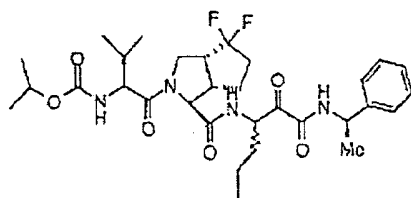




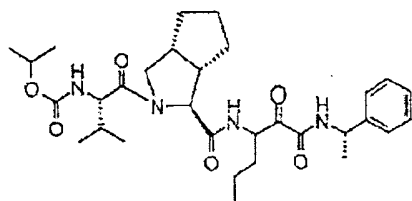
BA,



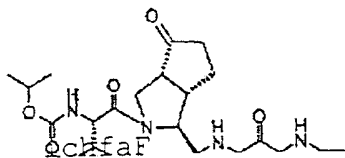
BB,

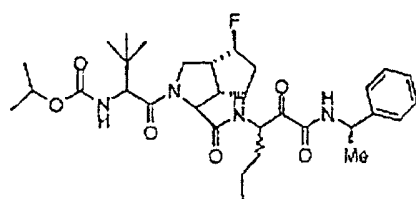


BC,

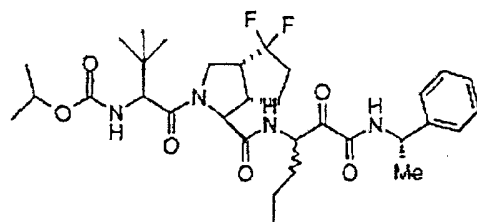


BD,

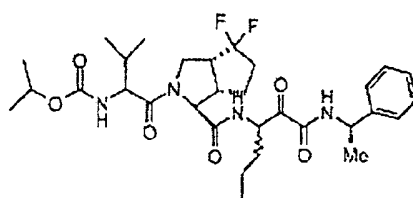




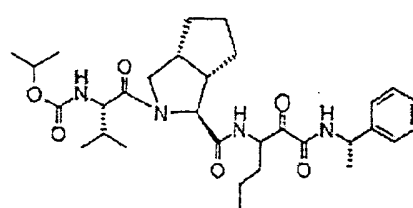
BA,



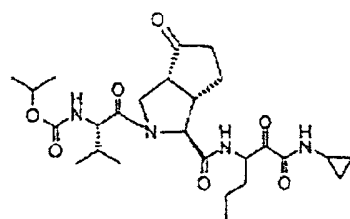
BB,



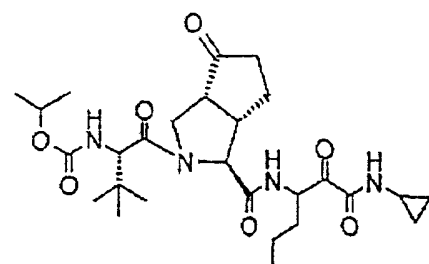
BC,



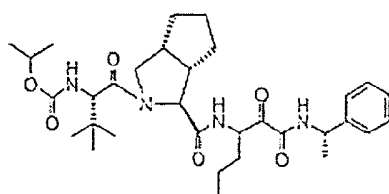
BD,



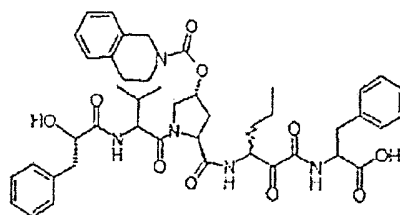
BE,



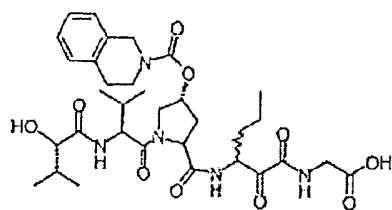
BF,



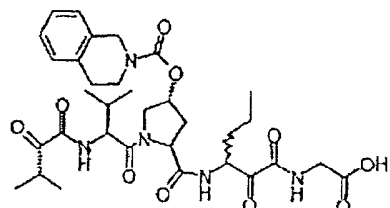
BG,



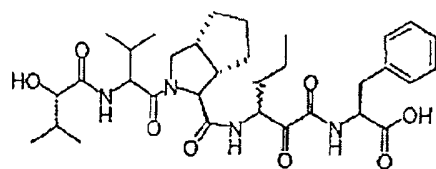
BH,



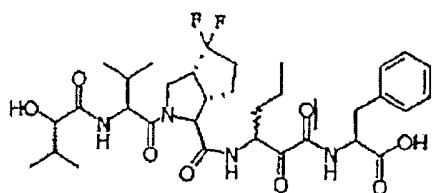
BI,



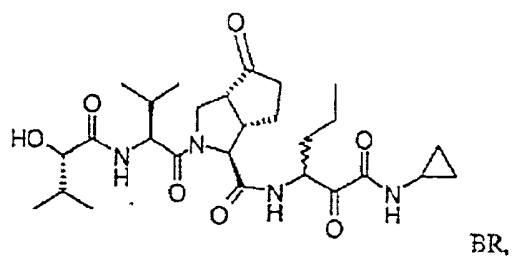
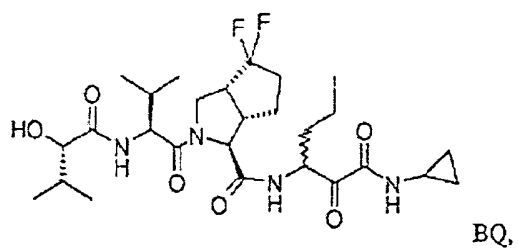
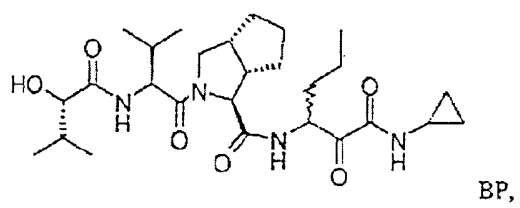
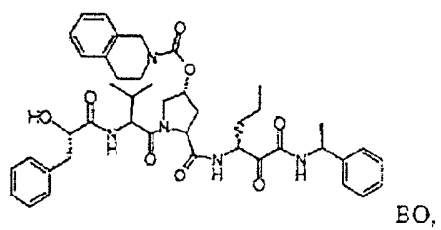
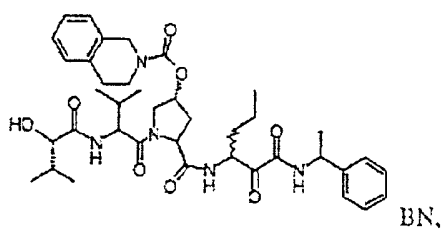
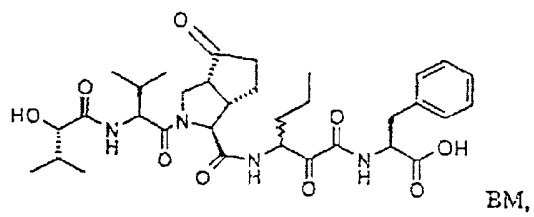
BJ,

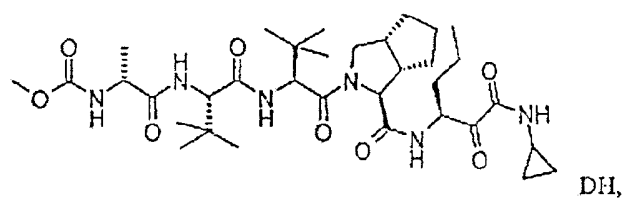
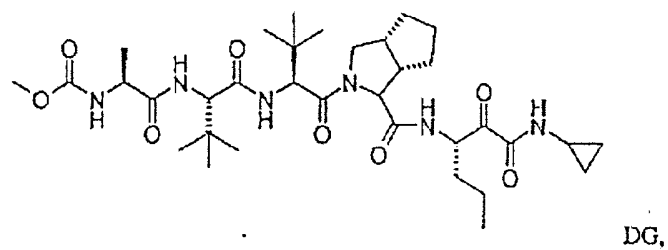
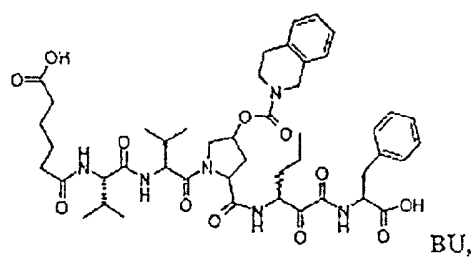
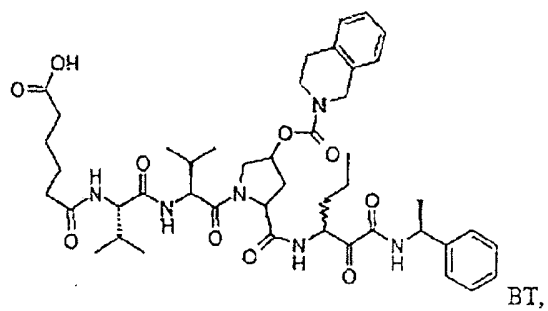
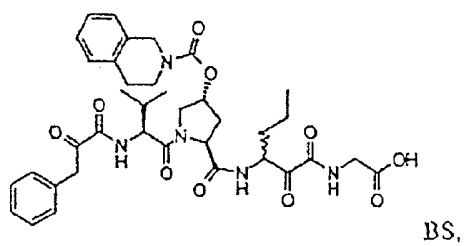


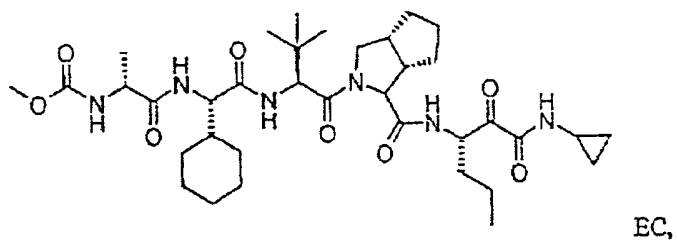
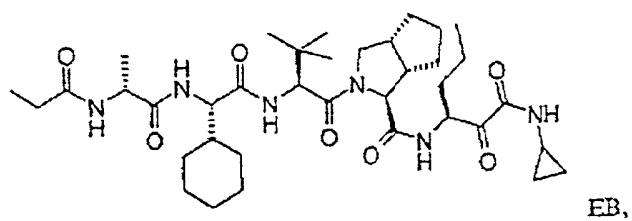
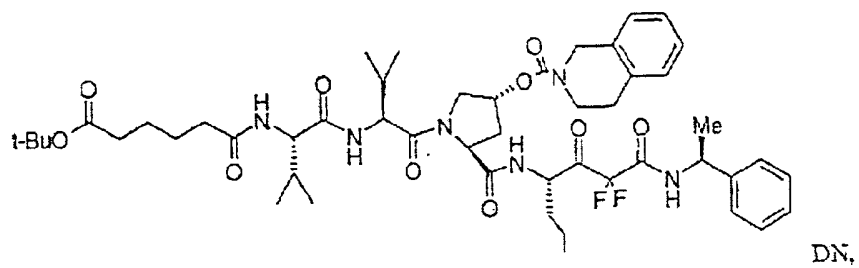
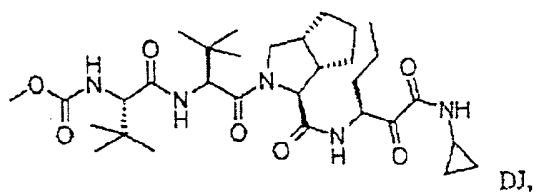
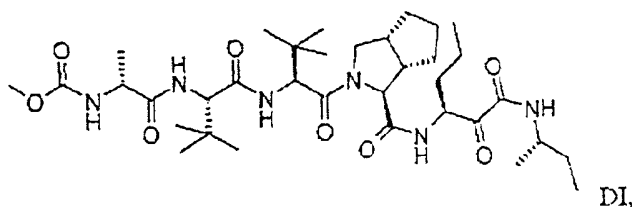
BK,

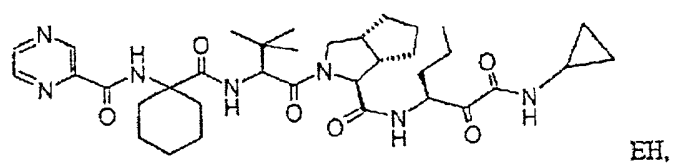
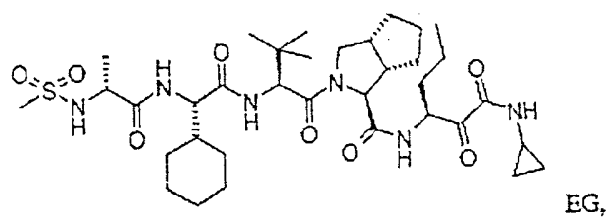
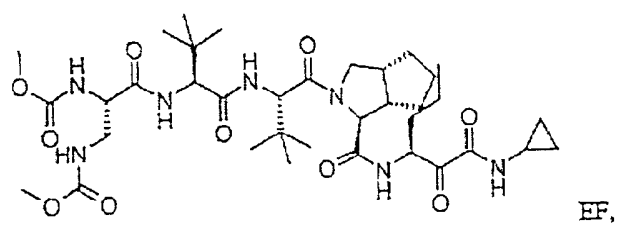
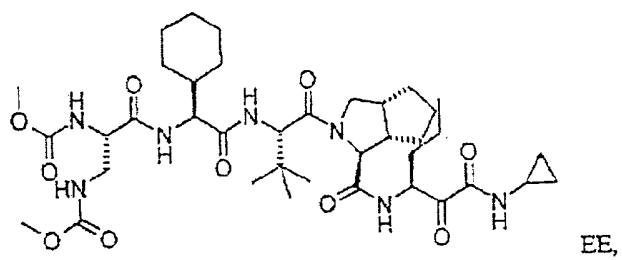
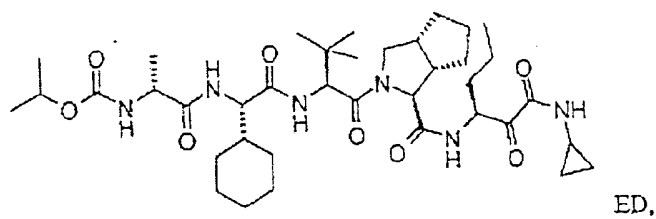


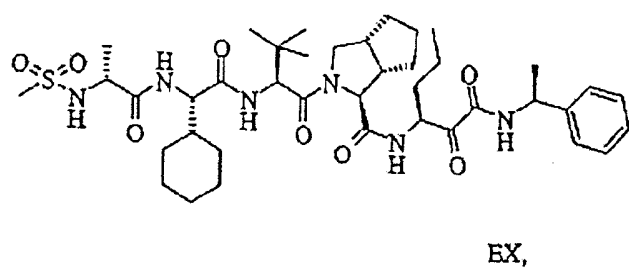
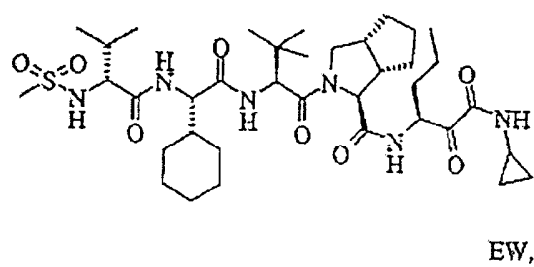
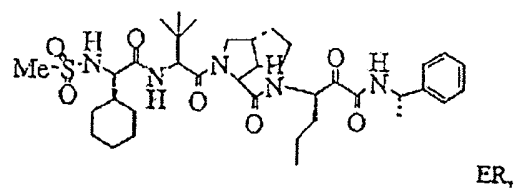
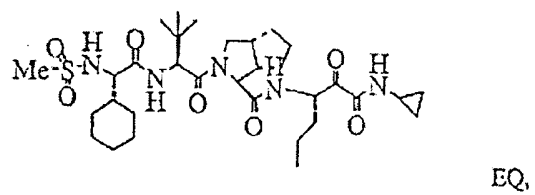
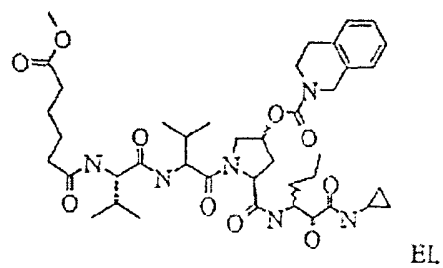
BL,

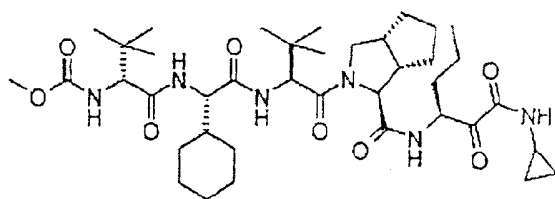








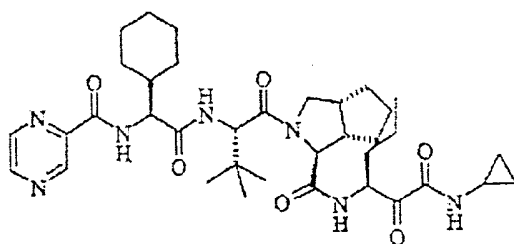




EY,

alebo ich farmaceuticky prijateľné soli alebo prekuzory alebo solváty takýchto zlúčenín, ich solí alebo prekuzorov.

Iným výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je zlúčenina všeobecného vzorca:



alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ alebo prekuzor alebo solvát takejto zlúčeniny, jej soli alebo jej prekuzoru.

Iným výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je zlúčenina všeobecného vzorca 1, v ktorom

R^0 je väzba;

R^1 je atóm vodíka;

R^2 je nižší alkyl prípadne substituovaný 1 až 3 alifatickými substituentmi; alebo nižší cykloalkyl prípadne substituovaný 1 až 3 cyklickými substituentmi;

R^3 a R^5 sú každý nezávisle metylén prípadne substituovaný 1 až 3 alifatickými

substituentmi;

R^4 , R^5 , R^8 a R^{10} sú atóm vodíka;

R^7 je metylén substituovaný skupinou cykloalkyl, nižší alkyl alebo aryl; alebo (1,1- alebo 1,2-)cykloalkenyl prípadne substituovaný skupinou cykloalkyl, nižší alkyl alebo aryl;

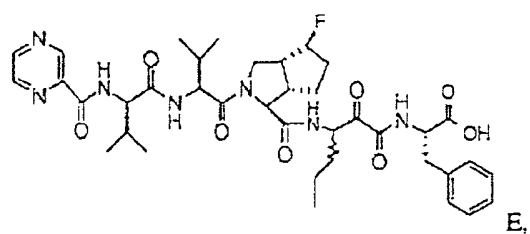
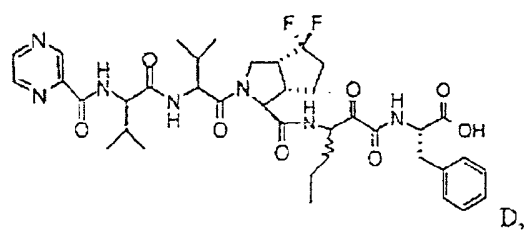
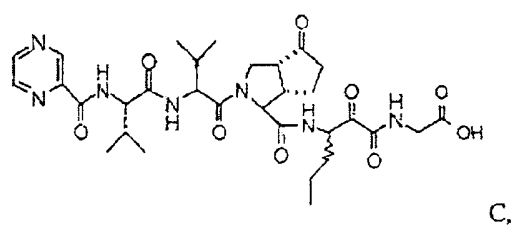
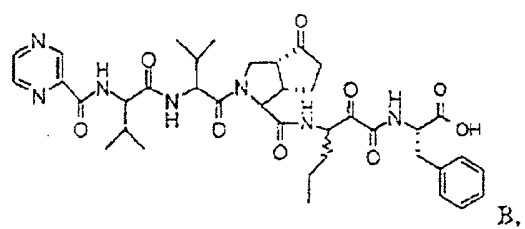
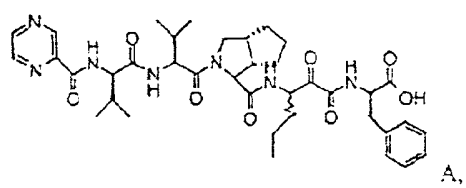
R^9 je nižší alkyl prípadne substituovaný 1 až 3 alifatickými substituentmi; alebo heteroaryl prípadne substituovaný 1 až 3 cyklickými substituentmi; alebo heterocyklický prípadne substituovaný 1 až 3 cyklickými substituentmi;

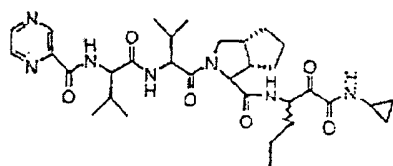


je monocyklický azaheterocyklyl, multicyklický azaheterocyklyl, alebo multicyklický azaheterocyklenyl prípadne substituovaný 1 až 3 cyklickými substituentmi; a

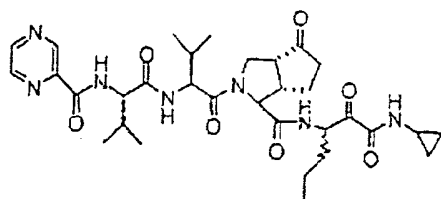
L je $-C(O)-$, $-OC(O)-$.

Iným výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je zlúčenina zvolená zo súboru, zahrňujúceho:

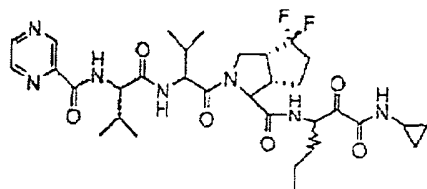




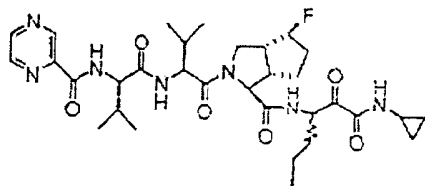
F,



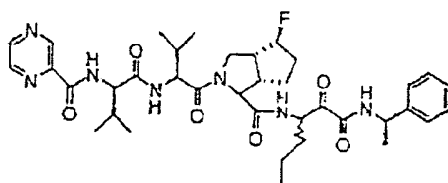
G,



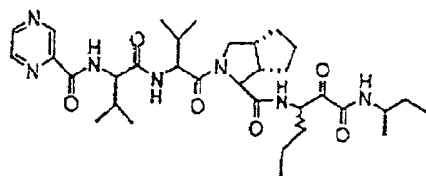
H,



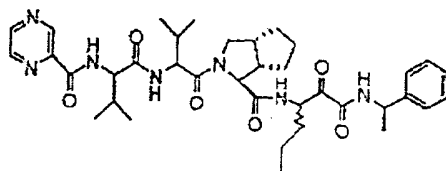
I,



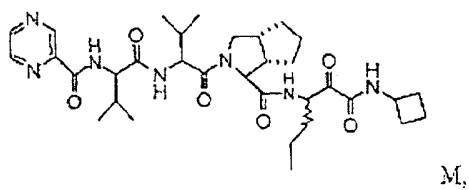
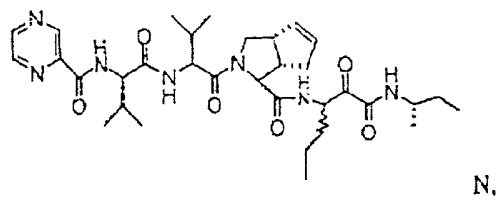
J,



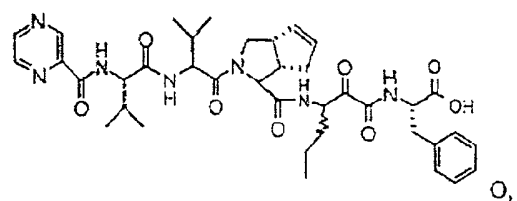
K,



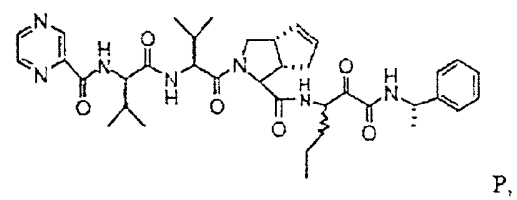
L,

M₁

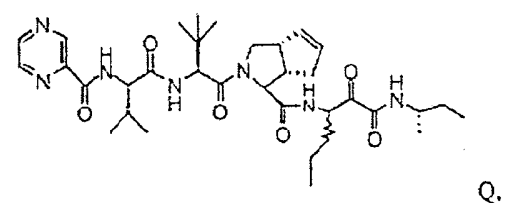
N.



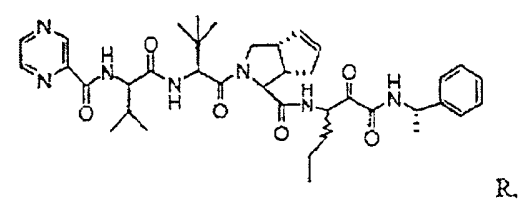
O.



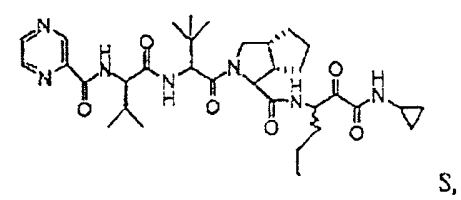
P.



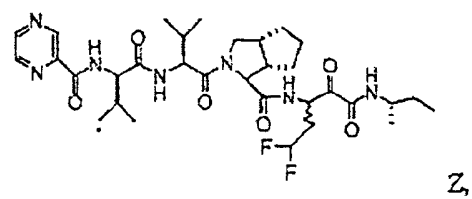
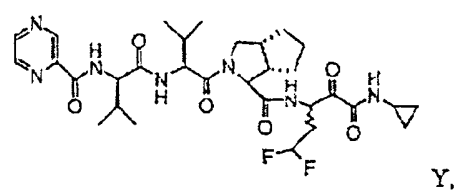
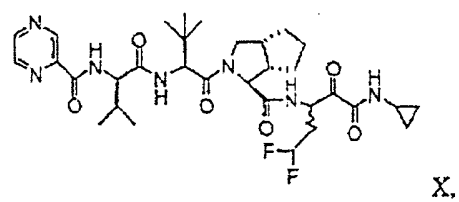
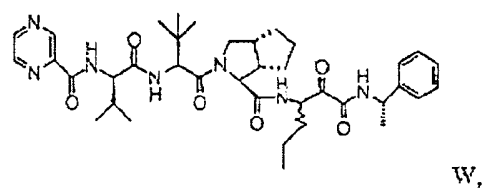
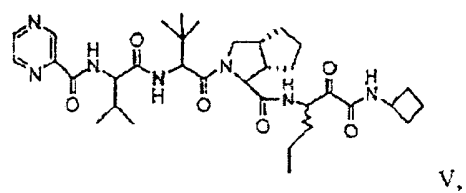
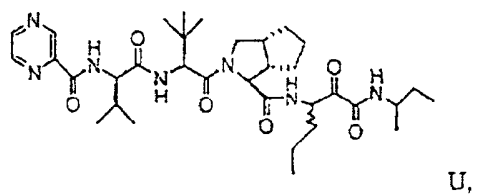
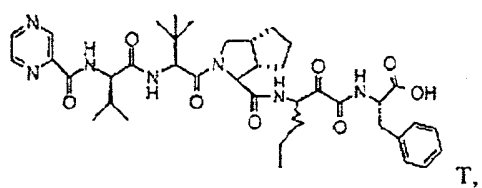
Q.

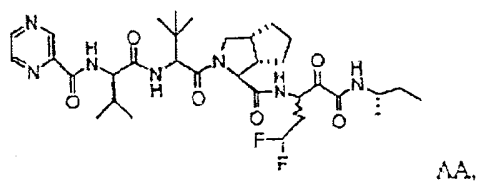


R.

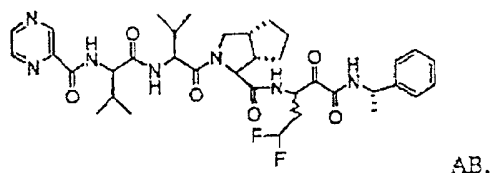


S.

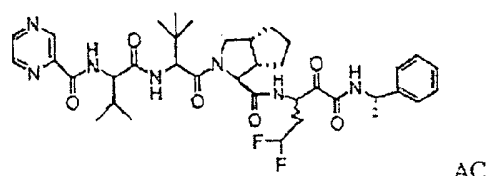




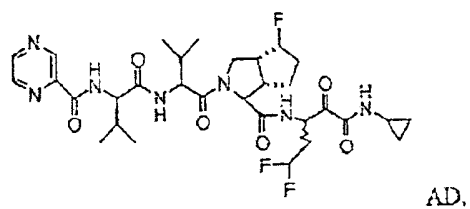
AA,



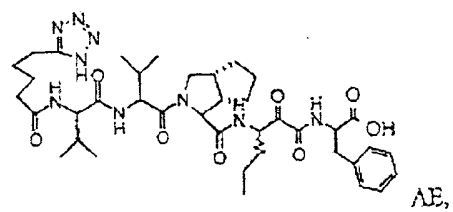
AB,



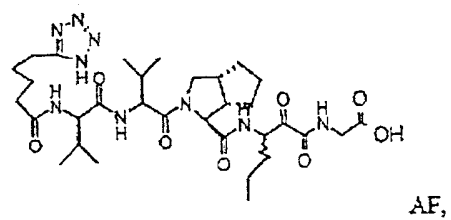
AC,



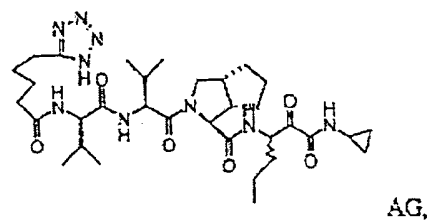
AD,



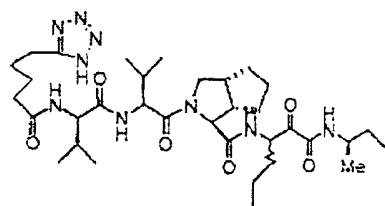
AE,



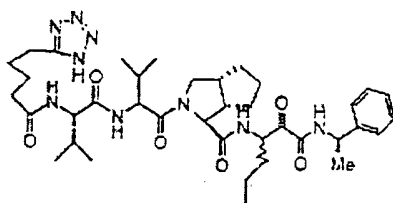
AF,



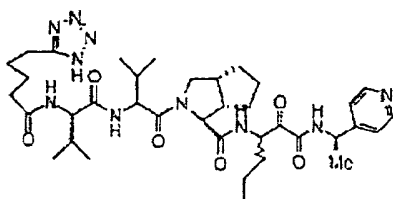
AG,



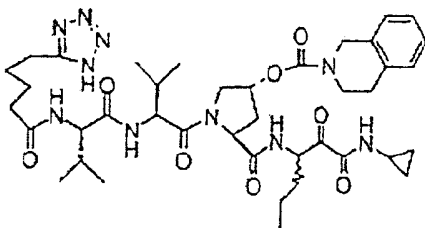
AH,



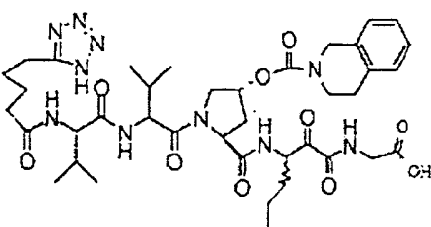
AI,



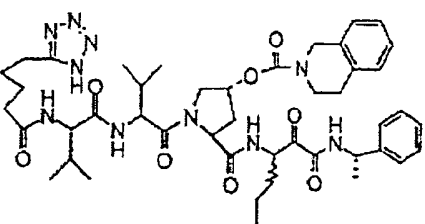
AJ,



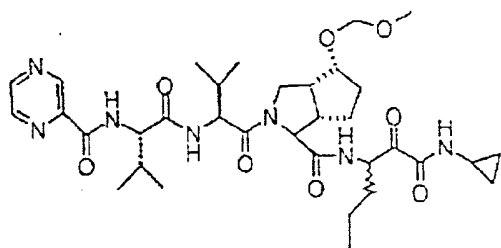
AK,



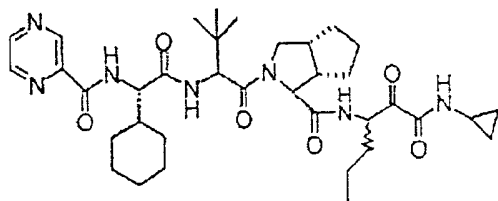
AL,



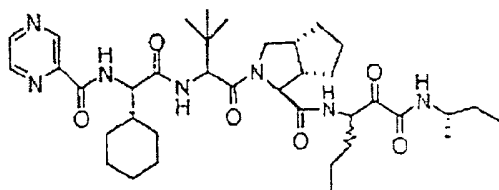
AM,



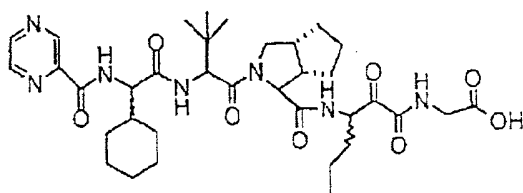
BV,



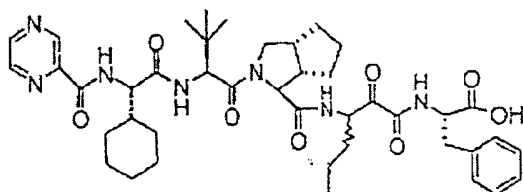
BW,



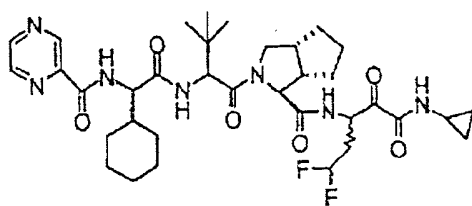
BX,



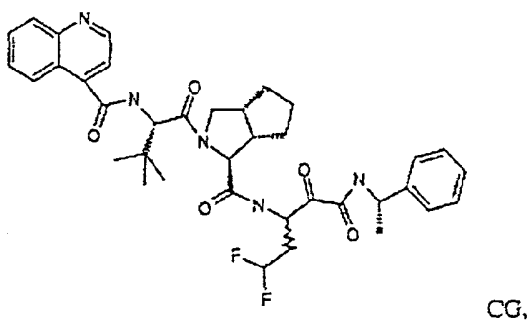
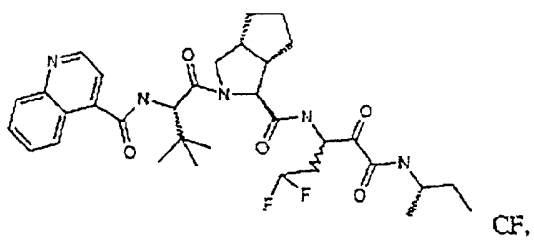
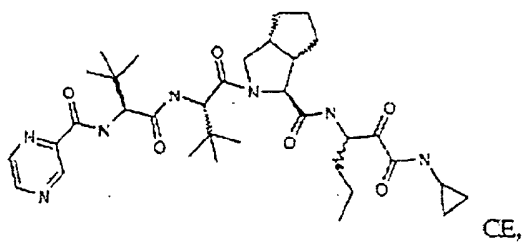
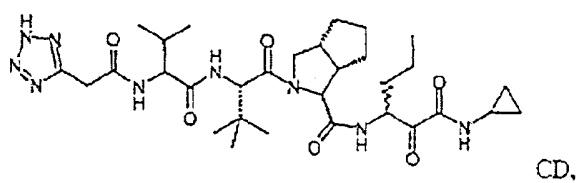
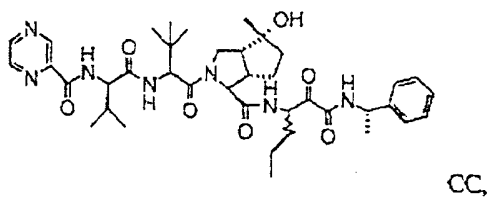
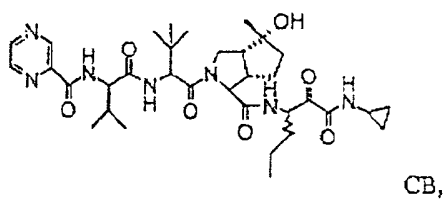
BY,

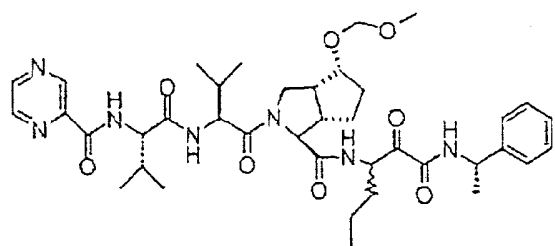


BZ,

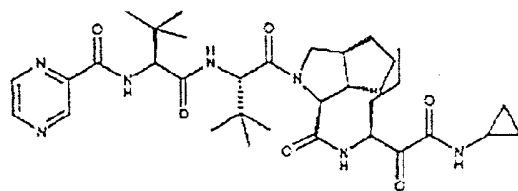


CA,

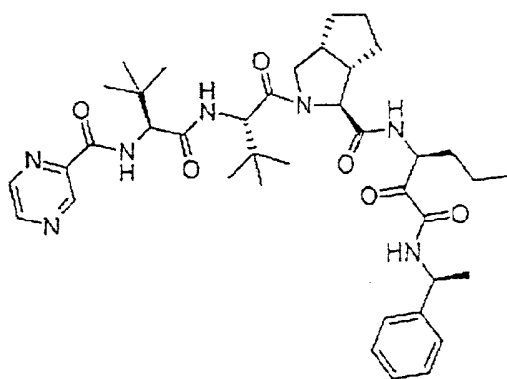




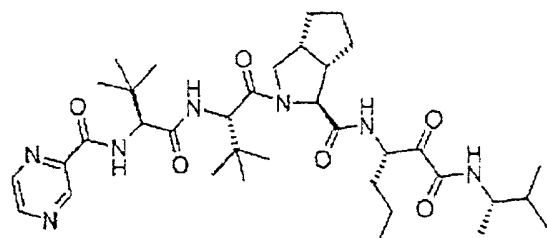
CH,



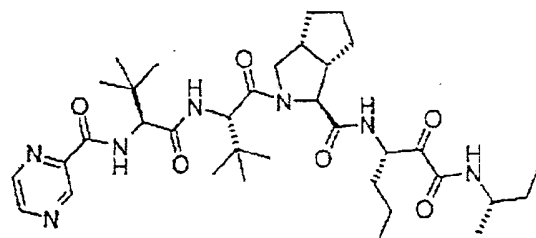
Cl,



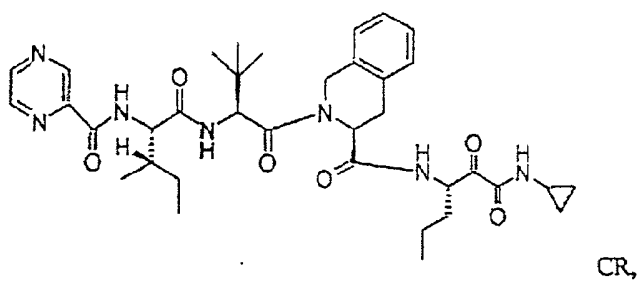
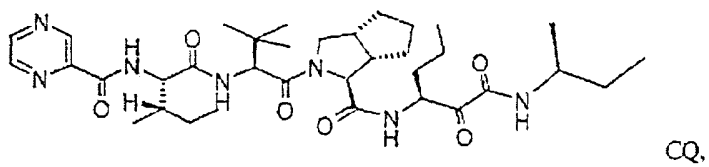
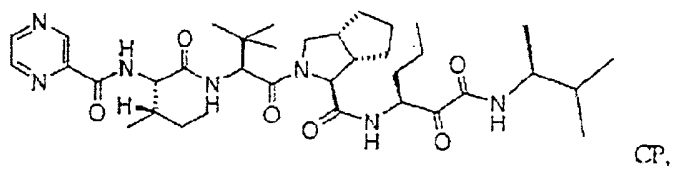
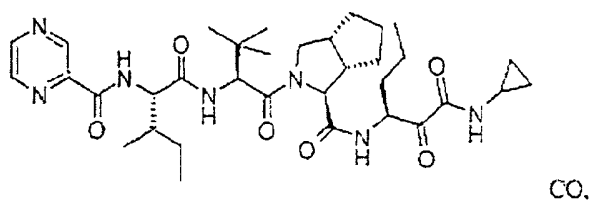
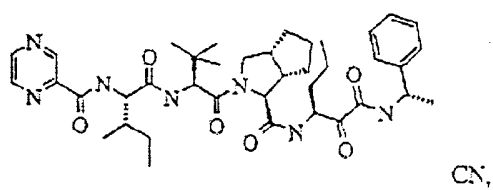
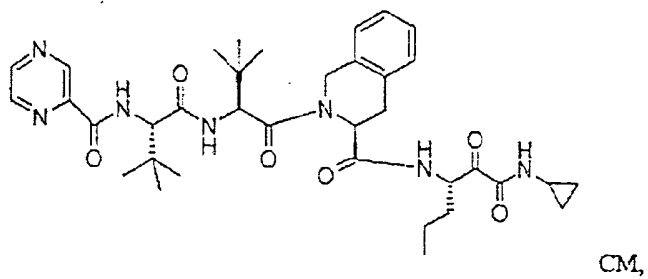
Cl,

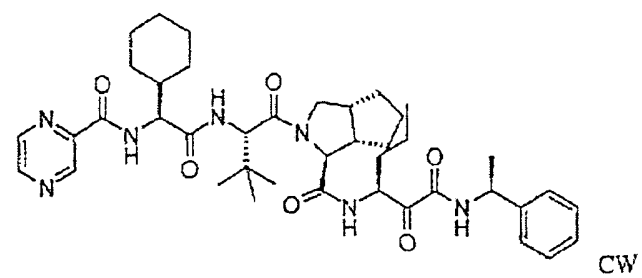
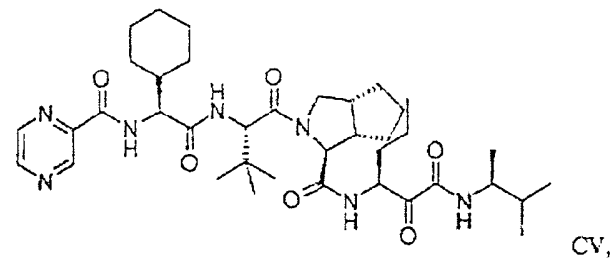
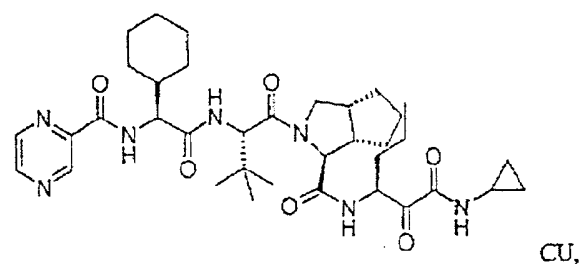
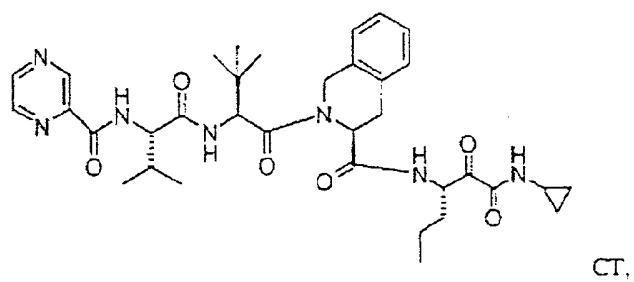
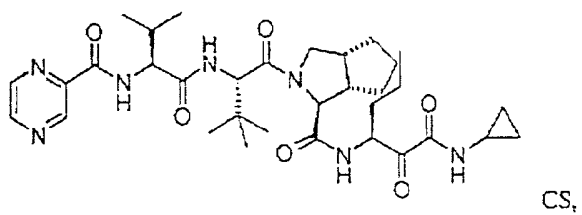


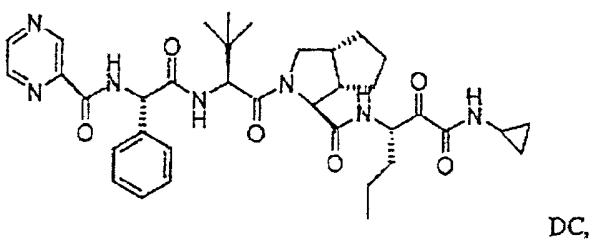
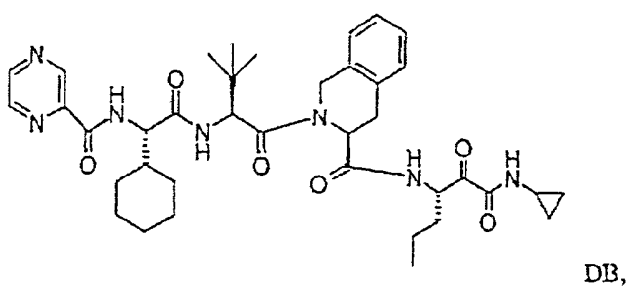
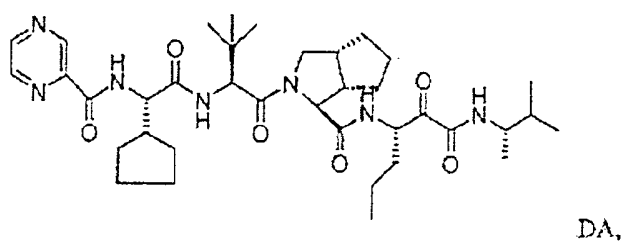
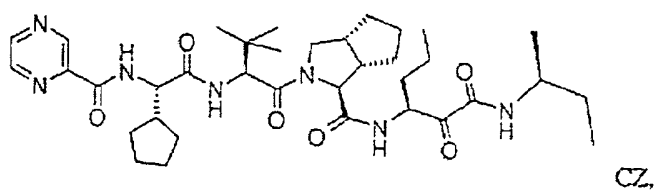
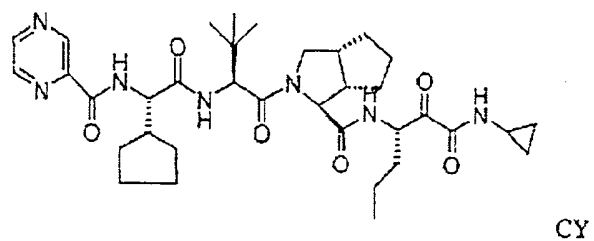
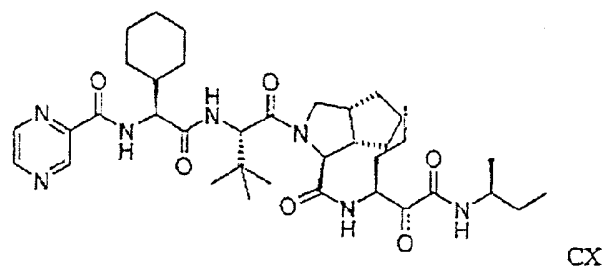
CK,

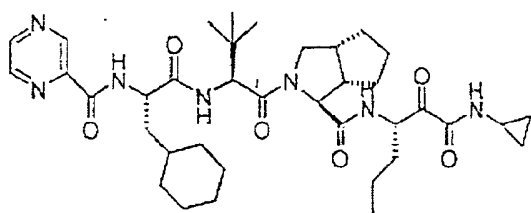


Cl,

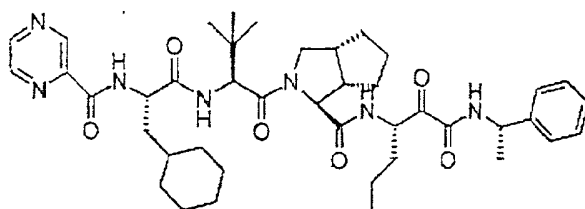




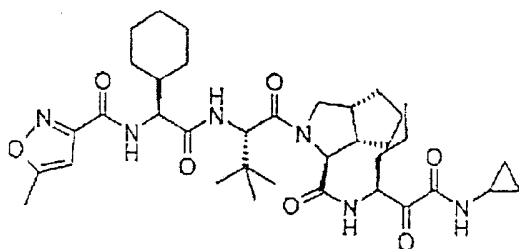




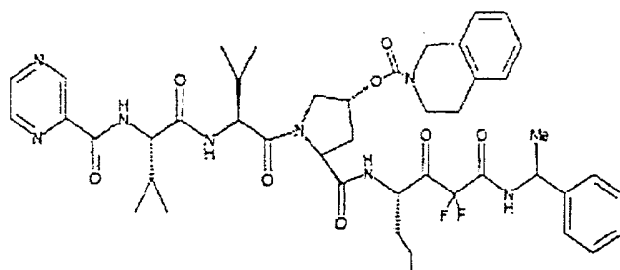
DD,



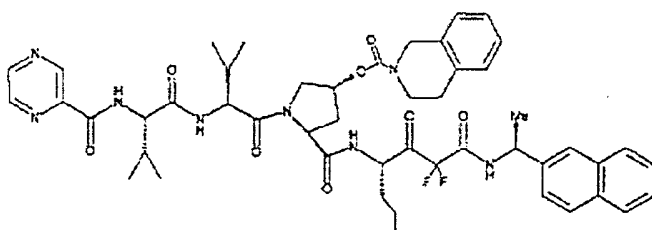
DE,



DF,



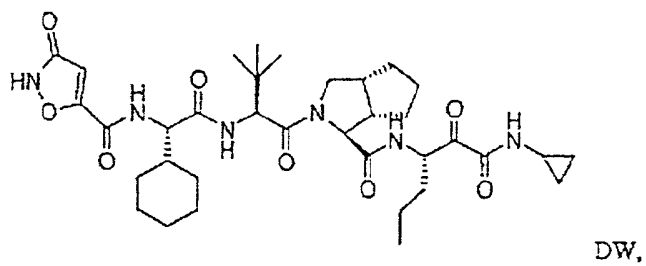
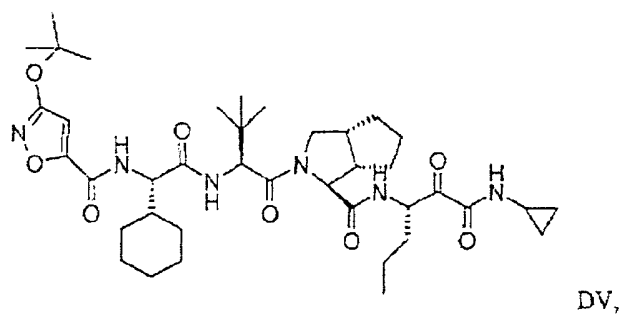
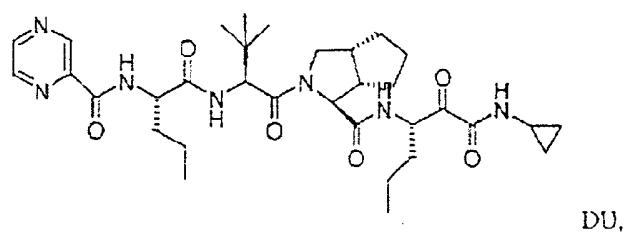
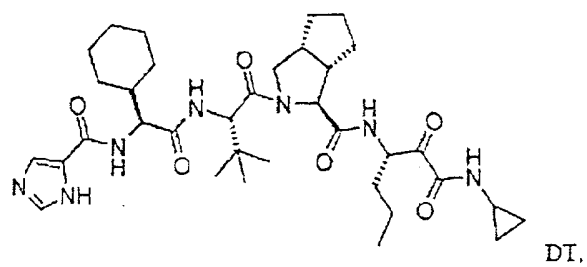
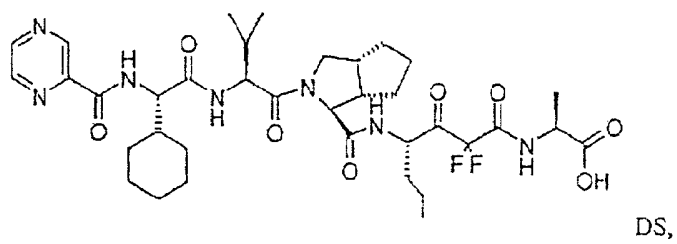
DK,

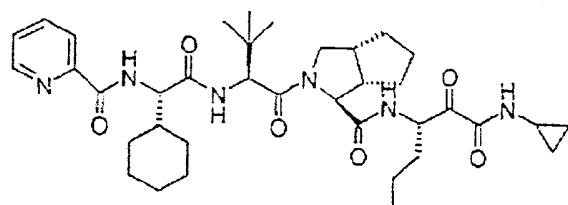


DL,

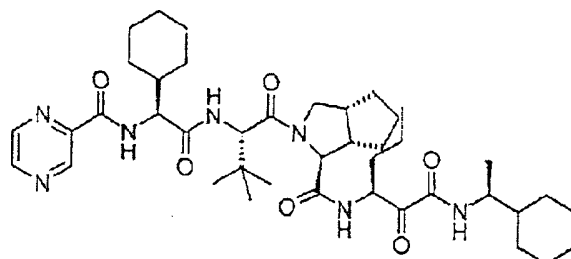
CC(C)C(=O)N[C@@H](Cc1cccnc1)C(=O)[C@H](C(C)(C)C)NC(=O)N2CCC(N2C(=O)N[C@@H](CCCC)C(=O)C(F)(F)C(=O)NCC(=O)O)Oc3ccccc3n3c([N+](=O)[O-])cccc3[illegible][illegible]CC(C)C(=O)N[C@@H](C(C)C)C(=O)Nc1cccnc1C(=O)N[C@@H](C(C)C)C(=O)N[C@@H](CCCCF)C(=O)N[C@@H](C(F)F)C(=O)N[C@@H](C)C(=O)O

32069/5

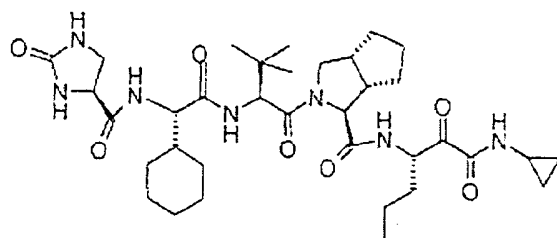




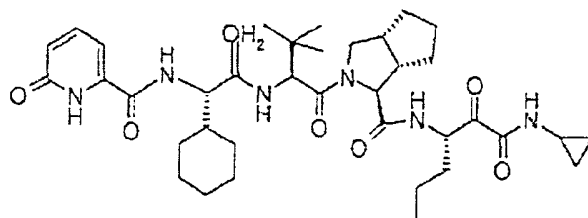
DX,



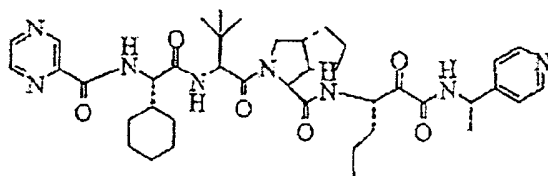
DY,



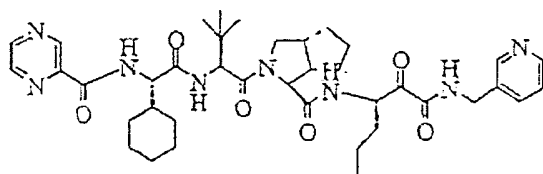
DZ,



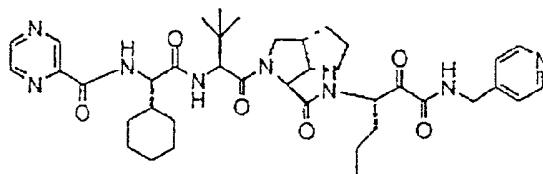
EA,



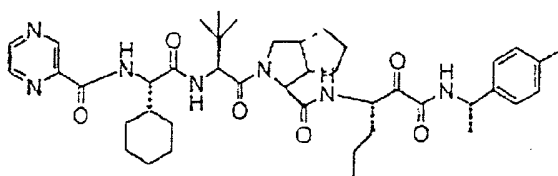
EJ,



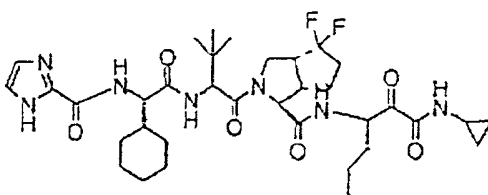
EK,



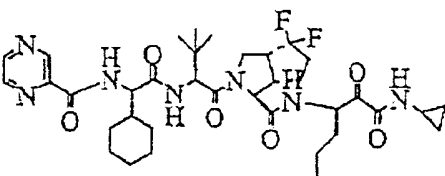
EL,



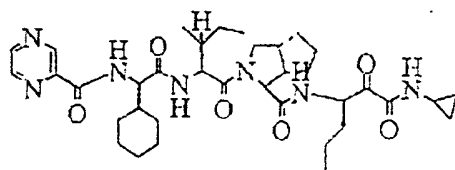
EM,



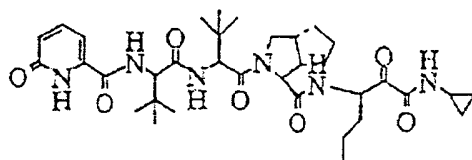
EN,



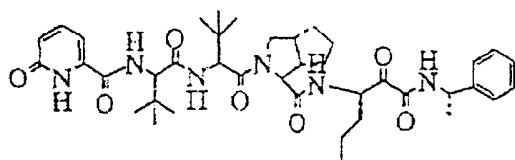
EO,



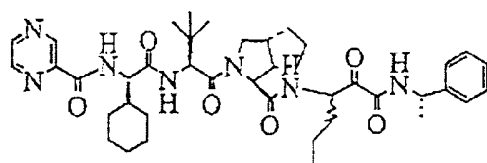
EP,



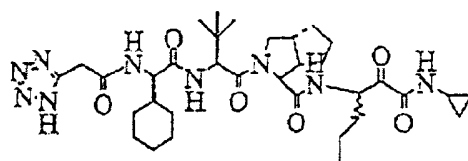
ES,



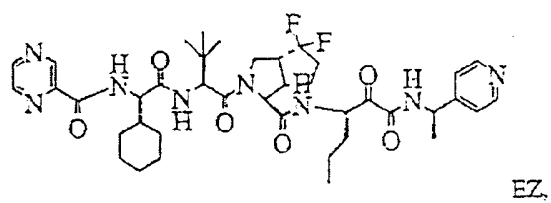
ET,



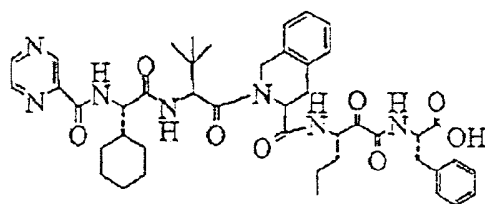
EU,



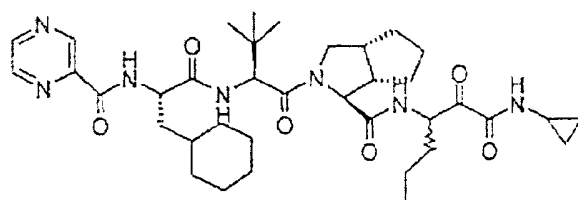
EV,



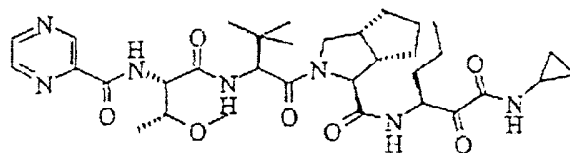
EZ,



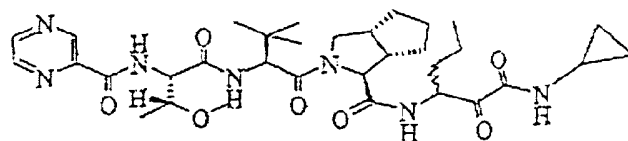
FA,



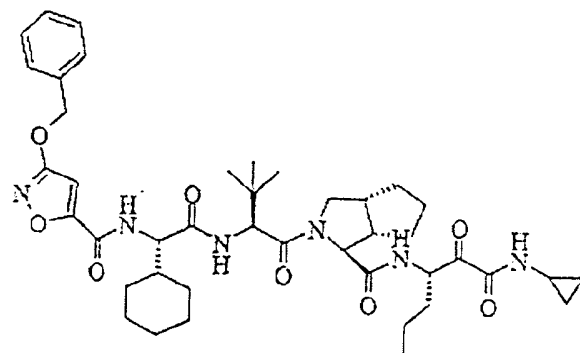
FB,



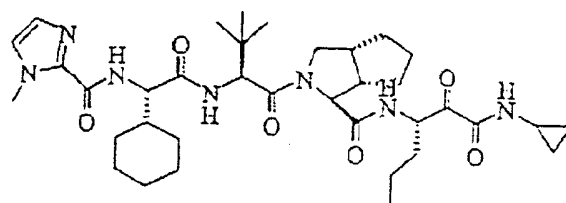
FC,



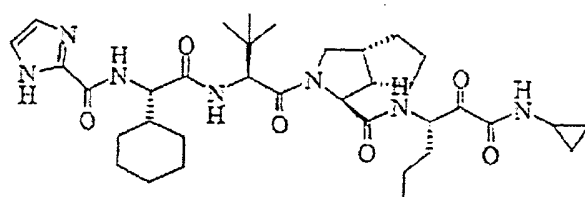
FD,



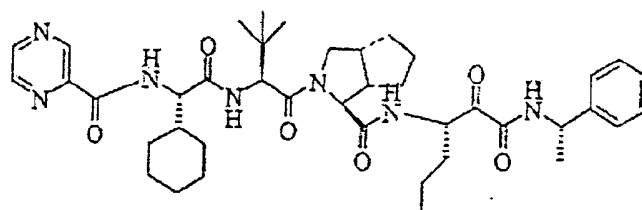
FE,



FF,



FG, and



FH,

alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ alebo prekursor alebo solvát takejto zlúčeniny, jej soli alebo jej prekursoru.

Iným výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je zlúčenina všeobecného vzorca 1, v ktorom prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina R^9 je substituovaná aspoň jedným heteroarylovým substituentom.

Iným výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je zlúčenina všeobecného vzorca 1, v ktorom prípadne substituovaná aromatická skupina R^9 je prípadne substituovaný heteroaryl.

Iným výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je zlúčenina všeobecného vzorca 1, v ktorom prípadne substituovaná alifatická skupina R^9 je prípadne substituovaný alkylheteroaryl.

Iným výhodným uskutočnením predloženého vynálezu je zlúčenina, v ktorej prípadne substituovaná heteroarylová skupina R^9 je pyrazinyl, tetrazolyl, chinoliny, imidazolyl, izoxazolyl a pyradonyl, prípadne substituovaný substituentom skupiny kruhov.

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sa prípadne dodávajú ako soli. Tieto soli, ktoré sú farmaceuticky prijateľné, sú obzvlášť zaujímavé, pretože sa môžu použiť na podávanie uvedených zlúčenín na lekárske účely. Soli, ktoré nie sú farmaceuticky prijateľné, sú užitočné v spôsoboch výroby, na izoláciu a čistenie a v niektorých prípadoch na použitie pri separácii stereoizomérnych foriem zlúčenín podľa predloženého vynálezu. Naposledy uvedené je obzvlášť platné pre amínové soli, pripravené z opticky aktívnych amínov.

Pokiaľ zlúčenina podľa predloženého vynálezu obsahuje karboxy skupinu alebo dostatočne kyslý bioizoster, môžu sa vytvoriť adičné soli báz a predstavujú jednoduchú a vhodnejšiu formu na použitie; a v praxi použitie zlúčenín vo forme solí prirodzene dopĺňa použitie vo forme voľnej kyseliny.

Rovnako tak, pokiaľ zlúčenina podľa predloženého vynálezu obsahuje bázičku skupinu alebo dostatočne bázičky bioizoster, sa môžu vytvoriť adičné

solí kyselín a predstavujú jednoduchú a vhodnejšiu formu na použitie; a v praxi použitie zlúčenín vo forme solí prirodzene dopĺňa použitie vo forme voľnej bázy.

Výhodným uskutočnením spôsobu podľa predloženého vynálezu je liečenie pacienta trpiaceho HCV infekciou alebo fyziologickými stavmi, vzťahujúcimi sa k infekcii, ktoré zahŕňa podávanie farmaceuticky účinného množstva zlúčeniny všeobecného vzorca 1 pacientovi.

Iným výhodným uskutočnením terapeutického spôsobu podľa predloženého vynálezu je liečenie pacienta trpiaceho na infekciu HCV alebo fyziologické stavy vzťahujúce sa k infekcii HCV, ktoré zahŕňa podávanie farmaceuticky účinného množstva zlúčeniny všeobecného vzorca 1 v kombinácii s farmaceuticky účinným množstvom inej terapeutickej látky s účinkom proti HCV pacientovi.

Predložený vynález sa ďalej týka získania farmaceutických kompozícií, obsahujúcich okrem jedného alebo viacerých inhibítorov HCV serínových proteáz tiež jeden alebo viacero interferónov, vykazujúcich účinok proti HCV a/alebo jednu alebo viacero zlúčenín, ktoré majú účinok proti HCV, vrátane imunomodulačných zlúčenín, ako sú imunostimulačné cytokíny vykazujúce HCV protivírusový účinok, a farmaceuticky prijateľný nosič alebo riedidlo.

Predložený vynález sa ďalej týka získania farmaceutickej kompozície, ktorá je účinná, na použitie pri priaznivej kombinačnej terapii, pretože obsahuje aspoň dve účinné zložky, ktoré sa môžu použiť spôsobom podľa predloženého vynálezu.

Predložený vynález sa tiež týka súprav alebo jednoduchých balení obsahujúcich dve alebo viacero účinných zložiek použiteľných pri liečení alebo prevencii infekcie HCV u pacienta. Súprava môže poskytnúť zlúčeninu všeobecného vzorca 1 (samotnú alebo v kombinácii s farmaceuticky prijateľným riedidlom alebo nosičom) a ako ďalšiu účinnú zložku (samotnú alebo v kombinácii s riedidlom alebo nosičom) ďalšiu terapeutickú látku s účinkom proti HCV.

Zlúčeniny všeobecného vzorca 1 sa môžu pripraviť aplikáciou alebo úpravou známych spôsobov výroby, ako sa tu používajú alebo sú opísané v literatúre alebo spôsobmi podľa predloženého vynálezu.

Predložený vynález sa ďalej týka spôsobov liečenia alebo prevencie infekcie HCV u pacienta, ktorý ho potrebuje, ktoré zahŕňujú podávanie uvedenému pacientovi farmaceuticky účinného množstva kombinácie jedného alebo viacerých inhibítorov HCV serínových proteáz; jeden alebo viacero interferónov, vykazujúcich účinok proti HCV; a/alebo jednu alebo viacero zlúčenín, ktoré sú účinné proti HCV, vrátane imunomodulačných zlúčenín, ako sú imunostimulačné cytokíny vykazujúce HCV protivírusový účinok.

Predložený vynález sa tiež týka použitia jedného alebo viacerých inhibítorov HCV serínových proteáz v kombinácii s jedným alebo viacerými interferónmi, vykazujúcimi účinok proti HCV a/alebo jednou alebo viacerými zlúčeninami, ktoré sú účinné proti HCV, vrátane imunomodulačných zlúčenín, ako sú imunostimulačné cytokíny vykazujúce HCV protivírusový účinok, na prípravu liečiva na liečenie alebo prevenciu infekcie HCV u pacienta, ktorý ho potrebuje.

Predložený vynález sa ďalej týka súpravy alebo farmaceutického balenia na liečenie alebo prevenciu infekcie HCV u pacienta, kde súprava alebo farmaceutické balenie obsahuje aspoň dve oddelené nádoby, pričom aspoň jedna z uvedených nádobiek obsahuje jeden alebo viacero inhibítorov HCV serínových proteáz, aspoň jedna ďalšia uvedená nádoba obsahuje jeden alebo viacero interferónov alebo zlúčenín, ktoré indukujú tvorbu interferónu, ktorá vykazuje účinok proti HCV (samotných alebo v kombinácii s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo riedidlom) a prípadne aspoň jedna ďalšia uvedená nádoba obsahuje jednu alebo viacero zlúčenín, ktoré sú účinné proti HCV (samotné alebo v kombinácii s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo riedidlom), vrátane imunomodulačných zlúčenín ako sú imunostimulačné cytokíny, vykazujúce HCV protivírusový účinok.

Predložený vynález sa ešte ďalej týka spôsobu inhibície replikácie vírusu hepatitídy C v bunke, ktorý zahŕňa uvedenie danej bunky, inhibítora

serínových proteáz vírusu hepatitídy C a prípadne interferónu alebo zlúčeniny, ktorá indukuje tvorbu interferónu, ktorý je účinný proti vírusu hepatitídy C, do vzájomného kontaktu.

Množstvo inhibítora alebo inhibítorov HCV serínových proteáz, interferónu alebo interferónov alebo zlúčeniny s účinkom proti HCV alebo zlúčenín v ľubovoľnom z predchádzajúcich použití môže byť farmaceuticky účinné množstvo, suboptimálne účinné množstvo proti HCV alebo ich kombinácie, pokiaľ výsledná kombinácia inhibítora alebo inhibítorov HCV proteáz, interferónu alebo interferónov a/alebo zlúčeniny alebo zlúčenín s účinkom proti HCV predstavuje farmaceuticky účinné množstvo zlúčenín, ktoré je účinné pri liečení alebo prevencii infekcie HCV u pacienta.

Predložený vynález sa ďalej týka spôsobu prípravy chirálnej bicykloprolinátovej zlúčeniny, ktorá je použiteľná na prípravu zlúčeniny všeobecného vzorca 1.

Príprava zlúčenín podľa predloženého vynálezu

Východiskové materiály a medziprodukty pri príprave zlúčenín podľa predloženého vynálezu sa môžu pripraviť aplikáciou alebo úpravou známych spôsobov, napríklad spôsobmi, ktoré sú opísané v referenčných príkladoch, alebo ich jasné chemické ekvivalenty.

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sa môžu pripraviť aplikáciou alebo úpravou známych spôsobov, ktorými sa myslia spôsoby uvedené v tejto prihláške alebo opísané v literatúre, napríklad spôsoby opísané v publikácii R. C. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH publishers (1989).

Zlúčenina všeobecného vzorca 1, v ktorom sú premenné a skupina



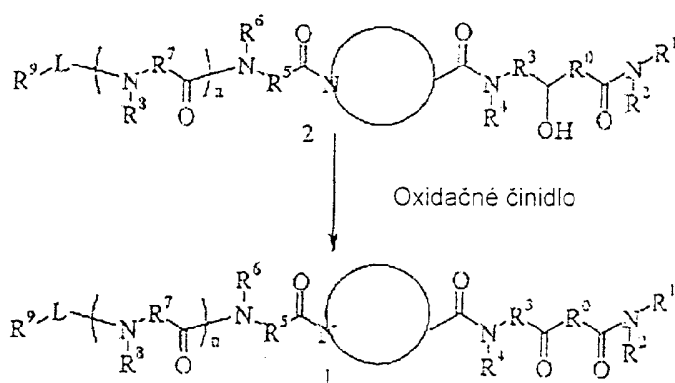
ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť spracovaním zlúčeniny

všeobecného vzorca 2, v ktorom premenné a skupina



sú ako bolo

opísané vyššie, vhodným oxidačným činidlom a za vhodných podmienok. Konkrétne oxidačné činidlo je DMP. Konkrétne podmienky zahŕňujú vykonávanie oxidácie vo vhodnom organickom rozpúšťadle ako je dichlórmetán a asi pri teplote okolia.



Zlúčenina všeobecného vzorca 2, v ktorej premenné a skupina

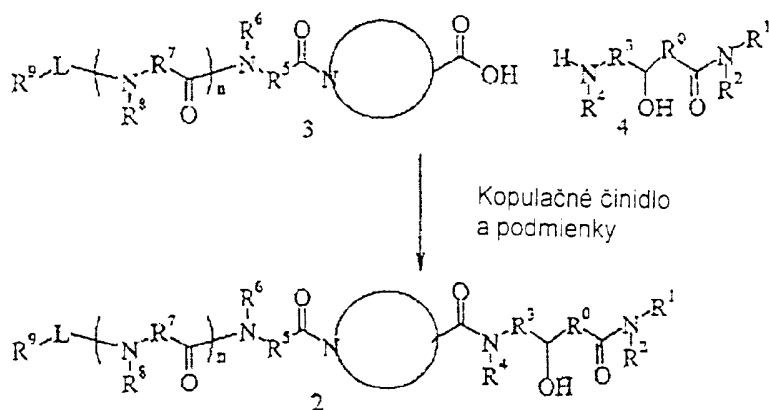


sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť kopuláciou zlúčeniny všeobecného vzorca 3, v ktorom premenné a skupina



sú ako bolo

opísané vyššie, a zlúčeniny všeobecného vzorca 4, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, použitím vhodného kopulačného činidla a za vhodných podmienok. Konkrétne kopulačné činidlo a podmienky zahŕňujú použitie DIC a HOAt vo vhodnom organickom rozpúšťadle ako je DMF za teploty približne 0 °C alebo použitie PyBop a DIPEA vo vhodnom organickom rozpúšťadle ako je dichlórmetán zhruba pri teplote okolia.



Zlúčenina všeobecného vzorca 3, v ktorom premenné a skupina

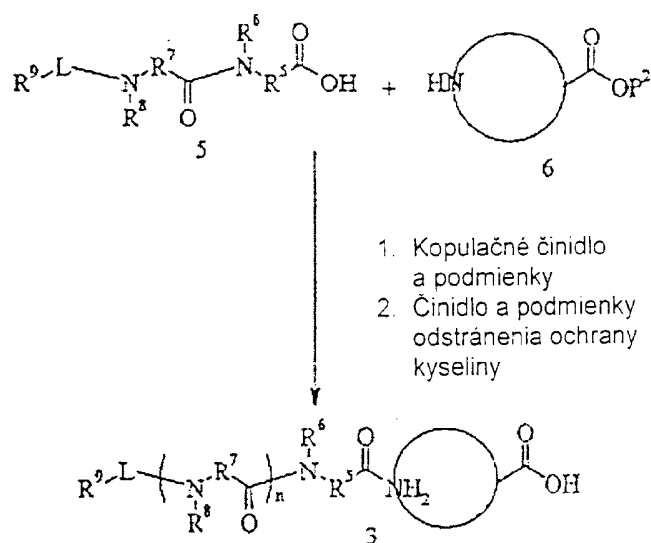


sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť kopuláciou zlúčeniny všeobecného vzorca 5, ktorej premenné sú ako bolo opísané vyššie, a zlúčeniny všeobecného vzorca 6, kde p^2 je ochranná skupina kyseliny a skupina je ako bolo opísané vyššie, použitím vhodného



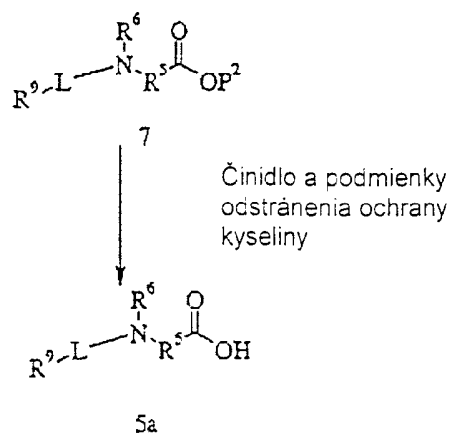
kopulačného činidla a za vhodných kopulačných podmienok, nasledovaná zodpovedajúcim odstránením ochrannej skupiny a za vhodných podmienok na odstránenie ochrannej skupiny. Konkrétne kopulačné činidlo a podmienky použitia DIC alebo DCC a HOAt vo vhodnom organickom rozpúšťadle ako je DMF alebo dichlórmetán za teploty od približne 0 °C do približne teploty okolia. Odstránenie ochrannej skupiny sa vykonáva použitím vhodného činidla na odstránenie ochrannej skupiny, ktoré závisí od povahy ochranného činidla, to znamená, či je odstrániteľné (labilné) za kyslých, zásadických alebo hydrogenných podmienok, a od ďalších reaktívnych skupín v zlúčenine, ktorá podstupuje operáciu odstraňovania ochrannej skupiny, to znamená činidlo na odstránenie ochrannej skupiny sa zvolí tak, aby odstránilo požadovanú ochrannú skupinu bez ovplyvnenia ďalších reaktívnych skupín, pokiaľ sa

nepožaduje súčasná ďalšia reakcia. Konkrétne ochranné činidlo kyseliny je C₁-C₆ nižší alkyl; obzvlášť metyl. Konkrétne činidlo na odstránenie ochrannej skupiny je anorganická báza ako je hydroxid alkalického kovu; najmä NaOH. Konkrétne podmienky pre reakciu odstránenia ochrannej skupiny zahŕňujú vykonávanie reakcie v alkoholovom rozpúšťadle ako je metanol alebo etanol asi pri teplote okolia.

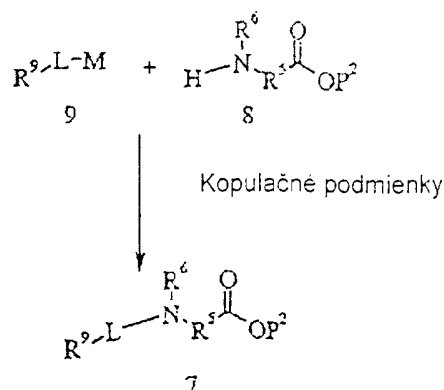


Zlúčenina všeobecného vzorca 5, v ktorom n je 0 a ďalšie premenné sú ako bolo opísané vyššie, to znamená zlúčenina 5a, sa môže pripraviť odstránením ochrannej skupiny zlúčeniny všeobecného vzorca 7, v ktorom p² je ochranná skupina kyseliny a ďalšie premenné sú ako bolo opísané vyššie, použitím činidla odstránenia ochrannej skupiny a za vhodných podmienok. Odstránenie ochrannej skupiny sa vykonáva použitím vhodného činidla na odstránenie ochrannej skupiny, ktoré závisí od povahy ochranného činidla, to znamená, či je odstrániteľné (labilné) za kyslých, zásadických alebo hydrogenných podmienok, a od ďalších reaktívnych skupín v zlúčenine, ktorá podstupuje operáciu odstraňovania ochrannej skupiny, to znamená činidlo na odstránenie ochrannej skupiny sa zvoli tak, aby vykonalo odstránenie požadovanej ochrannej skupiny bez ovplyvnenia ďalších reaktívnych skupín, ak sa nepožaduje súčasná ďalšia reakcia. Konkrétne ochranné činidlo kyseliny je

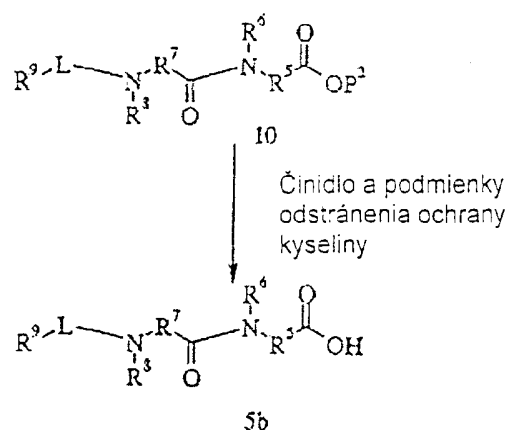
C₁-C₈ nižší alkyl; najmä metyl. Konkrétne činidlo na odstránenie ochrannej skupiny je anorganická báza ako je hydroxid alkalického kovu; najmä NaOH. Konkrétne podmienky pre reakciu odstránenia ochrannej skupiny zahŕňujú vykonávanie reakcie v alkoholovom rozpúšťadle ako je metanol alebo etanol asi pri teplote okolia.



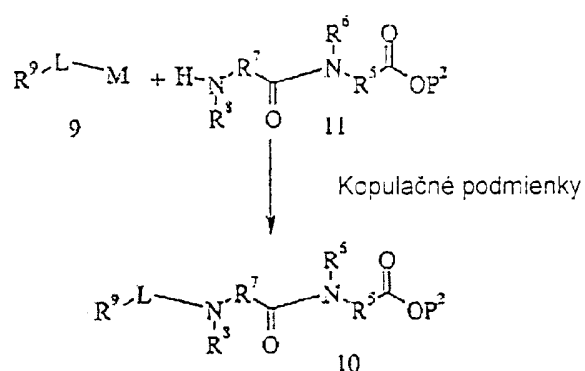
Zlúčenina všeobecného vzorca 7, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť acyláciou zlúčeniny všeobecného vzorca 8, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, zlúčeninou všeobecného vzorca 9, kde M je premiestniteľná skupina a ďalšie premenné sú ako bolo opísané vyššie, za vhodných podmienok. Konkrétne kopulačné podmienky používajú DIC alebo DCC a HOAt vo vhodnom organickom rozpúšťadle ako je DMF alebo dichlórmetán za teploty od približne 0 °C do približne teploty okolia, alebo PyBop a DIPEA vo vhodnom organickom rozpúšťadle ako je DMF alebo dichlórmetán zhruba pri teplote okolia; a výhodne naposledy uvedené podmienky. Konkrétne L je karbonyl. Konkrétne M je hydroxy alebo N-oxysukcínimid.



Zlúčenina všeobecného vzorca 5, v ktorom n je 1 a ďalšie premenné sú ako bolo opísané vyššie, to znamená zlúčenina 5b, sa môže pripraviť odstránením ochrannej skupiny zlúčeniny všeobecného vzorca 10, kde P² je ochranná skupina kyseliny a ďalšie premenné sú ako bolo opísané vyššie, s použitím vhodného činidla odstránenia ochrannej skupiny a za vhodných podmienok. Odstránenie ochrannej skupiny sa vykonáva použitím vhodného činidla na odstránenie ochrannej skupiny, ktoré závisí od povahy ochranného činidla, to znamená, či je odstrániteľné (labilné) za kyslých, zásadických alebo hydrogenných podmienok, a od ďalších reaktívnych skupín v zlúčenine, ktorá podstupuje operáciu odstraňovania ochrannej skupiny, to znamená činidlo na odstránenie ochrannej skupiny sa zvolí tak, aby vykonalo odstránenie požadovanej ochrannej skupiny bez ovplyvnenia ďalších reaktívnych skupín, pokiaľ sa nepožaduje súčasná ďalšia reakcia. Konkrétne ochranné činidlo kyseliny je C₁-C₈ nižší alkyl; najmä metyl. Konkrétne činidlo na odstránenie ochrannej skupiny je anorganická báza ako je hydroxid alkalického kovu; najmä NaOH. Konkrétne podmienky pre reakciu v alkoholovom rozpúšťadle ako je metanol alebo etanol asi pri teplote okolia.

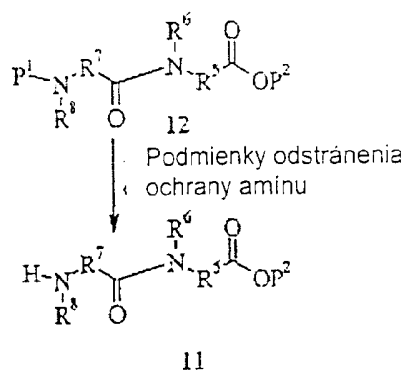


Zlúčenina všeobecného vzorca 10, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť acyláciou zlúčeniny všeobecného vzorca 11, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, zlúčeninou všeobecného vzorca 9, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, za vhodných podmienok. Konkrétne kopulačné podmienky používajú DIC alebo DCC a HOAt vo vhodnom organickom rozpúšťadle ako je DMF alebo dichlórmetán za teploty od približne 0 °C do približne teploty okolia, alebo PyBop a DIPEA vo vhodnom organickom rozpúšťadle ako je DMF alebo dichlórmetán asi pri teplote okolia; a výhodne naposledy uvedené podmienky. Konkrétne L je karbonyl. Konkrétny M je hydroxy alebo N-oxysukcínimid.

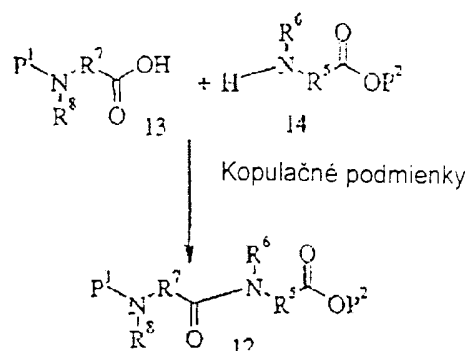


Zlúčenina všeobecného vzorca 11, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť odstránením ochrannej skupiny zlúčeniny

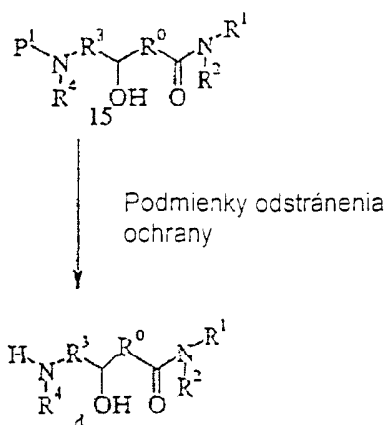
všeobecného vzorca 12, v ktorom P^1 je ochranná skupina amínu a ďalšie premenné sú ako bolo opísané vyššie, pomocou vhodného činidla na odstránenie ochrannej skupiny a za vhodných podmienok. Odstránenie ochrannej skupiny sa vykonáva použitím vhodného činidla na odstránenie ochrannej skupiny, ktoré závisí od povahy aminového ochranného činidla, to znamená, či je odstrániteľné (labilné) za kyslých, zásadických alebo hydrogenačných podmienok, a od ďalších reaktívnych skupín v zlúčenine, ktorá podstupuje operáciu odstraňovania ochrannej skupiny, to znamená činidlo na odstránenie ochrannej skupiny sa zvolí tak, aby vykonalo odstránenie požadovanej ochrannej skupiny bez ovplyvnenia ďalších reaktívnych skupín, ak sa nepožaduje súčasná ďalšia reakcia. Konkrétne aminové ochranné činidlo je Cbz alebo BOC; najmä Cbz. Konkrétne činidlo na odstránenie ochrannej skupiny je kyselina ako je HCl alebo $H_2/Pd(OH)_2$; najmä $H_2/Pd(OH)_2$. Konkrétne podmienky pre reakciu odstránenia ochrannej skupiny zahŕňujú vykonávanie reakcie v alkoholovom rozpúšťadle, ako je metanol alebo etanol alebo alkylalkanoátovom rozpúšťadle ako je etylacetát asi pri teplote okolia.



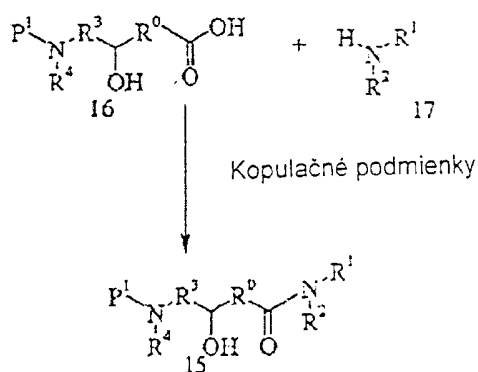
Zlúčenina všeobecného vzorca 12, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť kopuláciou zlúčeniny všeobecného vzorca 13, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, so zlúčeninou všeobecného vzorca 14, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, za vhodných podmienok. Konkrétne kopulačné podmienky používajú HOAt/DIC a DIPEA vo vhodnom organickom rozpúšťadle ako je THF asi pri teplote okolia.



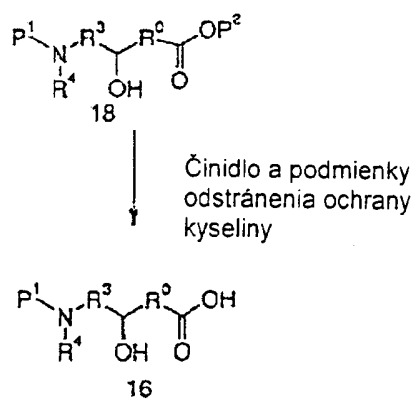
Zlúčenina všeobecného vzorca 4, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť odstránením ochrannej skupiny zlúčeniny všeobecného vzorca 15, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, pomocou vhodného činidla na odstránenie ochrannej skupiny a za vhodných podmienok. Odstránenie ochrannej skupiny sa vykonáva použitím vhodného činidla na odstránenie ochrannej skupiny, ktoré závisí od povahy aminového ochranného činidla, to znamená, či je odstrániteľné (labilné) za kyslých, zásadických alebo hydrogenných podmienok, a od ďalších reaktívnych skupín v zlúčenine, ktorá podstupuje operáciu odstraňovania ochrannej skupiny, to znamená činidlo na odstránenie ochrannej skupiny sa zvolí tak, aby vykonalo odstránenie požadovanej ochrannej skupiny bez ovplyvnenia ďalších reaktívnych skupín, ak sa nepožaduje súčasná ďalšia reakcia. Konkrétne aminové ochranné činidlo je Cbz alebo BOC; najmä Cbz. Konkrétne činidlo na odstránenie ochrannej skupiny je kyselina ako je HCl alebo $\text{H}_2/\text{Pd}(\text{OH})_2$; najmä $\text{H}_2/\text{Pd}(\text{OH})_2$. Konkrétne podmienky pre reakciu odstránenia ochrannej skupiny zahŕňujú vykonávanie reakcie v alkoholovom rozpúšťadle, ako je metanol alebo etanol alebo alkylalkanoátové rozpúšťadlo ako je etylacetát asi pri teplote okolia.



Zlúčenina všeobecného vzorca 15, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť kopuláciou zlúčeniny všeobecného vzorca 16, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, so zlúčeninou všeobecného vzorca 17, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, za vhodných podmienok. Konkrétne aminové ochranné činidlo je Cbz alebo BOC; obzvlášť Cbz. Konkrétne kopulačné podmienky používajú HOBT, PyBop a DIPEA vo vhodnom organickom rozpúšťadle ako je dichlórmetán za teploty od približne 0 °C do približne teploty okolia.

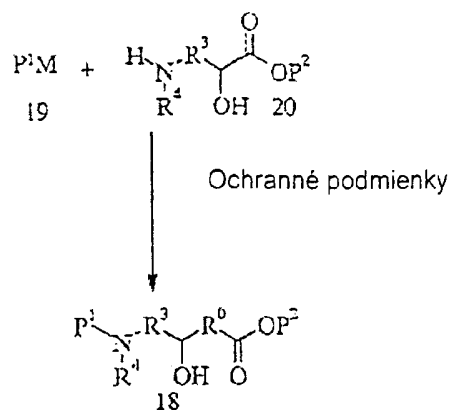


Zlúčenina všeobecného vzorca 16, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť odstránením ochrannej skupiny zlúčeniny všeobecného vzorca 18, v ktorom ďalšie premenné sú ako bolo opísané vyššie, pomocou vhodného činidla na odstránenie ochrannej skupiny a za vhodných podmienok. Odstránenie ochrannej skupiny sa vykonáva použitím vhodného činidla na odstránenie ochrannej skupiny, ktoré závisí od povahy ochranného činidla kyseliny, to znamená, či je odstrániteľné (labilné) za kyslých, zásadických alebo hydrogenačných podmienok, a od ďalších reaktívnych skupín v zlúčenine, ktorá podstupuje operáciu odstraňovania ochrannej skupiny, to znamená činidlo na odstránenie ochrannej skupiny sa zvolí tak, aby vykonalo odstránenie požadovanej ochrannej skupiny bez ovplyvnenia ďalších reaktívnych skupín, ak sa nepožaduje súčasná ďalšia reakcia. Konkrétne aminové ochranné činidlo je Cbz. Konkrétne ochranné činidlo kyseliny je C₁-C₈ nižší alkyl; najmä metyl. Konkrétne činidlo na odstránenie ochrannej skupiny je anorganická báza ako je hydroxid alkalického kovu; obzvlášť NaOH. Konkrétne podmienky pre reakciu odstránenia ochrannej skupiny zahŕňujú vykonávanie reakcie v alkoholovom rozpúšťadle, ako je metanol alebo etanol približne pri teplote okolia.

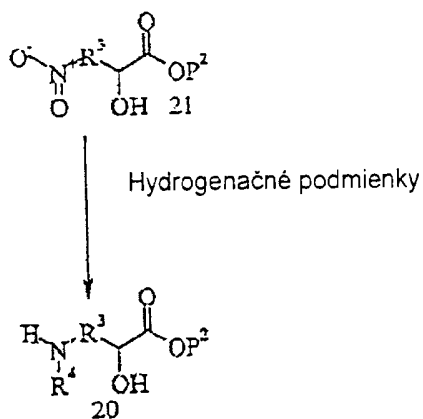


Zlúčenina všeobecného vzorca 18, v ktorom R⁰ je väzba a ďalšie premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť ochranou zlúčeniny všeobecného vzorca 20, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, zlúčeninou všeobecného vzorca 19, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, za vhodných podmienok. Konkrétne aminové ochranné činidlo je Cbz

alebo BOC. Konkrétne kopulačné podmienky používajú vhodné organické rozpúšťadlo ako je dichlórmetán za teploty od približne 0 °C do približne teploty okolia.

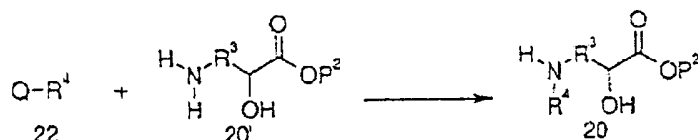


Zlúčenina všeobecného vzorca 20, v ktorom R^4 je atóm vodíka a ďalšie premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť hydrogenáciou zlúčeniny všeobecného vzorca 21, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, vhodným hydrogenačným činidlom a za vhodných podmienok. Konkrétne hydrogenačné činidlo je $\text{H}_2/\text{Pd}(\text{OH})_2$. Konkrétne hydrogenačné podmienky zahŕňujú vykonávanie hydrogenácie v alkoholovom rozpúšťadle ako je metanol alebo etanol alebo alkylalkanoátové rozpúšťadlo ako je etylacetát približne pri teplote okolia.



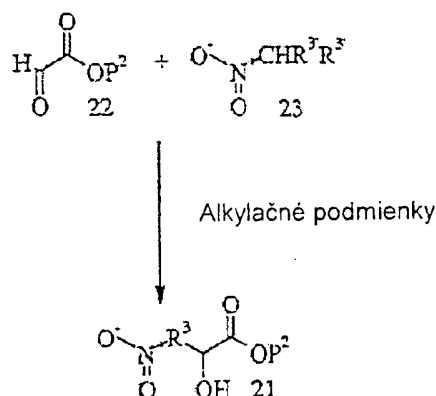
Zlúčenina všeobecného vzorca 20, v ktorom R^4 je prípadne substituovaný alifatický substituent a ďalšie premenné sú ako bolo opísané

vyššie, sa môže pripraviť alkyláciou zlúčeniny 20', v ktorej premenné sú ako bolo opísané vyššie, zlúčeninou 22 (alkylačné činidlo), v ktorej R⁴ je prípadne substituovaný alifatický substituent a Q je premiestniteľná skupina, ako sú halogenidy, tosyláty alebo sulfonáty, za vhodných podmienok.

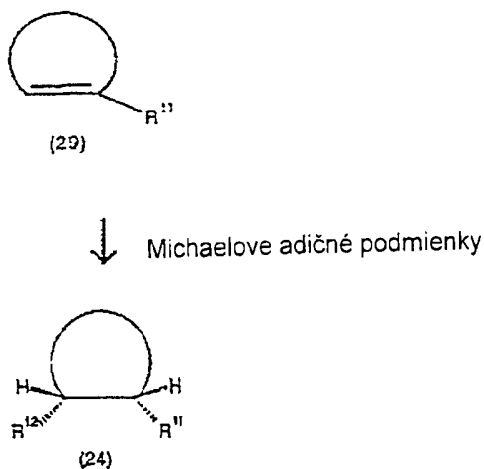


Vhodné alkylačné činidlá zahrňujú alifatické zlúčeniny (halogenidy, tosyláty alebo sulfonáty). Vhodné alkylačné podmienky zahrňujú vykonávanie alkylácie vo vhodnom organickom rozpúšťadle ako je alkoholové rozpúšťadlo, napríklad metanol alebo etanol, alebo éterové rozpúšťadlá, napríklad éter alebo tetrahydrofurán, za teploty od približne teploty okolia do približne teploty spätného toku.

Zlúčenina všeobecného vzorca 21, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť alkyláciou zlúčeniny všeobecného vzorca 22, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, zlúčeninou všeobecného vzorca 23, v ktorom R³ je nezávisle prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina, ako bolo opísané vyššie, za vhodných podmienok. Konkrétne alkylačné podmienky zahrňujú vykonávanie alkylácie použitím silnej bázy ako je terc-butoxid draselný v alkoholovom rozpúšťadle ako je metanol alebo etanol približne pri teplote okolia.



Zlúčenina všeobecného vzorca 24, v ktorej premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť vykonaním Michaelovej adície na Michaelovom akceptore všeobecného vzorca 29, v ktorom premenná je ako bolo opísané vyššie, imínovým glycinimidovým derivátom.



Michaelova adícia zahrňuje použitie vhodného aprotického polárneho rozpúšťadla, alkalickéj metyl-hydroxidovej bázy a vhodných teplôt. Bližšie informácie o Michaelovej adícii pozri Corey, E. J.; Noe, M. C.; Xu, F.: Tetrahedron Letter, 1998, 39, 5347. Bližšie informácie o syntéze chirálnych katalyzátorov prenosu fázy pozri Corey, E. J.; Noe, M. C.; Xu, F. J., Am. Chem. Soc., 1997, 119, 12414. Vhodné rozpúšťadlá zahrňujú DCM, ACN alebo THF v závislosti od reakčných podmienok. Vhodné bázy zahrňujú CsOH, NaOH, KOH a LiOH. Vhodné teplotné rozmedzie je od približne -78 °C do približne 0

°C, obzvlášť približne -60 °C. Imínové glycínimidy, použiteľné podľa predloženého vynálezu, sú opísané v tejto prihláške vynálezu. Výhodným imínovým glycínimidom je terc-butylester N-(difenylmetylén)glycínu. Okrem toho podmienky Michaelovej adície môžu alebo nemusia zahŕňovať použitie katalyzátora prenosu fázy (phase transfer catalyst - PTC) (chirálny a nechirálny). Výhodný PTC je O-[9]alyl-N-9-antracenylylmetylcínchonídium bromid.

Zlúčenina všeobecného vzorca 25, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť imínovým štiepením a cyklizáciou zlúčeniny všeobecného vzorca 24.



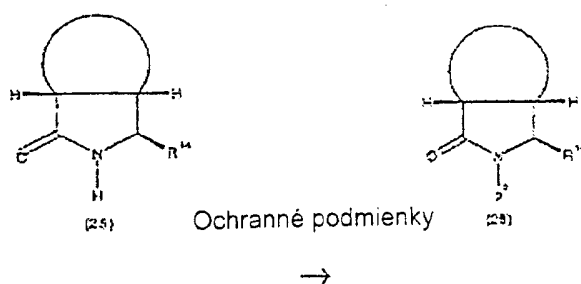
Podmienky štiepenia a cyklizácie



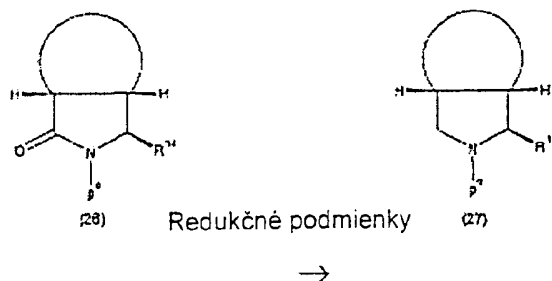
Procedúry štiepenia a cyklizácie pozri Javidan, A.; Schafer, K., Pyne, S., Synlett, 1996, 100; Tatsukawa, A., Dan, M., Ohbatake, M., Kawatake, K., Fukata, T., Wada, E., Kanemase, S., Kakei, S., J. Org. Chem., 1993, 58, 4221. Podmienky štiepenia a cyklizácie zahŕňujú použitie polárnych rozpúšťadiel, kyslých činidiel a teploty od približne teploty okolia do približne 150 °C. Výhodné podmienky zahŕňujú použitie EtOH, AcONa a NH₂OH.HCl a teplotu rovnajúcu sa približne teplote varu použitého rozpúšťadla.

Zlúčenina všeobecného vzorca 26, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť ochranou amidovej zlúčeniny všeobecného vzorca 25, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, pomocou vhodnej amidovej ochrannnej skupiny ako je BOC. Ďalšie vhodné ochranné skupiny zahŕňujú CBz, -CO₂alkyl. Pozri tiež Greene, T. W., Wuts, P. G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley and Sons, New York, 1991 ako príklady

ďalších aminových ochranných skupín. Podmienky reakcie zahrňujú použitie aprotických polárnych rozpúšťadiel, organické bázy ako katalyzátory a teploty v rozmedzí približne 0 °C - 100 °C. Výhodné podmienky zahrňujú použitie ACN, dimetylaminopyridínu a približne teplotu okolia.



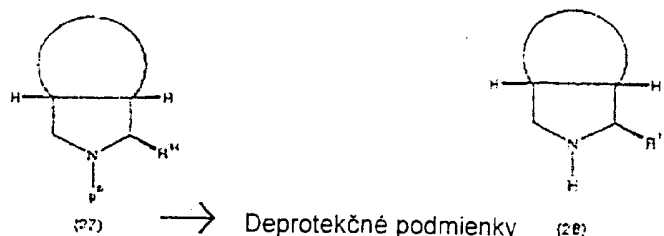
Zlúčenina všeobecného vzorca 27, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť redukciou chránenej zlúčeniny všeobecného vzorca 26, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie.



V skutočnosti sa vykonávajú dve redukcie. Prvá redukcia je redukcia amidu na hemiaminal použitím DIBALH alebo superhydridu (LiEt₃H). Druhá redukcia redukuje hemiaminal na amín použitím Et₃SiH a BF₃OEt₂. Pozri Collado, I., Ezqueera, J., Mateo, A. I., Rubio, A., J. Org. Chem., 1998, 63, 1995 - 2001 a Ezqueera, J., Pedregal, C., Yruretagoyena, B., Rubio, A., Carreno, M. C., Escribano, A., Garcia Ruano, J. L., J. Org. Chem., 1995, 60, 2925 pre redukčné podmienky.

Ďalšou bežnou podmienkou premeny pyroglutamátov na pyrrolidíny je použitie BH₃.SMe₂.

Zlúčenina všeobecného vzorca 28, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie, sa môže pripraviť odstránením ochrannnej skupiny zlúčeniny všeobecného vzorca 27, v ktorom premenné sú ako bolo opísané vyššie.



Pozri Gibson, F. G., Benneier, S. C., Rapoport, H., J. Org. Chem., 1994, 59, 3216 - 3218 kvôli podmienkam selektívneho odstránenia ochrannej skupiny N-BOC v prítomnosti terc-butylesteru.

Odborník v odbore vie, že podmienky odstránenia ochrannej skupiny sú závislé od voľby ochrannej skupiny. Napríklad, ak sa použije CBz, môže sa použiť hydrogenácia alebo bázičné podmienky. Výhodne, ak sa použije BOC, môže sa použiť 1 N HCl v etylacetáte, pozri Greene, T. W., Wuts, P. G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, Wiley and Sons, New York, 1991.

Priemernému odborníkovi v odbore je zrejmé, že zlúčenina všeobecného vzorca 3 sa môže pripraviť kopuláciou zlúčeniny všeobecného vzorca 5 so zlúčeninou všeobecného vzorca 28 za vyššie opísaných podmienok.

Spôsoby prípravy R^3 , R^5 alebo R^7 ako prípadne substituovaných etándiylových skupín sú známe odborníkom v odbore, napríklad sú tieto spôsoby opísané v „The Organic Chemistry of beta-Lactams“, editor G. Georg, VCH Publishers, Inc. (1993), napríklad str. 240 - 241 a 303 - 305.

Schémy 1 - 11, ktoré nasledujú, uvádzajú príklady vybraných spôsobov prípravy prípadne substituovaných multicyklických azaheterocyklylov. Spôsoby v ďalej uvedených schémach sú tiež použiteľné na ďalšie prípadne substituované multicyklické azaheterocyklyly obsahujúce podobných substituentov.

Schéma 1

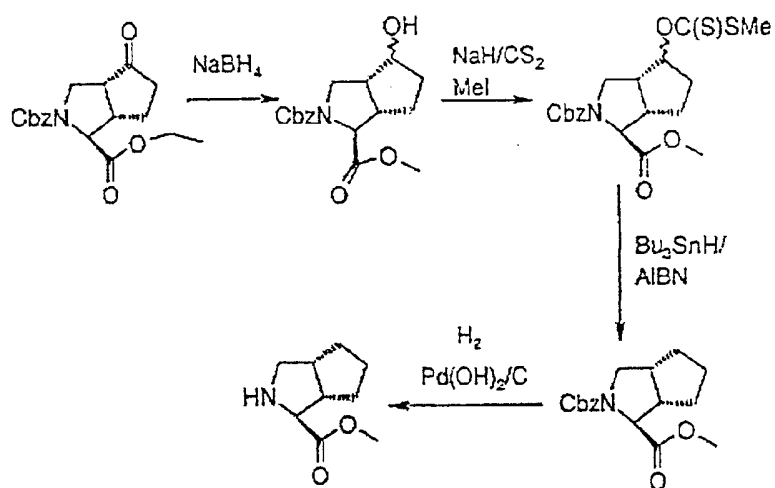


Schéma 2

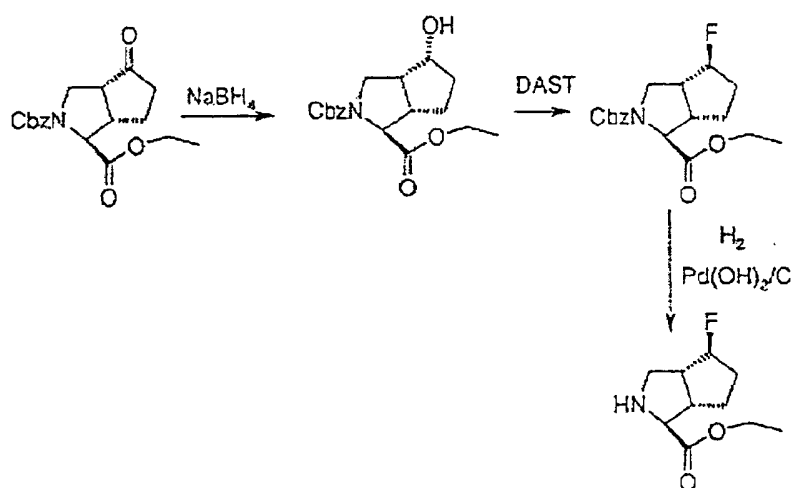


Schéma 3

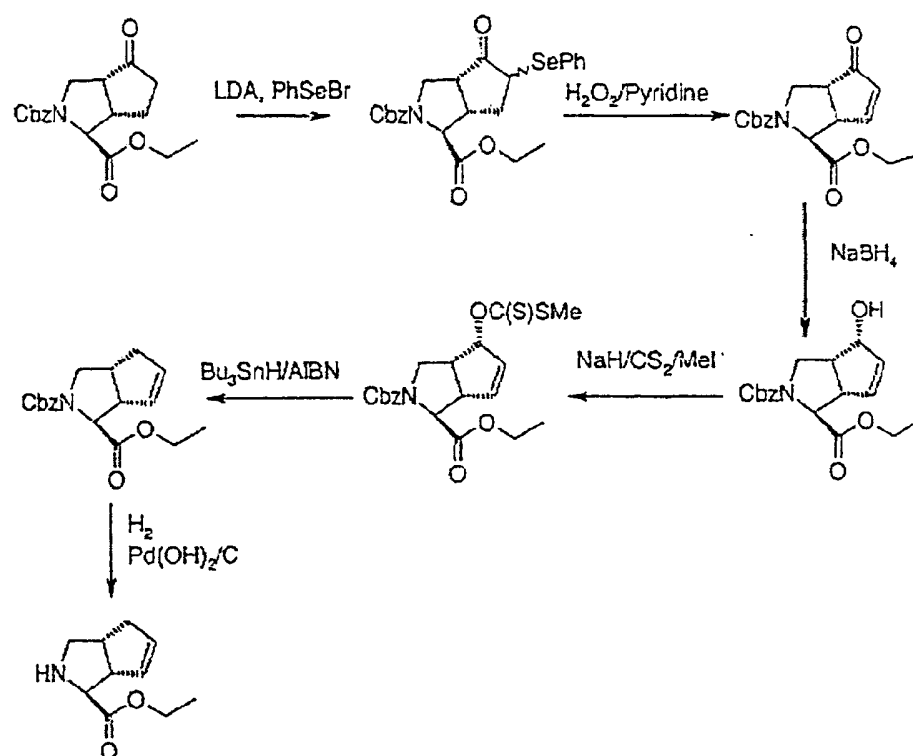


Schéma 4

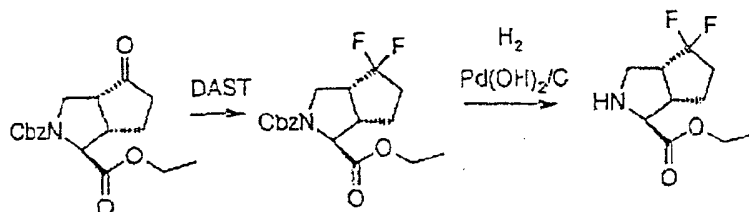


Schéma 5

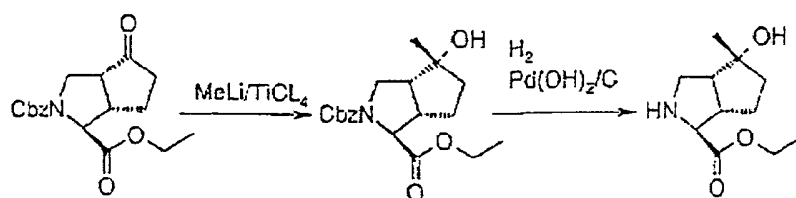


Schéma 6

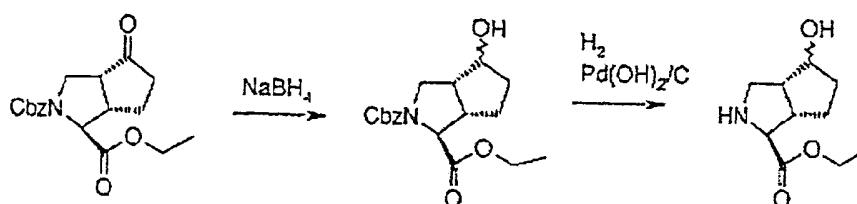


Schéma 7

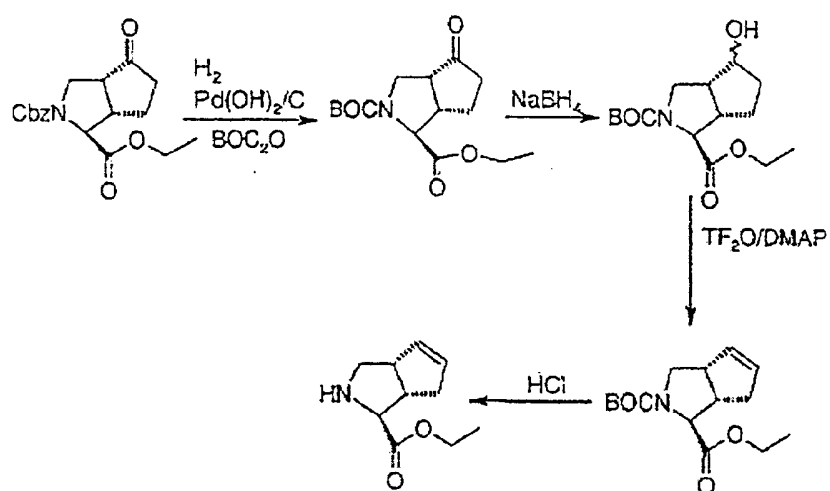


Schéma 8

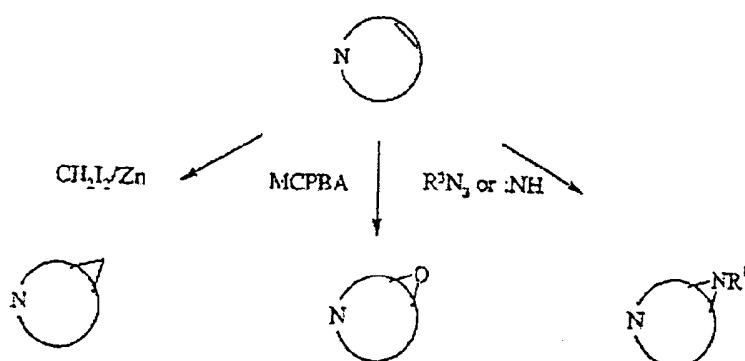


Schéma 9

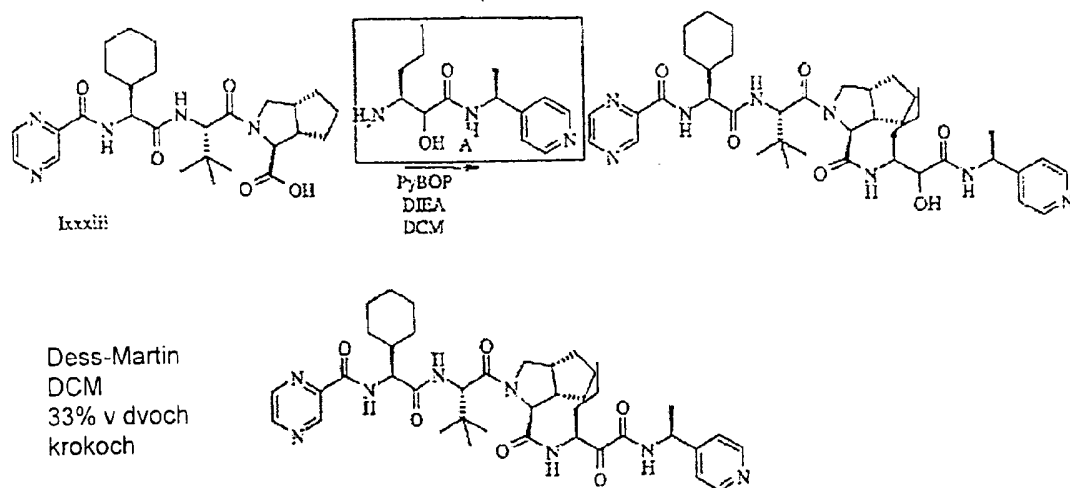


Schéma 10

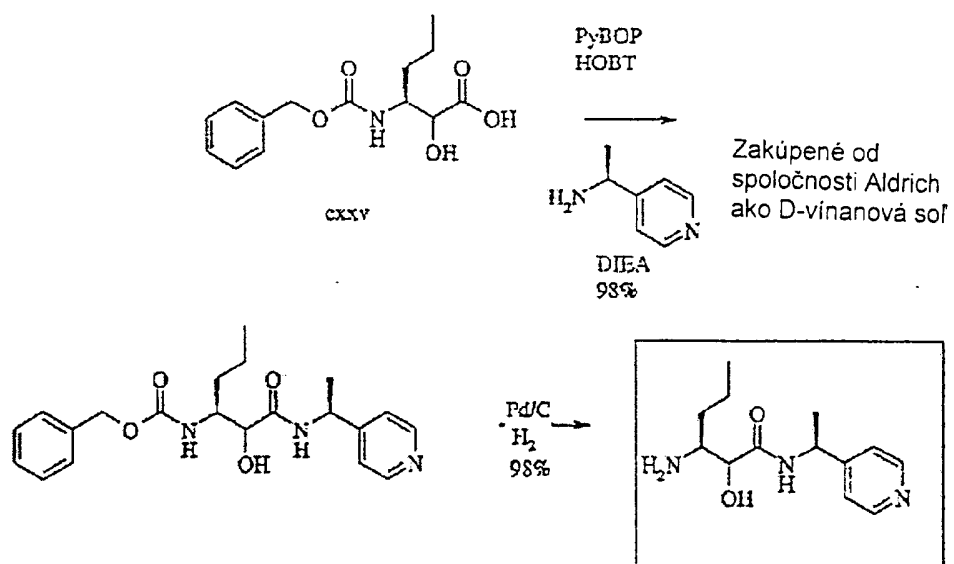
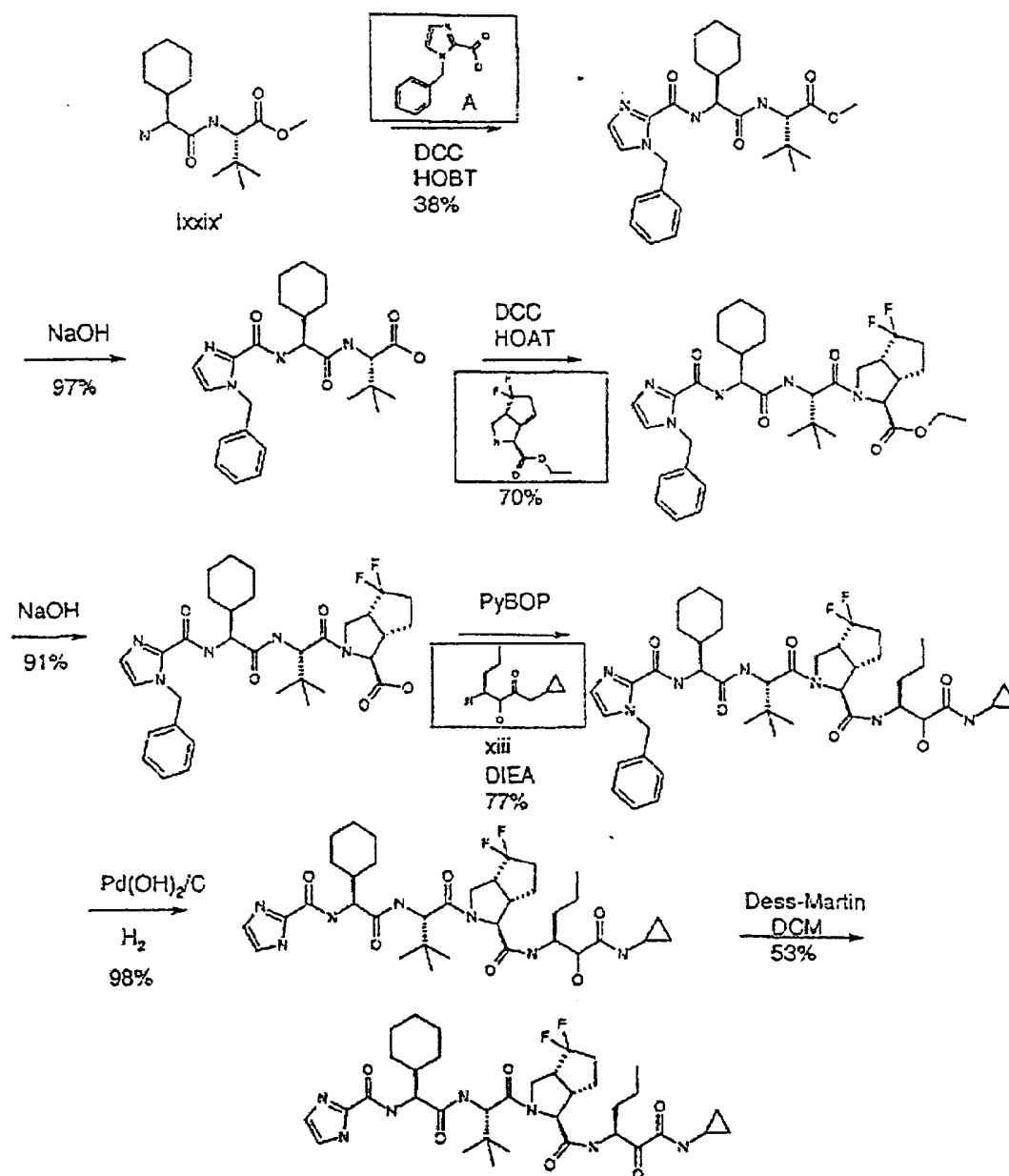


Schéma 11



Zlúčenina všeobecného vzorca 1 zahrňujúca skupinu obsahujúcu jeden alebo viacero atómov dusíka v kruhu, výhodne imín (=N-), sa môže premeniť na zodpovedajúcu zlúčeninu, v ktorej jeden alebo viacero atómov dusíka v kruhu v skupine sa oxidujú na N-oxid, výhodne reakciou s perkyselinou, napríklad

kyselinou peroctovou v kyseline octovej alebo kyselinou m-chlórperoxybenzoovou v inertnom rozpúšťadle ako je dichlórmetán, za teploty od približne teploty okolia do teploty spätného toku, výhodne za zvýšenej teploty.

V tu opísaných reakciách môže byť nutné chrániť reakčné funkčné skupiny, napríklad skupiny hydroxy, amino, imino, tio alebo karboxy, ak je to žiaduce, aby sa nachádzali v konečnom produkte, kvôli zamedzeniu nežiaducej účasti v reakciách. Môžu sa použiť bežné ochranné skupiny v súlade so štandardnou praxou, pozri napríklad T. W. Greene a P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Chemistry*, John Wiley and Sons (1991); J. F. W. McOmie, *Protective Groups in Organic Chemistry*, Plenum Press, 1973.

Zlúčenina, ktorá sa pripraví ako bolo opísané vyššie, sa môže izolovať z reakčnej zmesi bežnými prostriedkami. Napríklad sa môžu zlúčeniny izolovať oddestilovaním rozpúšťadla z reakčnej zmesi alebo, ak je to nutné po oddestilovaní rozpúšťadla z reakčnej zmesi, vliatím rezídua do vody s následnou extrakciou zo zmesi voda - nemiešateľné organické rozpúšťadlo a oddestilovaním rozpúšťadla z extraktu. Navyše produkt sa môže, ak sa to požaduje, ďalej čistiť rôznymi dobre známymi spôsobmi ako je rekryštalizácia, reprecipitácia alebo rôzne chromatografické spôsoby, hlavne kolónová chromatografia alebo preparatívna chromatografia na tenkej vrstve.

Predložený vynález sa ďalej týka spôsobu prípravy zlúčenín podľa predloženého vynálezu interkonverziou inej zlúčeniny podľa predloženého vynálezu.

Ako príklad interkonverzie sa môžu zlúčeniny všeobecného vzorca 1, obsahujúce sulfoxidové väzby, pripraviť oxidáciou zodpovedajúcich zlúčenín obsahujúcich -S- väzby. Napríklad sa môže oxidácia výhodne vykonávať ako reakcia s peroxykyselinou, napríklad s kyselinou 3-chlórperbenzoovou, výhodne v inertnom rozpúšťadle, napríklad dichlórmetáne, výhodne za alebo blízko teploty okolia, alebo alternatívne prostredníctvom hydrogénperoxo-monosulfátu draselného v prostredí ako je vodný metanol, pufrovaný na približne pH 5, za teploty medzi približne 0 °C a teplotou okolia. Naposledy uvedený spôsob je

výhodný pre zlúčeniny obsahujúce kyselinovo labilnú skupinu.

Ako iný príklad interkonverzie sa môžu zlúčeniny všeobecného vzorca 1, obsahujúce sulfónové väzby, pripraviť oxidáciou zodpovedajúcich zlúčenín obsahujúcich -S- alebo sulfoxidové väzby. Napríklad oxidácia sa môže výhodne vykonávať prostredníctvom reakcie s peroxykyselinou, napríklad kyselinou 3-chlórperbenzoovou, výhodne v inertnom rozpúšťadle, napríklad v dichlórmétáne, výhodne za alebo blízko teploty okolia.

Rozumie sa, že označenie aromatickosti u arýlov a heteroarýlov znamená vysoko rezonančnú, nenasýtenú kruhovú štruktúru. Alternatívne umiestnenie dvojítých väzieb, pokiaľ je označené, predstavuje jednu možnú štruktúru znázornenia zlúčeniny, ale je zrejmé, že zahrňuje i ďalšie rezonančné stavy zlúčeniny rovnako tak ako protónované a nabité varianty, z ktorých len jeden sa môže znázorniť.

Je zrejmé, že zlúčeniny podľa predloženého vynálezu môžu obsahovať asymetrické centrá. Tieto asymetrické centrá môžu byť nezávisle buď v R alebo v S konfigurácii. Odborníkovi v odbore je jasné, že niektoré zlúčeniny podľa predloženého vynálezu môžu tiež vykazovať geometrickú izomériu. Chápe sa, že predložený vynález zahrňuje jednotlivé geometrické izoméry a stereoizoméry a ich zmesi, vrátane racemických zmesí, zlúčenín podľa predloženého vynálezu. Takéto izoméry sa môžu separovať z ich zmesí aplikáciou alebo úpravou známych spôsobov, napríklad chromatografickými spôsobmi a rekryštalizačnými spôsobmi alebo sa oddelene pripravujú z vhodných izomérov ich medziproduktov.

Pre účely opisu vynálezu sa chápe, že tautomérne formy sú zahrnuté v opise danej skupiny, napríklad tioxo/merkaptó alebo oxo/hydroxy.

Adičné soli kyselín možno vytvoriť zo zlúčenín podľa predloženého vynálezu, v ktorých je prítomná bázická funkčná skupina, ako je skupina amino, alkylamino alebo dialkylamino. Farmaceuticky prijateľné, to znamená netoxické, adičné soli kyselín sú výhodné. Zvolené soli sa v optimálnom prípade zvolia tak, aby boli zlúčiteľné s bežnými farmaceutickými vehikulami a upravené na orálne

alebo parenterálne podávanie. Adičné soli kyselín zlúčenín podľa predloženého vynálezu sa môžu pripraviť reakciou voľnej bázy so zodpovedajúcou kyselinou aplikáciou alebo úpravou známych spôsobov. Napríklad adičné soli kyselín zlúčenín podľa predloženého vynálezu sa môžu pripraviť buď rozpustením voľnej bázy vo vode alebo vodnom roztoku alkoholu alebo v ďalších vhodných rozpúšťadlách obsahujúcich vhodnú kyselinu a izoláciou soli odparením roztoku alebo reakciou voľnej bázy a kyseliny v organickom rozpúšťadle, pričom v tomto prípade sa soľ separuje priamo alebo sa môže získať koncentráciou roztoku. Niektorými vhodnými kyselinami na prípravu takýchto solí sú kyselina chlorovodíková, kyselina bromovodíková, kyselina fosforečná, kyselina sírová, rôzne organické karboxylové a sulfónové kyseliny ako je kyselina octová, kyselina citrónová, propiónová kyselina, kyselina jantárová, kyselina benzoová, kyselina vínna, kyselina fumárová, kyselina mandľová, kyselina askorbová, kyselina jablčná, kyselina metánsulfónová, kyselina toluénsulfónová, mastné kyseliny, adipáty, algináty, askorbáty, aspartáty, benzénsulfonáty, benzoáty, cyklopentánpropionáty, diglukonáty, dodecylsulfáty, hydrogénsírany, maslany, mliečnany, lauráty, laurylsulfáty, maleínany, hydrojodidy, 2-hydroxyetánsulfonáty, glycerofosfáty, pikrany, pivaláty, pamoáty, pektináty, persulfáty, 3-fenylpropionáty, tiokyanáty, 2-naftalénsulfonáty, undekanoáty, nikotináty, hemisulfáty, heptonáty, hexanoáty, gafrany, gáforsulfonáty a ďalšie.

Adičné soli kyselín zlúčenín podľa predloženého vynálezu sa môžu regenerovať zo solí aplikáciou alebo úpravou známych spôsobov. Napríklad sa môžu základné zlúčeniny podľa predloženého vynálezu regenerovať z ich adičných solí kyselín spracovaním alkalickou látkou, napríklad vodným roztokom hydrogénuhličitanu sodného alebo vodným roztokom čpavku.

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sa môžu regenerovať z ich adičných solí báz aplikáciou alebo úpravou známych spôsobov. Napríklad základné zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sa môžu regenerovať z ich adičných solí báz spracovaním kyselinou, napríklad kyselinou chlorovodíkovou.

Adičné soli báz sa môžu vytvoriť, pokiaľ zlúčenina podľa predloženého vynálezu obsahuje karboxylovú skupinu alebo dostatočne kyslý bioizostér. Bázy, ktoré sa môžu použiť na prípravu adičných solí báz, zahrňujú výhodne také, ktoré, pokiaľ sa skombinujú s voľnou kyselinou, vytvárajú farmaceuticky prijateľné soli, to znamená soli, ktorých katióny nie sú toxické pre pacienta pri farmaceutických dávkach solí, takže priaznivé inhibičné účinky, vlastné voľnej báze, nie sú popreté vedľajšími účinkami, ktoré možno pripísať aniónom. Farmaceuticky prijateľné soli, vrátane solí odvodených od solí alkalických kovov a kovov alkalických zemín, spadajúce do rozsahu predloženého vynálezu, zahrňujú soli, odvodené od nasledujúcich báz: hydrid sodný, hydroxid sodný, hydroxid draselný, hydroxid vápenatý, hydroxid hlinitý, hydroxid lítny, hydroxid zinočnatý, hydroxid horečnatý, amónium, etyléndiamín, N-metylglukamín, lyzín, arginín, ornitín, cholín, N,N'-dibenzyletyléndiamín, chlórprokaín, dietanolamín, prokaín, N-benzylfenetylamín, dietylamín, piperazín, tris(hydroxymetyl)aminometán, hydroxid tetrametylamónny a podobne.

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sa môžu výhodne pripraviť alebo vytvoriť v priebehu vykonávania spôsobov podľa predloženého vynálezu ako solváty (napríklad hydráty). Hydráty zlúčenín podľa predloženého vynálezu sa môžu výhodne pripraviť rekryštalizáciou zo zmesi vo vodnom/organickom rozpúšťadle, použitím organických rozpúšťadiel ako je dioxán, tetrahydrofurán alebo metanol.

Východiskové materiály a medziprodukty sa môžu pripraviť aplikáciou alebo úpravou známych spôsobov, napríklad spôsobmi, ktoré sú opísané v referenčných príkladoch alebo ich zrejmych chemických ekvivalentoch.

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu, spôsoby ich použitia alebo prípravy a ich biologický účinok sa stanú jasnejšie po podaní nasledujúcich príkladov, ktoré sú uvedené len ako ilustrácia a nemyslia sa ako obmedzenie rozsahu predloženého vynálezu.

Vzorky sa analyzovali pomocou TLC, NMR, RP-HPLC alebo EA.

Príklady uskutočnenia vynálezu

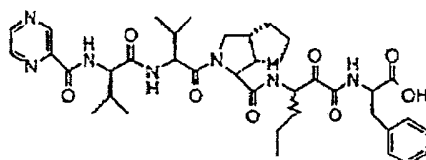
Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu, spôsoby ich použitia alebo prípravy a ich biologický účinok budú jasnejšie po podaní nasledujúcich príkladov, ktoré sú uvedené len ako ilustrácia a nemyslia sa ako obmedzenie rozsahu predloženého vynálezu.

Vzorky sa analyzovali pomocou TLC, NMR, RP-HPLC alebo EA.

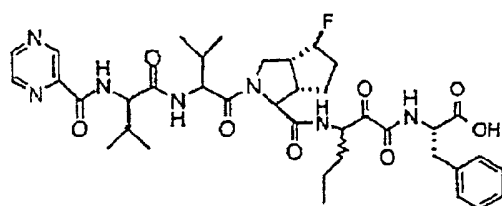
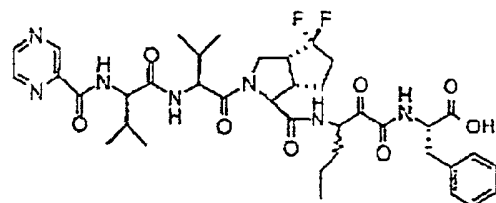
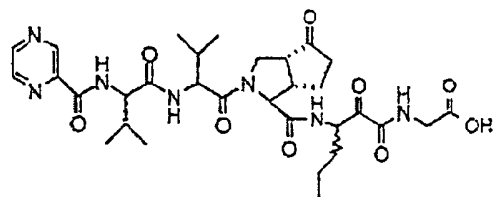
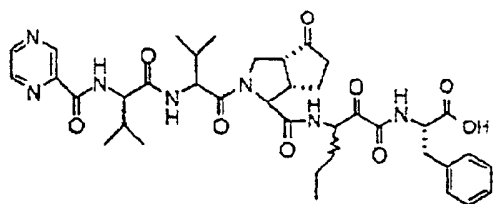
Príklad 1

Zlúčeniny A - E

Do DCM roztoku (10 ml) zlúčeniny xi (310 mg, 0,39 mmol) sa pridá TFA (4 ml). Reakčná zmes sa mieša asi pri teplote okolia počas 5 hodín. V tomto okamihu sa rozpúšťadlo odstráni vo vákuu. Výsledné rezíduum sa čistí pomocou HPLC s obrátenými fázami kvôli získaniu 195 mg (68 %) zlúčeniny A,



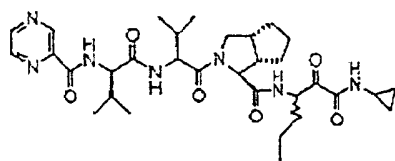
Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom a použitím vhodných východiskových materiálov sa pripravia nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny B - E:



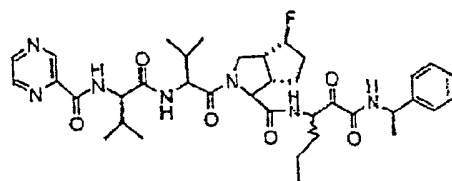
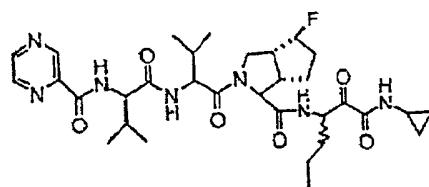
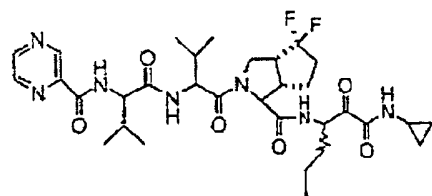
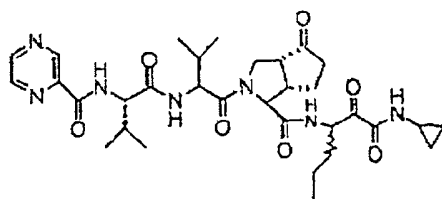
Príklad 2

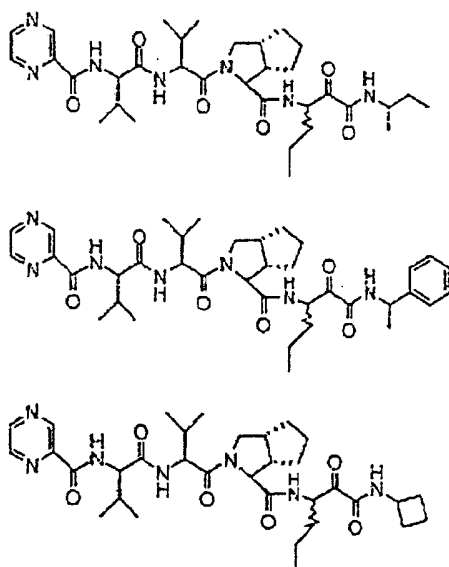
Zlúčeniny F - M

Do DCM roztoku (10 ml) zlúčeniny xii (350 mg, 0,56 mmol) sa pridá činidlo DMP (307 mg, 0,73 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 2 hodín a potom sa reakcia zastaví pomocou 10 % Na_2SO_3 počas 30 minút. Reakčná zmes sa potom extrahuje pomocou EtOAc (75 ml) a premýva soľným roztokom. Organická vrstva sa suší a koncentruje vo vákuu. Výsledné rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (80 - 90 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 248 mg (71 %) zlúčeniny F



Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom a použitím vhodných východiskových materiálov sa pripravia nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny G - M:

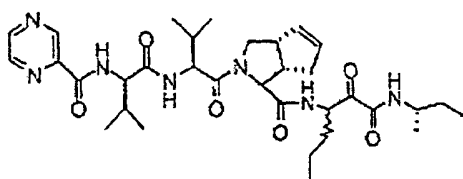




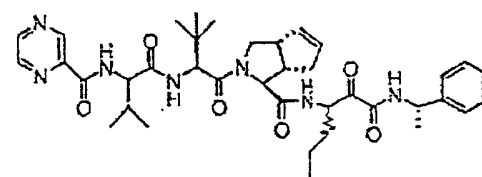
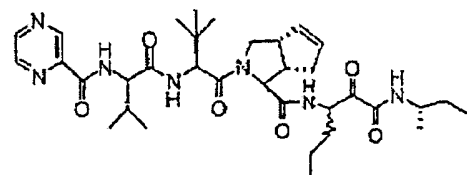
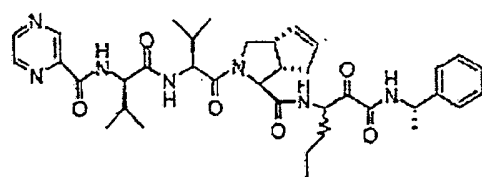
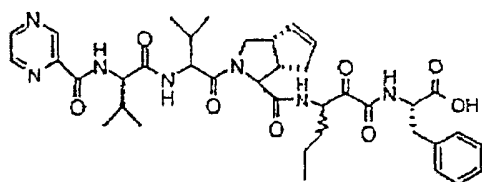
Príklad 3

Zlúčeniny N - R

Do DCM roztoku (4 ml) zlúčeniny xix (~ 0,22 mmol) sa pridá činidlo DMP (146 mg, 0,34 mmol). Po miešaní asi pri teplote okolia počas 2 hodín sa reakcia zastaví pomocou 10 % Na_2SO_3 . Reakčná zmes sa potom zriedi pomocou DCM. Organická vrstva sa separuje a premýva dvakrát 10 % Na_2SO_3 a soľným roztokom. Výsledná organická vrstva sa suší a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (5 % EtOH/EtOAc) kvôli získaniu 78 mg (56 %) požadovanej zlúčeniny N



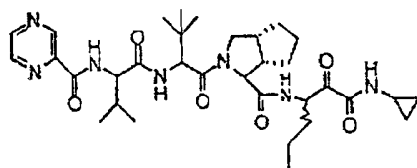
Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom a použitím vhodných východiskových materiálov sa pripravia nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny O - R:



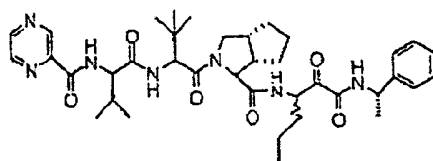
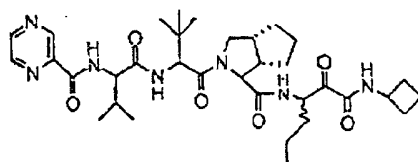
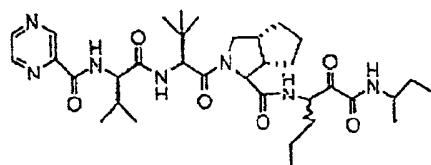
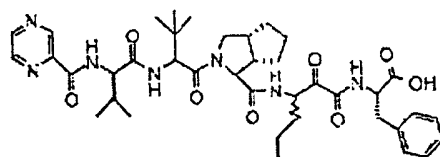
Príklad 4

Zlúčeniny S - W

Do DCM roztoku (10 ml) zlúčeniny xxv (320 mg, 0,5 mmol) sa pridá činidlo DMP (272 mg, 0,65 mmol). Reakčná zmes sa mieša asi pri teplote okolia počas 2 hodín a reakcia sa zastaví pridávaním 10 % Na_2SO_3 počas 20 minút. Výsledná zmes sa potom extrahuje pomocou EtOAc. Organická vrstva sa premýva soľným roztokom, suší a koncentruje vo vákuu. Výsledné rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (80 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 170 mg (53 %) zlúčeniny S



Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom a použitím vhodných východiskových materiálov sa pripravia nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny T - W:

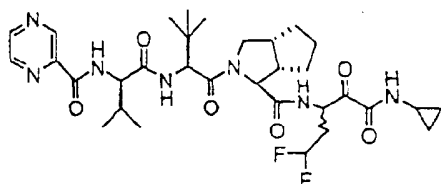


Príklad 5

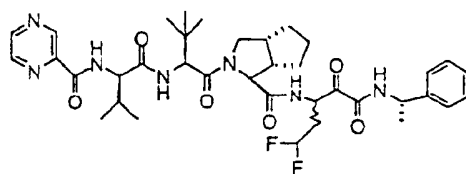
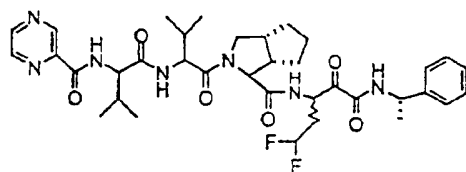
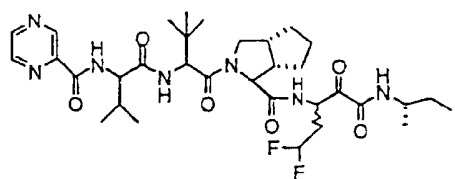
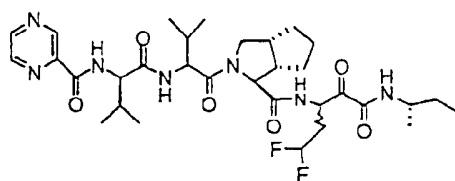
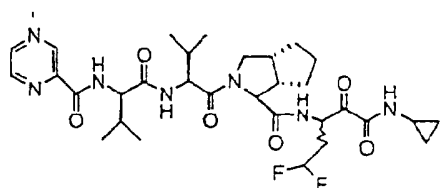
Zlúčeniny X - AD

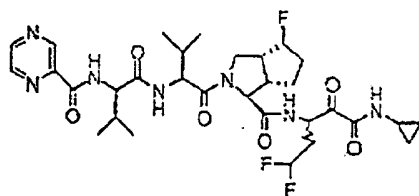
Do DCM roztoku (20 ml) zlúčeniny xxvi (400 mg, 0,6 mmol) sa pridá činidlo DMP (329 mg, 0,78 mmol). Reakčná zmes sa mieša asi pri teplote okolia počas 1,5 hodiny a reakcia sa zastaví pridávaním 10 % Na₂SO₃ počas 20 minút. Výsledná zmes sa potom extrahuje pomocou EtOAc. Organická

vrstva sa premýva soľným roztokom, suší a koncentruje vo vákuu. Výsledné rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (70 - 100 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 210 mg (53 %) zlúčeniny X,



Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom a použitím vhodných východiskových materiálov sa pripravia nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny Y
- AD:

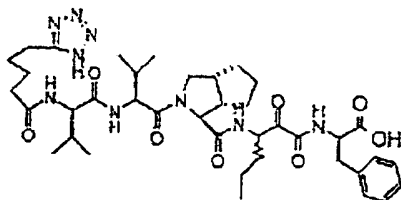




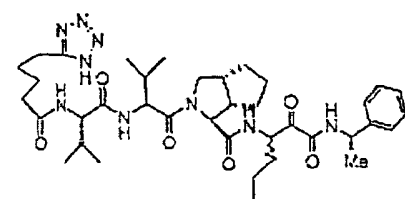
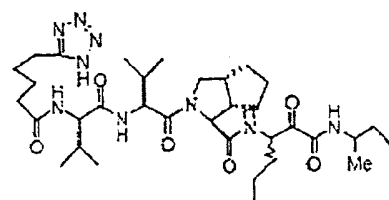
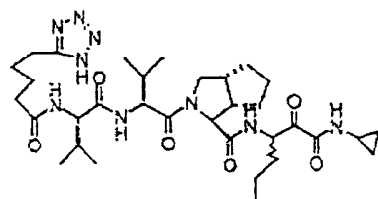
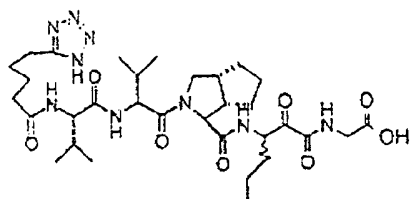
Príklad 6

Zlúčeniny AE - AI

Zlúčenina xxxiii (150 mg, 0,076 mmol) sa rozpustí v 5 ml TFA a mieša sa dva dni. Produkt sa čistí pomocou RP-HPLC kvôli získaniu 40 mg (33 % výťažok) zlúčeniny AE,



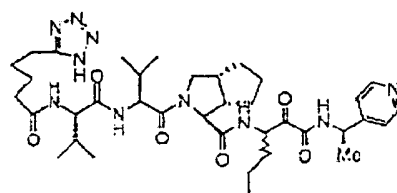
Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom a použitím vhodných východiskových materiálov sa pripravujú nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny AF - AI:



Príklad 7

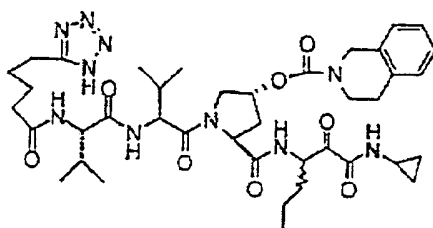
Zlúčenina AJ

Zlúčenina xxxviii (180 mg, 0,21 mmol) sa rozpustí v bezvodom TFA (5 ml) a nechá sa v pokoji počas 3 dní asi pri teplote okolia. V tomto okamihu sa reakčná zmes koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí pomocou HPLC s obrátenými fázami kvôli získaniu 50 mg (32 %) zlúčeniny AJ,

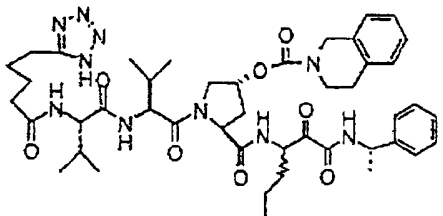
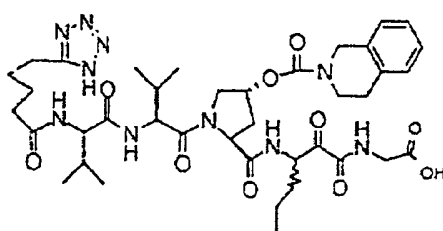


Príklad 8**Zlúčeniny AK - AM**

Zlúčenina xxxxi (150 mg, 0,16 mmol) sa rozpustí v 4,5 ml TFA a mieša tri dni. Produkt sa čistí pomocou RP-HPLC kvôli získaniu 70 mg (54 % výťažok) zlúčeniny AK,

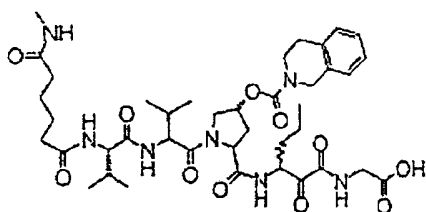


Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom a použitím vhodných východiskových materiálov sa pripravujú nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny AL - AM:

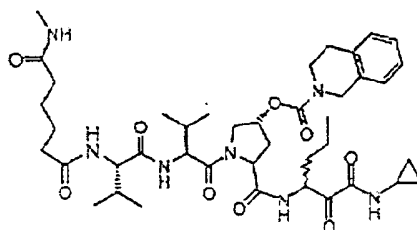


Príklad 9**Zlúčenina AN**

Zlúčenina lii (80 mg) sa rozpustí v 3 ml TFA a 3 ml DCM. Zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 5 hodín. Rozpúšťadlo sa odstráni odparením. Výsledné rezíduum sa čistí pomocou HPLC kvôli získaniu 62 mg (83 %) zlúčeniny AN,

**Príklad 10****Zlúčenina AO**

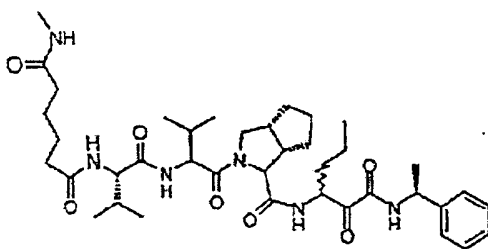
Zlúčenina liii (160 mg, 0,2 mmol) sa rozpustí v 5 ml DCM a pridá sa činidlo DMP (170 mg, 0,4 mmol). Zmes sa mieša približne pri teplote okolia tri hodiny. Rozpúšťadlo sa odstráni odparením a rezíduum sa rozpustí v zmesi 50 % acetonitril/voda a čistí sa pomocou RP-HPLC kvôli získaniu 51 mg (32 %) zlúčeniny AO,



Príklad 11

Zlúčenina AP

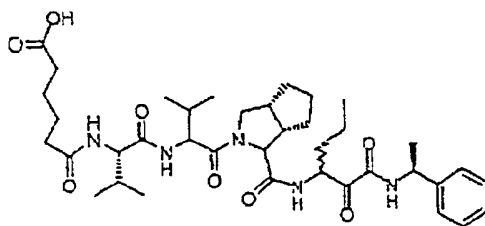
Zlúčenina Ix (162 mg, 0,22 mmol) sa rozpustí v 8 ml DCM a pridá sa činidlo DMP (189 mg, 0,44 mmol). Zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 3 hodín. Rozpúšťadlo sa odstráni odparením a produkt sa čistí pomocou RP-HPLC kvôli získaniu 41 mg (25 %) zlúčeniny AP,



Príklad 12

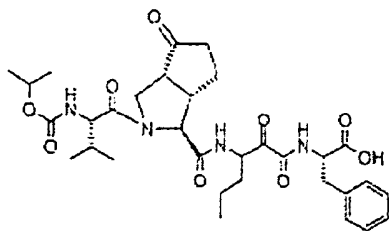
Zlúčenina AQ

Zlúčenina Ix (70 mg, 0,09 mmol) sa rozpustí v 5 ml TFA a 5 ml DCM. Zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 3 hodín. Rozpúšťadlo sa odstráni vo vákuu a rezíduum sa rozpustí v zmesi 50 % acetonitril/voda a lyofilizuje sa kvôli získaniu zlúčeniny AQ vo forme prášku,

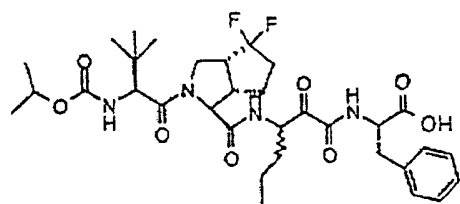
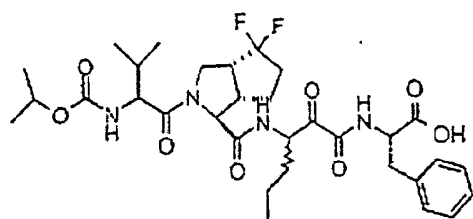
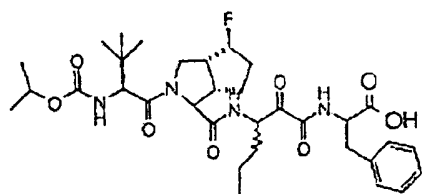
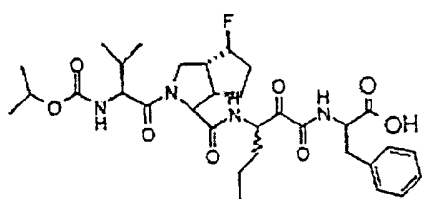


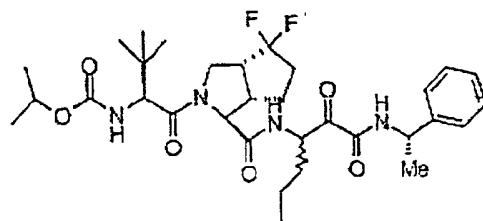
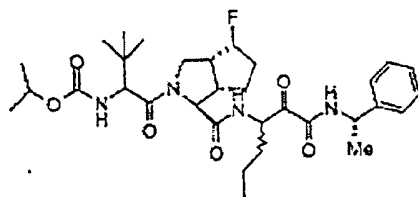
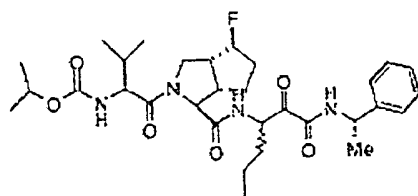
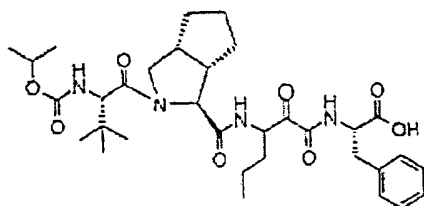
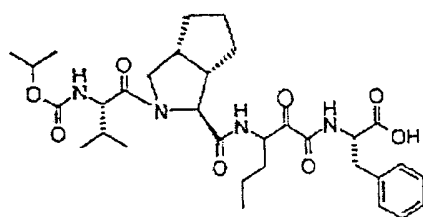
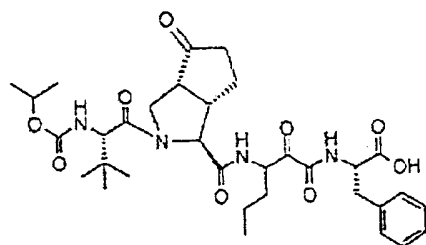
Príklad 13**Zlúčeniny AR - BG**

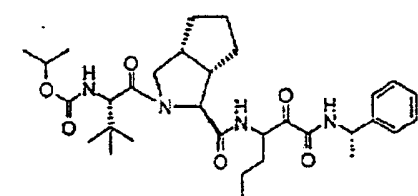
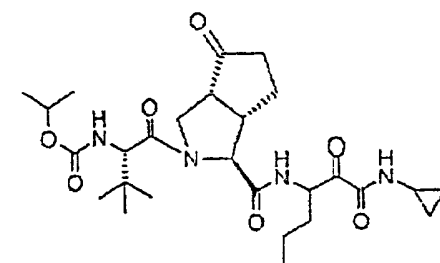
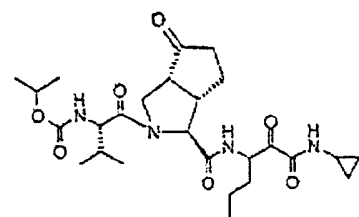
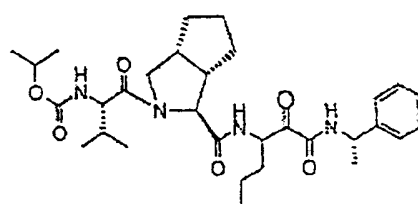
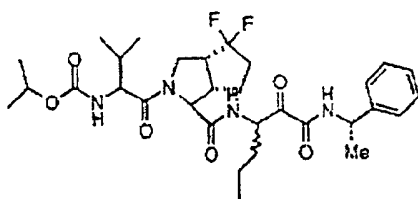
Zlúčenina lxvi (223 mg, 0,326 mmol) sa mieša v roztoku TFA (5 ml) a DCM (5 ml) počas 4 hodín. TLC (silikagél: 2 % MeOH/EtOAc) ukázala úplnú premenu na pomalší produkt. Rozpúšťadlo sa odstráni za zníženého tlaku a produkt sa lyofilizuje kvôli získaniu 198 mg (97 %) zlúčeniny AR,



Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom a použitím vhodných východiskových materiálov sa pripravia nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny AS - BG:

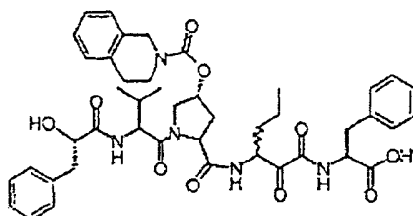




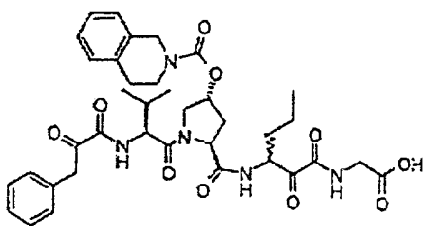
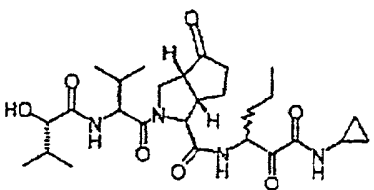
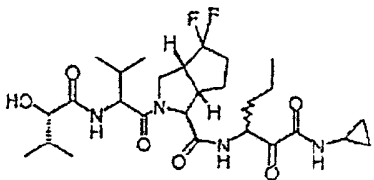
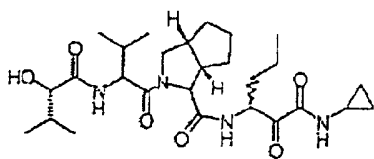
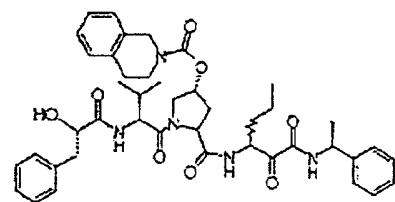
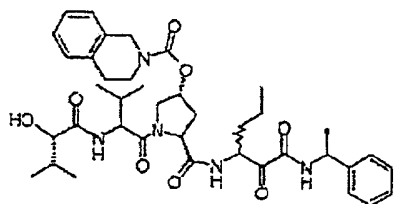
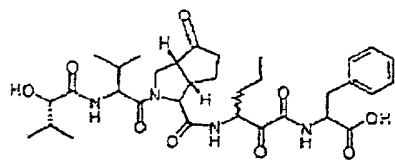


Príklad 14**Zlúčeniny BH - BS**

Zlúčenina Ixxiii (150 mg, 0,15 mmol) sa vyberie v DCM (3 ml). Do tohto roztoku sa pridá TFA (1,5 ml). Výsledný roztok sa mieša cez noc. V tomto okamihu sa reakčná zmes koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua. Rezíduum sa čistí pomocou HPLC s obrátenými fázami a lyofilizuje sa kvôli získaniu 60 mg (50 %) zlúčeniny BH,

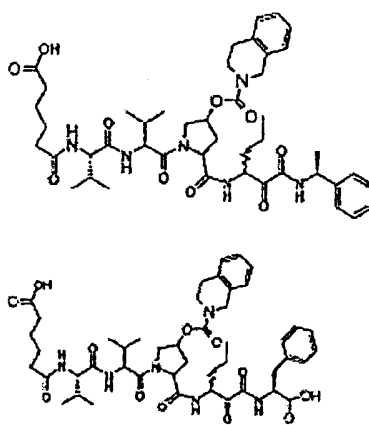


Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom a použitím vhodných východiskových materiálov sa pripravujú nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny BI - BS:

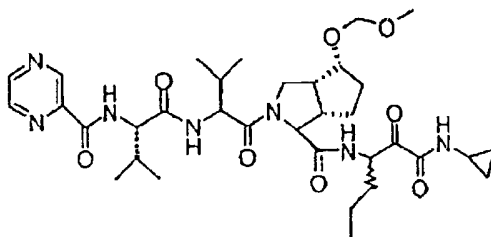


Príklad 15**Zlúčeniny BT - BU**

Postupom podľa príkladu 12 a použitím vhodných východiskových materiálov sa pripravujú nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny BT - BU:

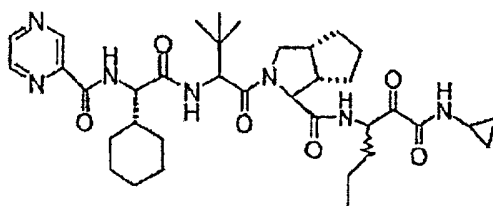
**Príklad 16****Zlúčenina BV**

Do dichlórmetánového roztoku (4,2 ml) zlúčeniny lxxvii (143 mg, 0,21 mmol) sa pridá činidlo DMP (165 mg, 0,39 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 2 hodín a reakcia sa zastaví prídávaním 10 % Na_2SO_3 (vodný) počas 20 minút. Výsledná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Organická vrstva sa premýva soľným roztokom, suší sa nad MgSO_4 a koncentruje sa na žltý olej. Čistenie chromatografiou na silikagéli (5 % EtOH/EtOAc) poskytne 124 mg (79 %) zlúčeniny BV,

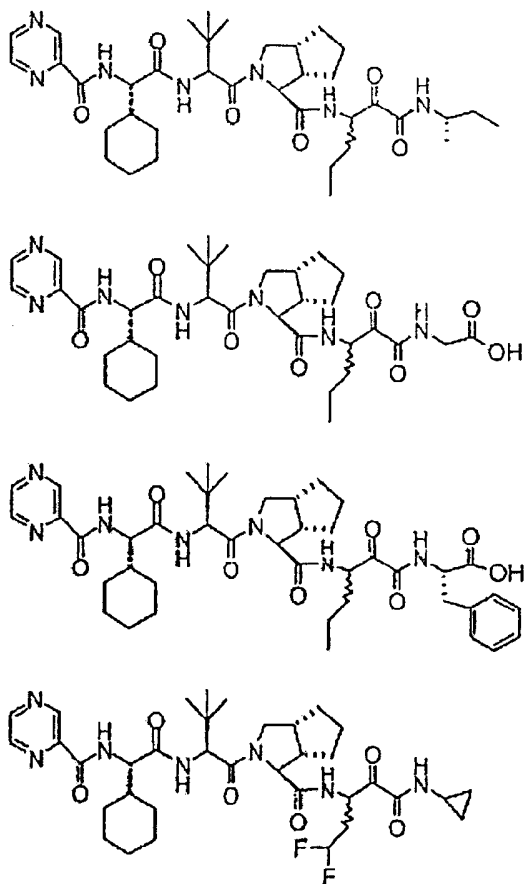


Príklad 17**Zlúčeniny BW - CA**

Do dichlórmétanového roztoku (20 ml) zlúčeniny lxxxix (420 mg, 0,62 mmol) sa pridá činidlo DMP (342 mg, 0,81 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia 1 hodinu a reakcia sa zastaví pridávaním 10 % Na₂SO₃ počas 20 minút. Výsledná zmes sa potom extrahuje pomocou EtOAc. Organická vrstva sa premýva soľným roztokom, suší a koncentruje vo vákuu. Výsledné rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (80 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 208 mg (50 %) zlúčeniny BW,



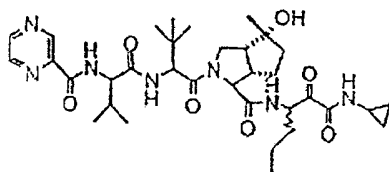
Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov, sa pripraví nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny BX - CA:



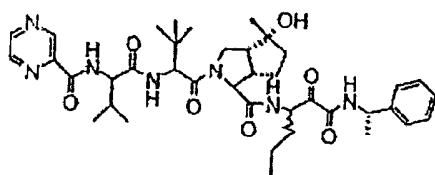
Príklad 18

Zlúčeniny CB - CC

Do dichlórmetánového roztoku (6,5 ml) zlúčeniny lxxxvii (200 mg, 0,3 mmol) sa pridá činidlo DMP (227 mg, 0,54 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 2 hodín a reakcia sa zastaví pridávaním 10 % Na_2SO_3 (vodný) počas 20 minút. Výsledná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Organická vrstva sa premýva soľným roztokom, suší sa nad MgSO_4 a koncentruje na žltý olej. Čistenie chromatografiou na silikagéli (5 % EtOH/EtOAc) poskytne 138 mg (70 %) zlúčeniny CV,



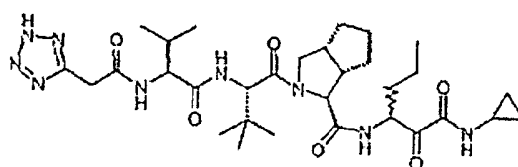
Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov, sa pripraví nasledujúca zlúčenina CC:



Príklad 19

Zlúčenina CD

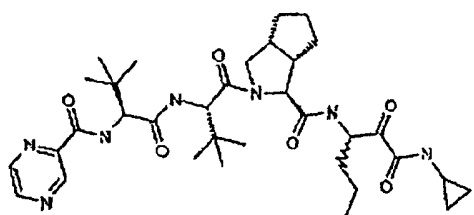
Zlúčenina lxxxxviii (40 mg, 0,05 mmol) sa vyberie v TFA (3 ml). Roztok sa mieša dve noci a koncentruje. Rezíduum sa čistí HPLC s obrátenými fázami kvôli získaniu 25 mg (74 %) zlúčeniny CD,



Príklad 20

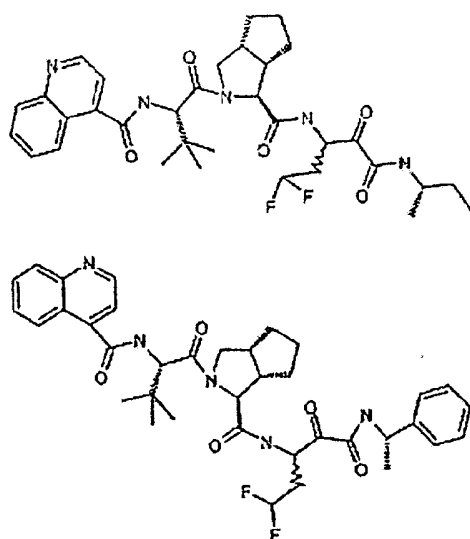
Zlúčenina CE

Postupom podľa príkladu 17 a použitím vhodných východiskových materiálov sa pripraví nasledujúca zlúčenina CE:

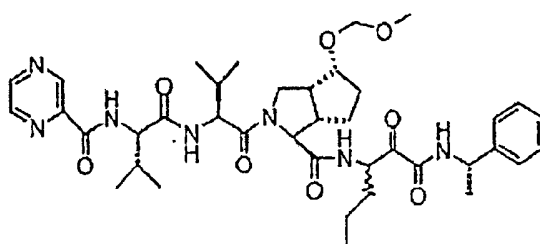


Príklad 21**Zlúčeniny CF - CG**

Postupom podľa príkladu 14 a použitím vhodných východiskových materiálov sa pripraví nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny CF - CG:

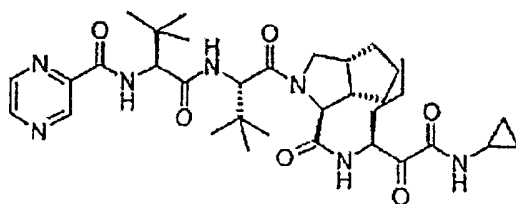
**Príklad 22****Zlúčenina CH**

Postupom podľa príkladu 16 a použitím vhodných východiskových materiálov sa pripraví nasledujúca zlúčenina CH:

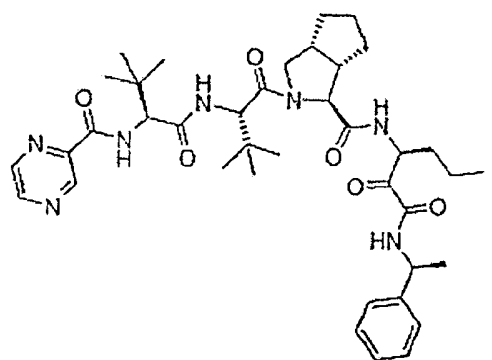


Príklad 23**Zlúčeniny CI - CM**

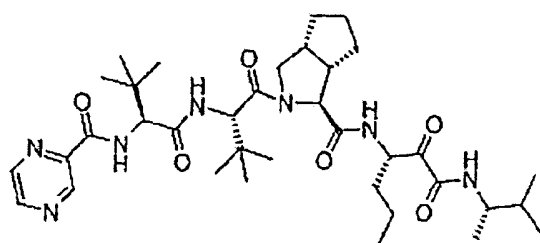
Zlúčenina cxi (490 mg, 0,75 mmol) sa rozpustí v DCM (6 ml), do tohto roztoku sa pridá činidlo DMP (380 mg, 0,9 mmol) a mieša sa 1 hodinu. Reakcia sa zastaví pridávaním 10 % Na₂SO₃ roztoku a potom sa organická fáza premýva nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa výsledné rezíduum chromatograficky čistí zmesou 70 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny CI (325 mg, 66,4 %).



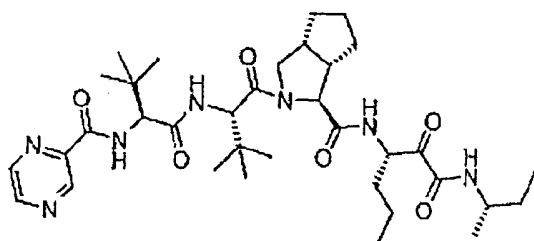
Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom na prípravu vyššie uvedenej zlúčeniny a spôsobmi vzťahujúcimi sa k príprave ich medziproduktov, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov sa pripraví nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny CJ - CM:



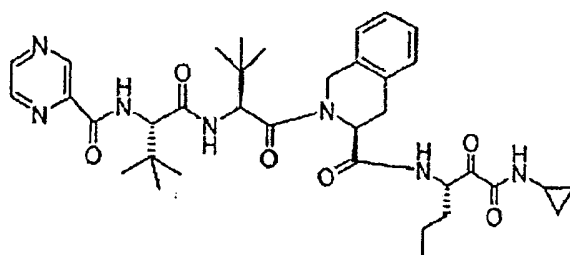
;



;

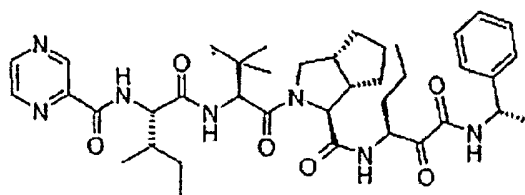


;

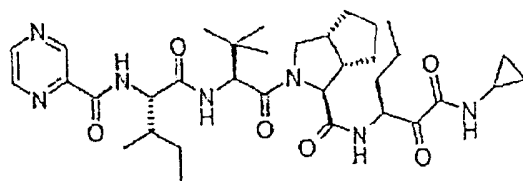


Príklad 24**Zlúčenina CN**

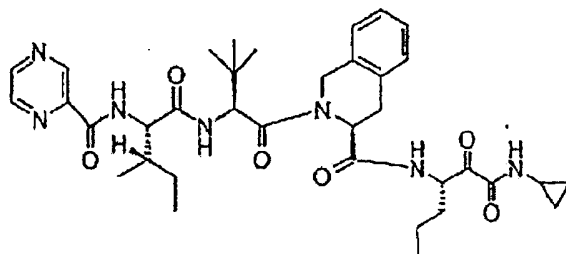
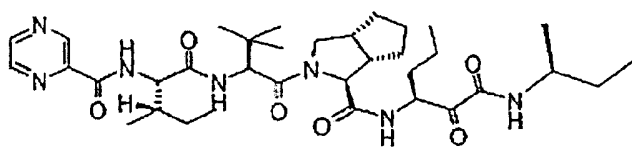
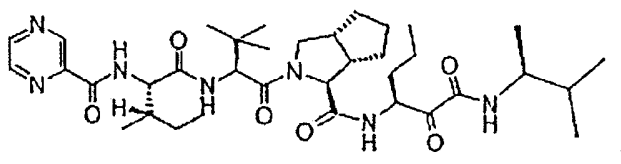
Do DCM/THF roztoku (3 ml/3 ml) zlúčeniny cxviii (335 mg, 0,46 mmol) sa pridá činidlo DMP (300 mg, 0,69 mmol). Reakčná zmes sa mieša za teploty okolia počas 2 hodín a reakcia sa zastaví pridávaním 10 % Na₂SO₃ (vodný) počas 20 minút. Výsledná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Organická fáza sa premýva soľným roztokom, suší sa nad MgSO₄ a koncentruje kvôli získaniu žltého oleja. Čistenie chromatografiou na silikagéli (80 % EtOAc/hexán) poskytne zlúčeninu CN (220 mg, 67 %).

**Príklad 25****Zlúčenina CO - CR**

Do DCM/THF roztoku (1,5 ml/1,5 ml) zlúčeniny cxix (164 mg, 0,25 mmol) sa pridá činidlo DMP (159 mg, 0,38 mmol). Reakčná zmes sa mieša za teploty okolia počas 2 hodín a reakcia sa zastaví pridávaním 10 % Na₂SO₃ (vodný) počas 20 minút. Výsledná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Organická fáza sa premýva soľným roztokom, suší sa nad MgSO₄ a koncentruje na žltý olej. Čistenie chromatografiou na silikagéli (70 % EtOAc/hexán) poskytne zlúčeninu CO (100 mg, 61 %).



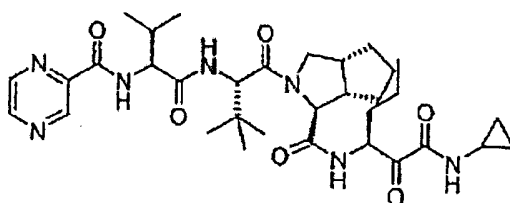
Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom na prípravu vyššie uvedenej zlúčeniny a spôsobmi vzťahujúcimi sa k príprave ich medziproduktov, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov sa pripravujú nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny CP - CR:



Príklad 26

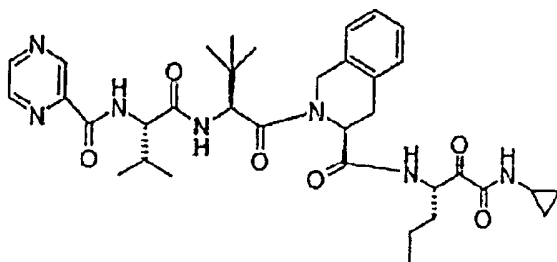
Zlúčeniny CS - CT

Zlúčenina cxx sa rozpustí v DCM (3 ml), do roztoku sa pridá činidlo DMP (180 mg, 0,41 mmol) a potom mieša 1 hodinu. Reakcia sa zastaví pridaním 10 % Na_2SO_3 a potom sa organická fáza premýva nasýteným NaHCO_3 a soľným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa rezíduum chromatograficky čistí pomocou 100 % EtOAc kvôli získaniu zlúčeniny CS (95 mg, 43,7 %).



Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom na prípravu vyššie uvedenej zlúčeniny a spôsobmi vzťahujúcimi sa k príprave ich medziproduktov, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov sa pripraví nasledujúca zlúčenina CT:

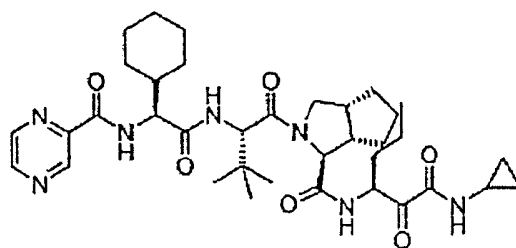
146



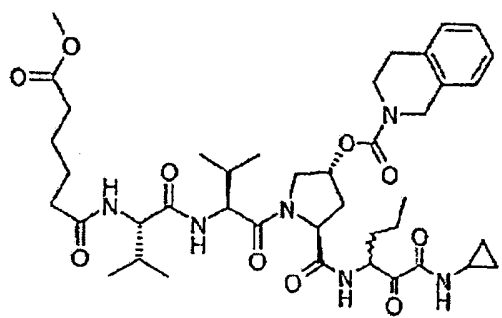
Príklad 27

Zlúčeniny CU, EI, EK - EM, EO - EZ a FA - FG

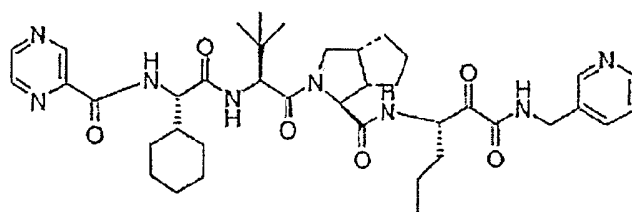
Zlúčenina cxxviii (356 mg, 0,52 mmol) sa rozpustí v DCM (5 ml), do tohto roztoku sa pridá činidlo DMP (270 mg, 0,63 mmol) a mieša 1 hodinu. Reakcia sa zastaví pridaním 10 % Na_2SO_3 a potom sa organická fáza separuje a premýva nasýteným NaHCO_3 a soľným roztokom. Po koncentrácii organického rozpúšťadla sa rezíduum chromatograficky čistí pomocou 100 % EtOAc kvôli získaniu zlúčeniny CU (200 mg, 56,3 %). Teplota topenia 225 - 235 °C.



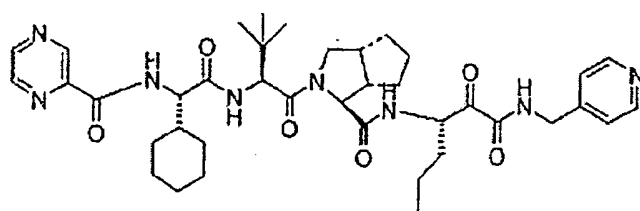
Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom na prípravu vyššie uvedenej zlúčeniny a spôsobmi vzťahujúcimi sa k príprave ich medziproduktov, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov sa pripravujú nasledujúce po sebe idúce zlúčeniny EI, EK - EM, EO - EZ a FA - FH:



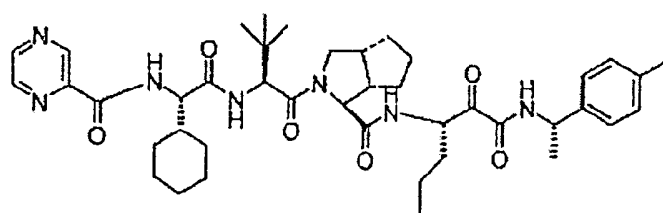
EL



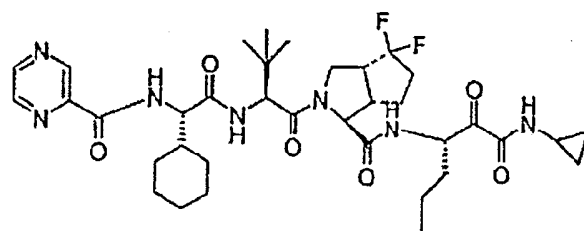
EK,



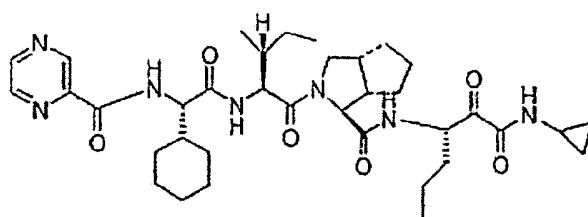
EL,



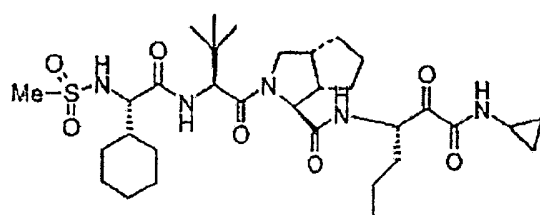
EM,



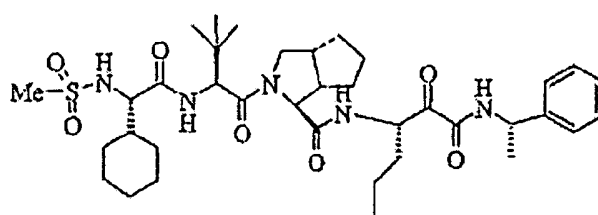
EO,



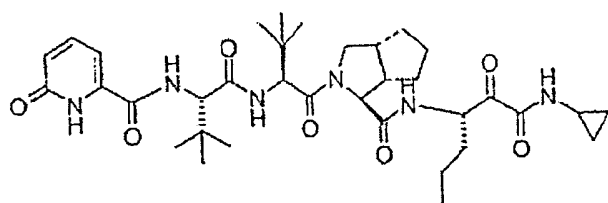
EP,



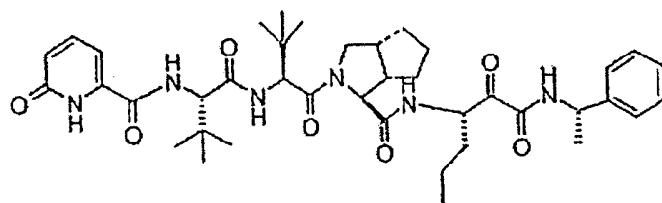
EQ,



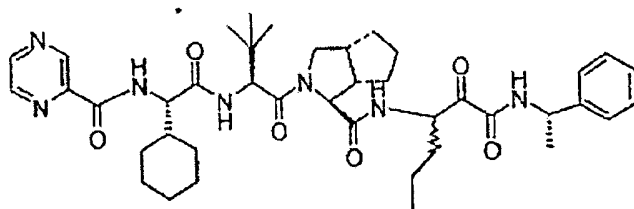
ER,



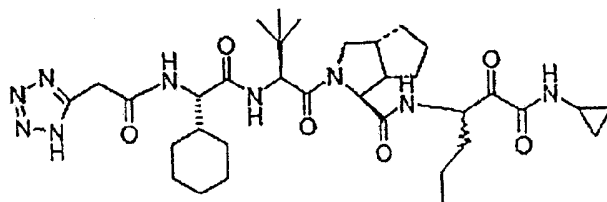
ES,



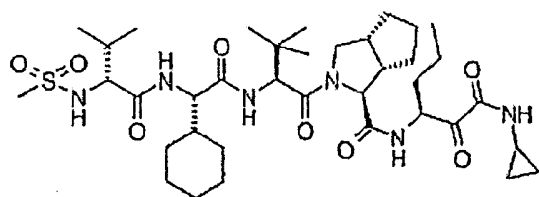
ET,



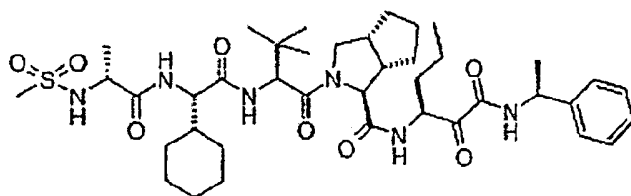
EU,



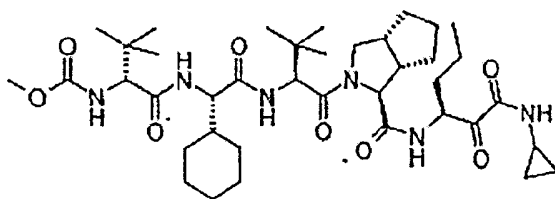
EV,



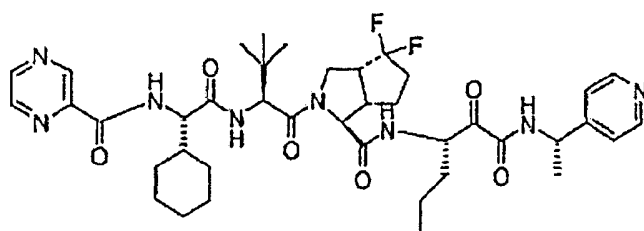
EW,



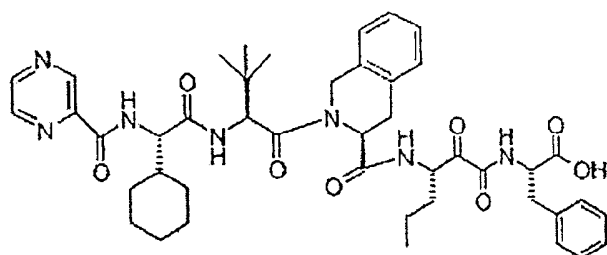
EX,



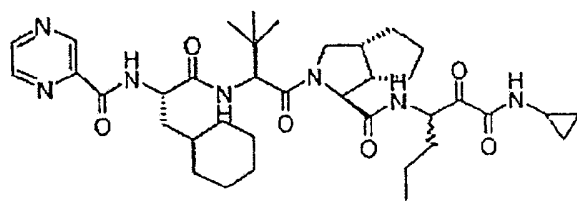
EY,



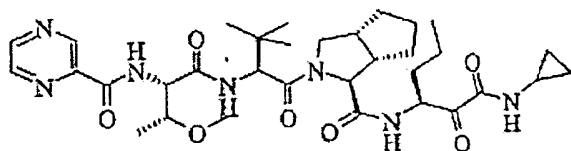
EZ,



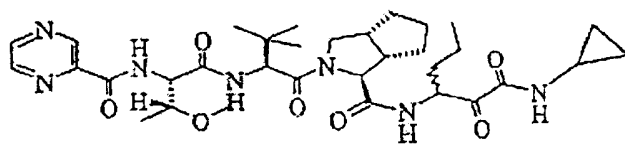
FA,



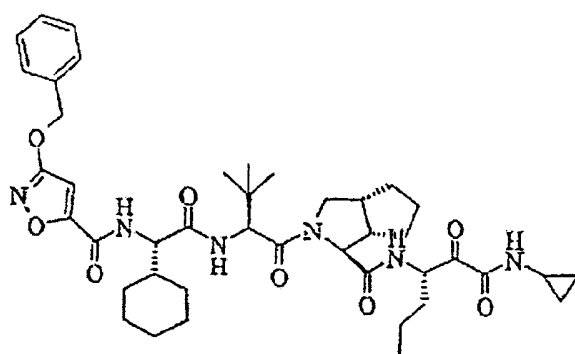
FB,



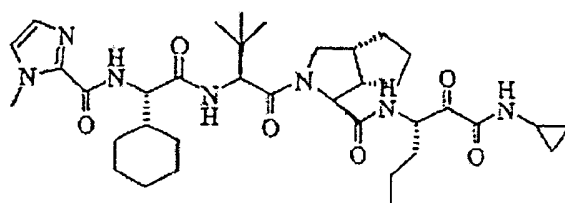
FC,



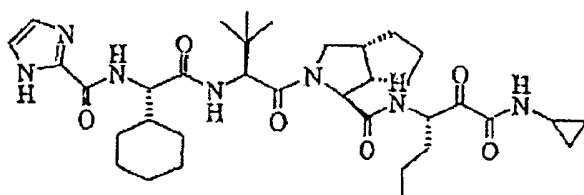
FD,



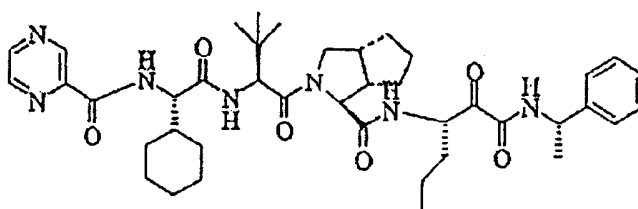
FE.



FF,



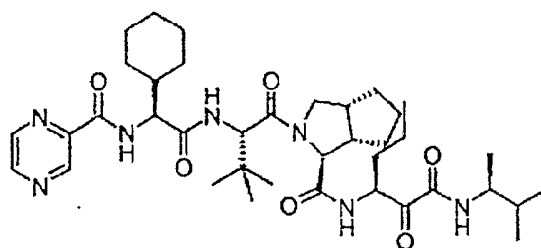
FG, and



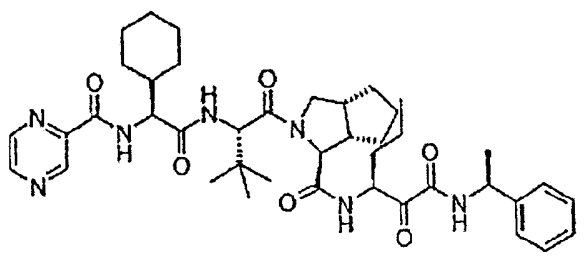
FH.

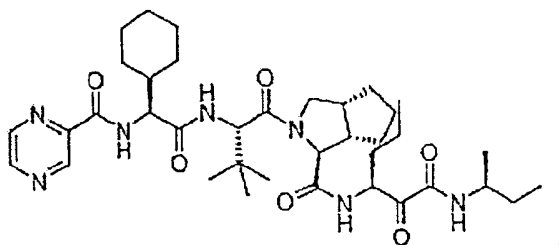
Príklad 28**Zlúčeniny CV - DC**

Zlúčenina cxxx (330 mg, 0,46 mmol) sa rozpustí v DCM (5 ml), do tohto roztoku sa pridá činidlo DMP (240 mg, 0,56 mmol) a mieša 1 hodinu. Reakcia sa zastaví pridaním 10 % Na_2SO_3 a organická fáza sa premýva nasýteným NaHCO_3 a soľným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa výsledné rezíduum chromatograficky čistí pomocou 100 % EtOAc kvôli získaniu zlúčeniny cxxx (280 mg, 85,9 %).

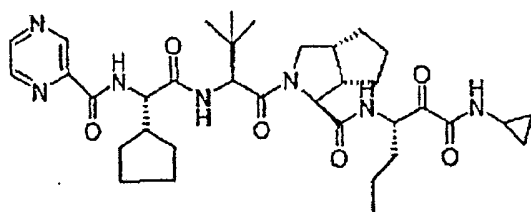


Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom na prípravu vyššie uvedenej zlúčeniny a spôsobmi vzťahujúcimi sa k príprave ich medziproduktov, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov sa pripravujú nasledujúce po sebe zlúčeniny CW - DC:

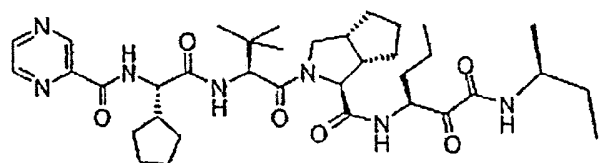




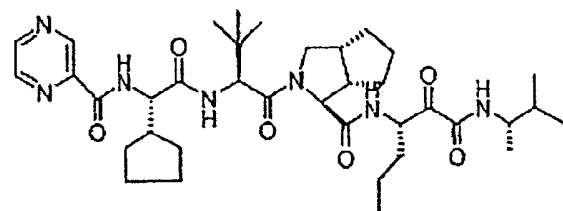
;



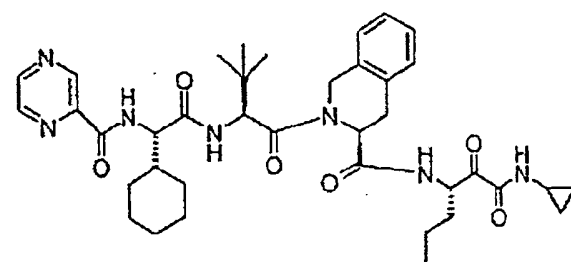
;



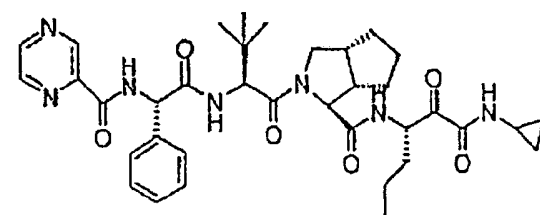
;



;



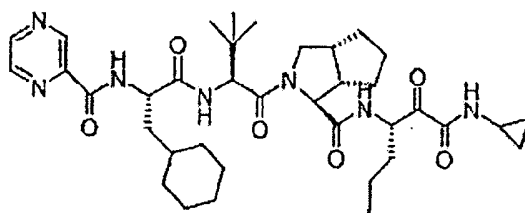
; and



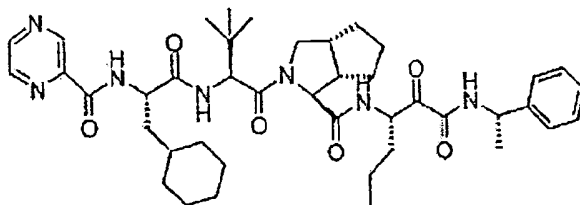
Príklad 29

Zlúčeniny DD - DE

Do DCM roztoku (6 ml) zlúčeniny cxxxviii (400 mg, 0,57 mmol) sa pridá činidlo DMP (362 mg, 0,85 mmol). Reakčná zmes sa mieša za teploty okolia počas 2 hodín a reakcia sa zastaví pridávaním 10 % Na₂SO₃ (vodný) počas 20 minút. Výsledná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Extrahovaná organická fáza sa premýva soľným roztokom, suší sa nad MgSO₄ a koncentruje kvôli získaniu žltého oleja. Čistenie silikagélom (70 % EtOAc/hexán) poskytne zlúčeninu DD (201 mg, 51 %).



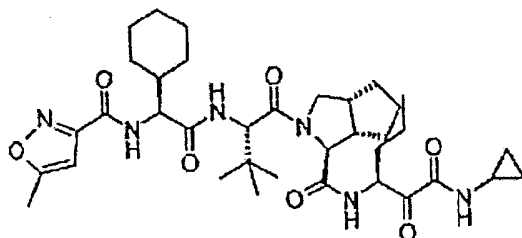
Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom na prípravu vyššie uvedenej zlúčeniny a spôsobmi vzťahujúcimi sa k príprave ich medziproduktov, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov sa pripraví nasledujúca zlúčenina DE:



Príklad 30

Zlúčenina DF

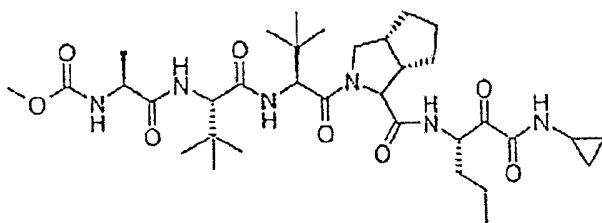
Zlúčenina cxxxxiii (165 mg, 0,24 mmol) sa rozpustí v DCM (5 ml), do roztoku sa pridá činidlo DMP (125 mg, 0,29 mmol) a mieša 1 hodinu. Reakcia sa zastaví pridaním 10 % Na_2SO_3 a organická fáza sa premýva nasýteným NaHCO_3 a solným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa výsledné rezíduum čistí chromatograficky zmesou 70 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny DF (108 mg, 65,6 %).



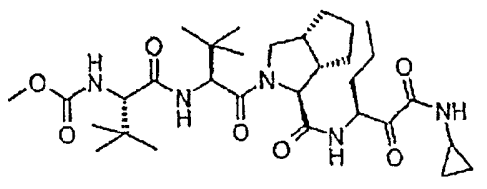
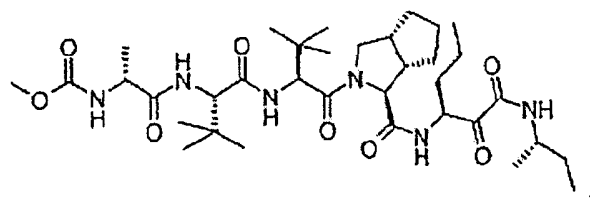
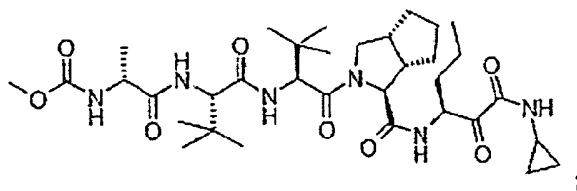
Príklad 31

Zlúčeniny DG - DJ

Do roztoku zlúčeniny cil (0,350 g, 0,516 mmol) v DCM (15 ml) ochladenej v ľadovom kúpeli sa pridá činidlo DMP (0,281 g, 0,671 mmol). Zmes sa mieša za teploty okolia počas 2 hodín, potom sa reakcia zastaví pomocou 10 % Na_2SO_3 roztoku a mieša počas 20 minút. Výsledná zmes sa extrahuje pomocou DCM (3 x 20 ml) a organický extrakt sa suší (MgSO_4). Po filtrácii pre odstránenie MgSO_4 sa filtrát koncentruje a čistí sa kolónovou chromatografiou (70 % etylacetát/hexán) kvôli získaniu konečnej zlúčeniny DG (0,265 g, 76 %) vo forme bielej pevnej látky.

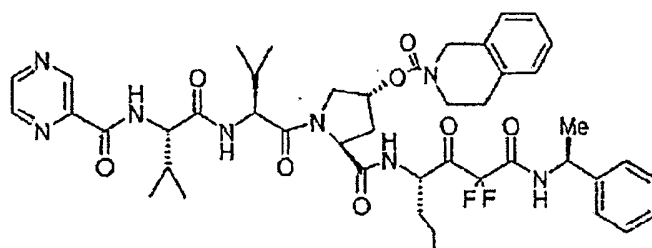


Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom na prípravu vyššie uvedenej zlúčeniny a spôsobmi vzťahujúcimi sa k príprave ich medziproduktov, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov sa pripravujú nasledujúce po sebe zlúčeniny DH - DJ:

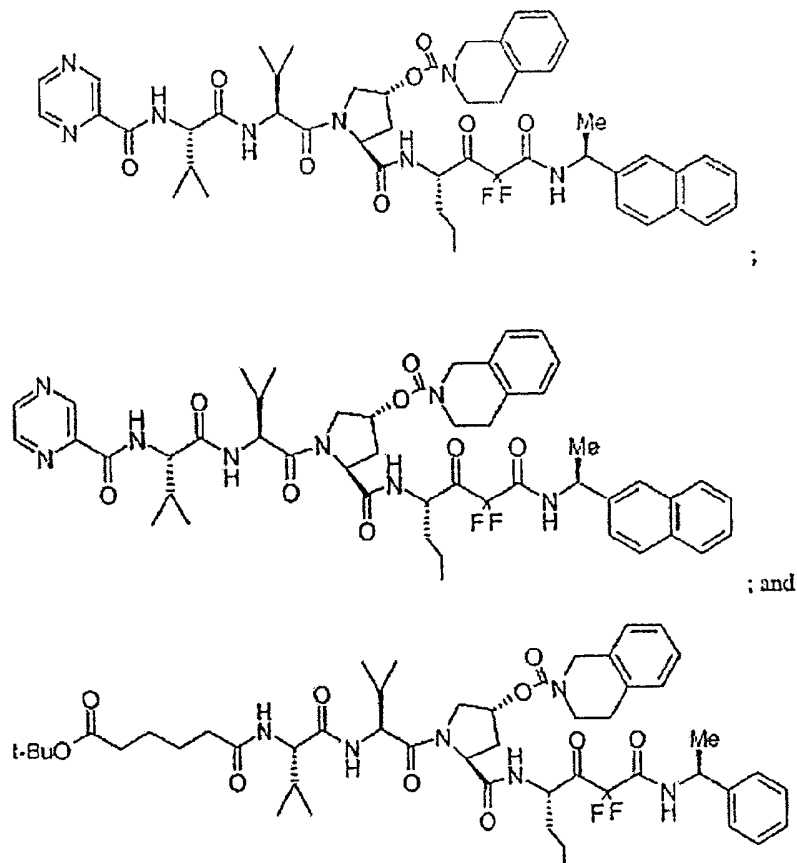


Príklad 32**Zlúčeniny DK - DN**

DCM roztok zlúčeniny clx (108 mg, 0,123 mmol) sa spracováva činidlom DMP (78 mg, 0,185 mmol). Po miešaní za teploty okolia 1 hodinu sa reakčná zmes zriedi EtOAc (50 ml) a potom sa reakcia zastaví pomocou 10 % Na₂SO₃. Po miešaní počas 30 minút sa organická fáza separuje a premýva NaHCO₃ a soľným roztokom. Organická fáza sa suší a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (80 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny DK (84 mg, 78 %).



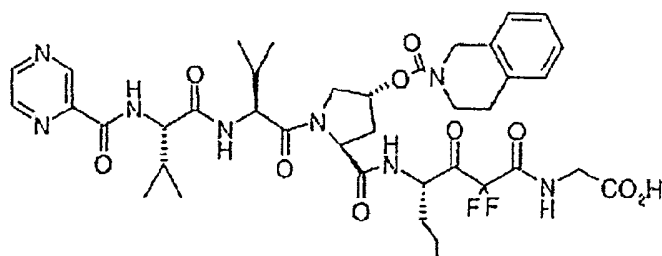
Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom na prípravu vyššie uvedenej zlúčeniny a spôsobmi vzťahujúcimi sa k príprave ich medziproduktov, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov sa pripravujú nasledujúce zlúčeniny DL - DN:



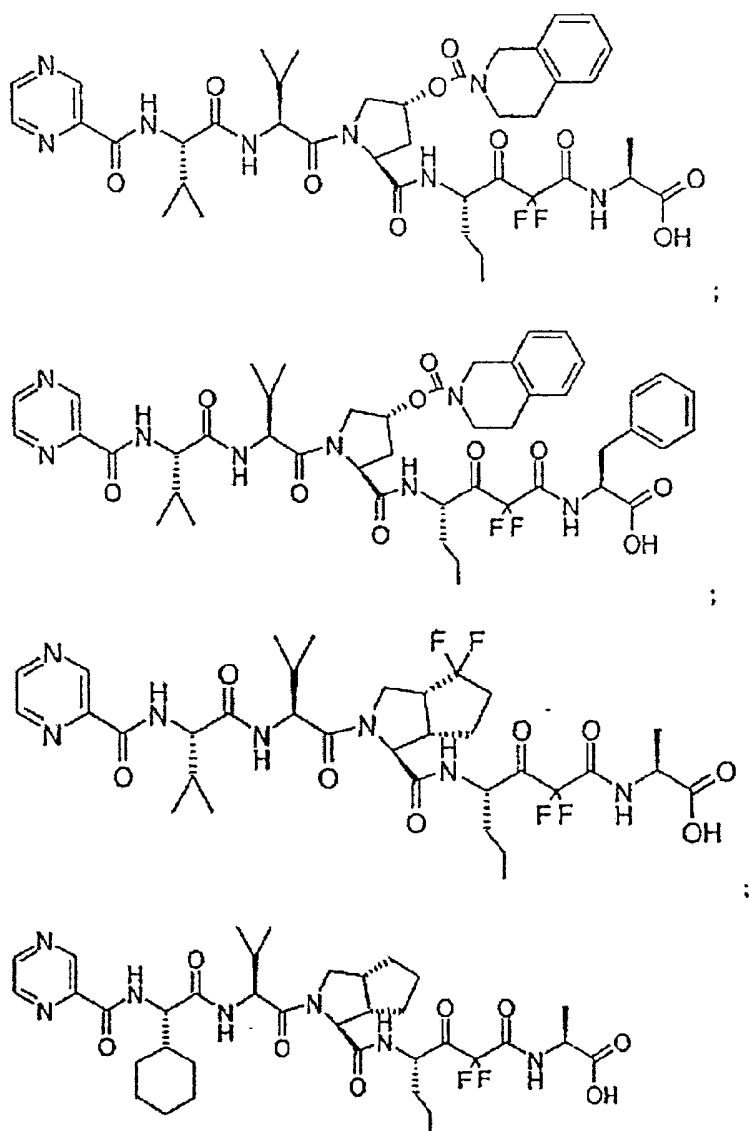
Príklad 33

Zlúčeniny DO - DS

EtOH roztok (10 ml) zlúčeniny clxii (174 mg, 0,189 mmol) sa hydrogenuje použitím Pd/C (30 % ekv., 60 mg, 10 % obsah paládia) počas 2,5 hodiny. Katalyzátor sa potom odfiltruje. Výsledný filtrát sa koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí semipreparatívnou chromatografiou s obrátenými fázami a lyofilizuje kvôli získaniu zlúčeniny DO so 70 % výťažkom.



Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom na prípravu vyššie uvedenej zlúčeniny a spôsobmi vzťahujúcimi sa k príprave ich medziproduktov, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov sa pripravujú nasledujúce po sebe zlúčeniny DP - DS:



Príklad 34

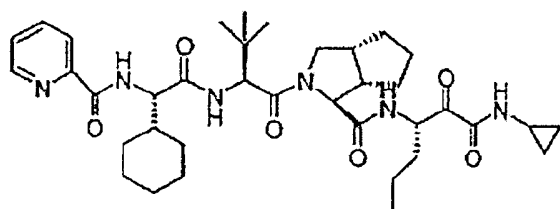
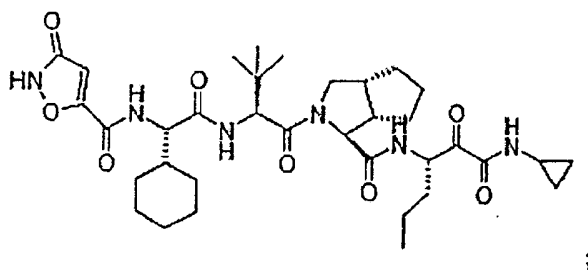
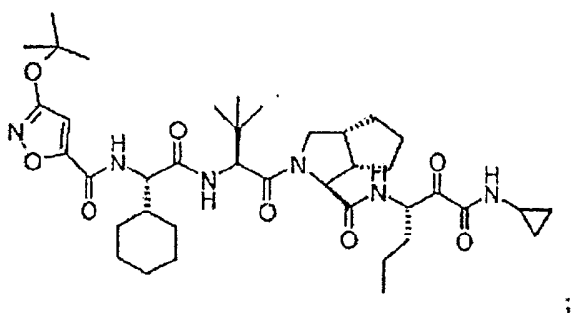
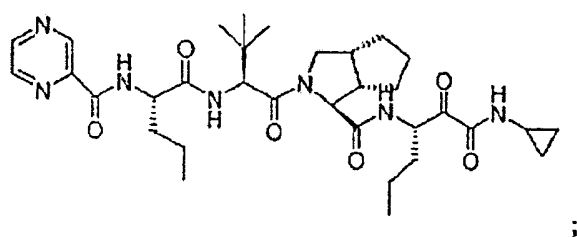
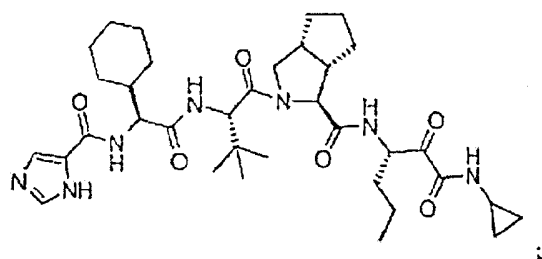
Zlúčenina CW

Zlúčenina clxiii (175 mg, 0,24 mmol) sa vyberie v DCM (3 ml), do tohto roztoku sa pridá činidlo DMP (120 mg, 0,28 mmol) a mieša 1 hodinu. Reakcia sa zastaví pridaním 10 % Na_2SO_3 a premýva sa nasýteným NaHCO_3 a soľným roztokom. Čistenie zmesou 70 % EtOAc poskytne zlúčeninu CW (134 mg, 75 %).

Príklad 35**Zlúčeniny CY a DT - DX**

Do DCM roztoku (15 ml) clxxii (290 mg, 0,43 mmol) sa pridá činidlo DMP (239 mg, 0,56 mmol). Reakčná zmes sa mieša za teploty okolia 1 hodinu a reakcia sa zastaví pridávaním 10 % Na_2SO_3 počas 20 minút. Výsledná zmes sa potom extrahuje pomocou EtOAc. Organická vrstva sa premýva solným roztokom, suší a koncentruje vo vákuu. Výsledné rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (8 - 100 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny CY (151 mg, 52 %).

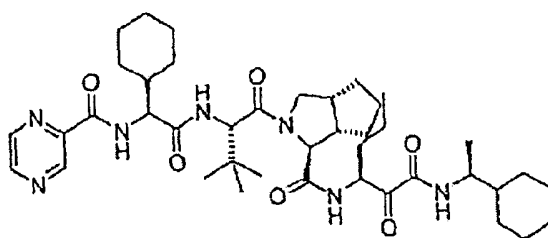
Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom na prípravu vyššie uvedenej zlúčeniny a spôsobmi vzťahujúcimi sa k príprave ich medziproduktov, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov sa pripravlia nasledujúce po sebe zlúčeniny DT - DX:



Príklad 36**Zlúčenina DY**

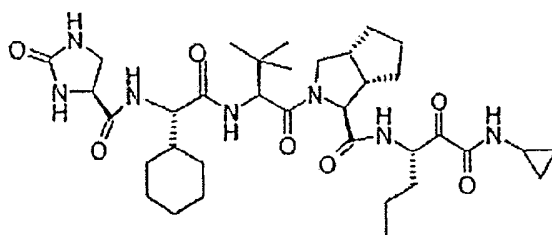
Zlúčenina lxxxv (1,17 mmol) sa vyberie v DCM (5 ml). Činidlo DMP (545 mg, 1,3 mmol) sa pridá do tohto roztoku a mieša 1 hodinu. Reakcia sa zastaví pridaním P-Na₂SO₃ (1,5 mmol/g živice) a miešaním jednu hodinu. Pridá sa P-TBD vychytávací živica* (2,5 mmol/g živice) a mieša 45 minút. Výsledná zmes sa filtruje a čistí sa pomocou 50 % EtOAc kvôli získaniu zlúčeniny DY (440 mg, 50,2 % v dvoch krokoch).

* Referencie pre P-TBD vychytávaciu živicu: J. Parlow a kol., Tetrahedron, 55, 6785 - 6796 (1999).

**Príklad 37****Zlúčenina DZ**

Východiskový materiál, zlúčenina clxxxxi (94 mg, 0,14 mmol) sa rozpustí v zmesi THF (10 ml) a DCM (20 ml). Potom sa pridá činidlo DMP (118 mg, 0,28 mmol). Po miešaní za teploty okolia počas 2 hodín sa reakčná zmes odvedie do oddeľovacieho lievika obsahujúceho Dri Solv THF (120 ml). Reakčná zmes sa premýva 10 % Na₂SO₃ (50 ml) a potom soľným roztokom (75 ml). Organická vrstva sa potom separuje, suší sa nad MgSO₄ a rozpúšťadlo sa odstráni za

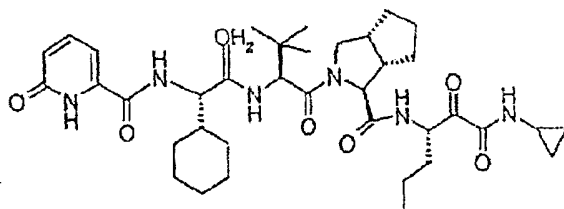
zníženého tlaku. Po chromatografii (silikagél: vymývanie zmesou 50 % Dri Solv THF/EtOAc a potom 4 % MeOH/THF) sa frakcie skúmajú pomocou MS. Vhodné frakcie sa lyofilizujú kvôli získaniu zlúčeniny DZ (38,8 mg, 41 %).



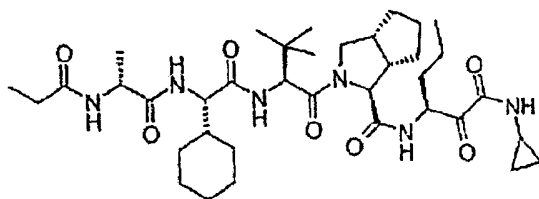
Príklad 38

Zlúčeniny EA - EB

Východisková zlúčenina clxxxxv (185 mg, 0,26 mmol) sa rozpustí v THF (20 ml). Potom sa pridá činidlo DMP (219 mg, 0,52 mmol). Po miešaní za teploty okolia 1 hodinu TLC ukazuje úplnú premenu na ketón (5 % MeOH/THF). Reakčná zmes sa odvedie do oddeľovacieho lievika obsahujúceho Dri Solv THF (120 ml). Reakčná zmes sa premýva 10 % Na₂SO₃ (50 ml) a potom soľným roztokom (75 ml). Organická vrstva sa potom separuje, suší sa nad MgSO₄ a rozpúšťadlo sa odstráni za zníženého tlaku kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou (silikagél: vymývanie zmesou 50 % Dri Solv THF/EtOAc a potom 4 % MeOH/THF) a frakcie sa kontrolujú UV a MS. Vhodné frakcie sa lyofilizujú kvôli získaniu zlúčeniny EA (159 mg, 88 %).



Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom na prípravu vyššie uvedenej zlúčeniny a spôsobmi vzťahujúcimi sa k príprave ich medziproduktov, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov sa pripraví nasledujúca zlúčenina EB:

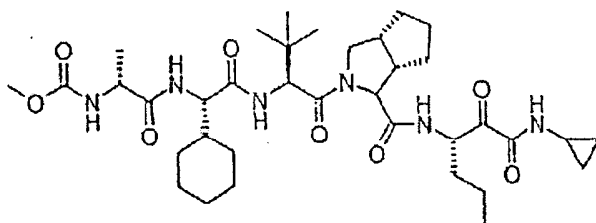


Príklad 39

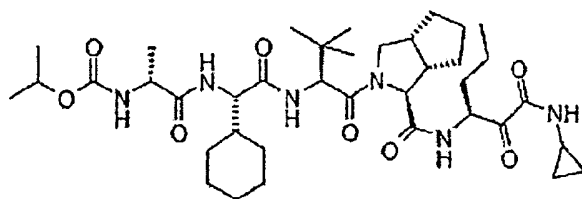
Zlúčeniny EC - ED

Do roztoku zlúčeniny clxxxxviii (0,341 g, 0,503 mmol) v DCM (15 ml) ochladeného v ľadovom kúpeli sa pridá činidlo DMP (0,277 g, 0,654 mmol). Zmes sa mieša za teploty okolia počas 2 hodín, potom sa reakcia zastaví pomocou 10 % Na_2SO_3 roztoku a mieša počas 20 minút. Výsledná zmes sa extrahuje pomocou DCM (3 x 20 ml) a organický extrakt sa suší (MgSO_4). Po filtrácii kvôli odstráneniu MgSO_4 sa filtrát koncentruje a čistí sa kolónovou

chromatografiou (70 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny EC (0,183 g, 54 %) vo forme bielej pevnej látky.



Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom na prípravu vyššie uvedenej zlúčeniny a spôsobmi vzťahujúcimi sa k príprave ich medziproduktov, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov sa pripraví nasledujúca zlúčenina ED:

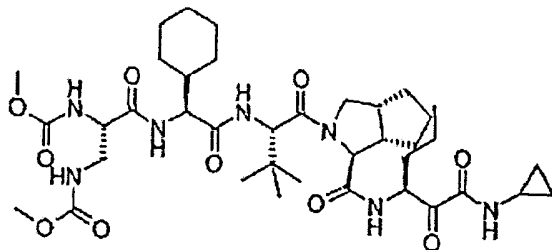


Príklad 40

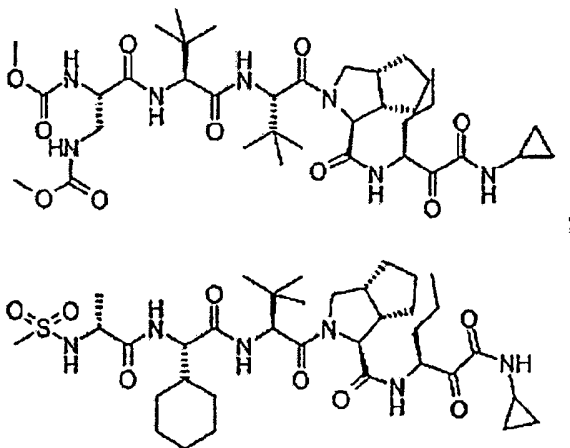
Zlúčeniny BE - EG

Zlúčenina ccii (290 mg, 0,37 mmol) sa vyberie v DCM (5 ml). Činidlo DMP (175 mg, 0,41 mmol) sa pridá do tohto roztoku a mieša sa 1 hodinu. Reakcia sa zastaví pridaním P-Na₂SO₃ (1,5 mmol/g živica) a mieša 1 hodinu.

Reakcia sa zastaví a činidlo DMP sa vychytáva pomocou P-TBD (2,5 mmol/g živice) a mieša 1 hodinu. Výsledná zmes sa filtruje, preplachuje DCM pred koncentráciou na rezíduum. Výsledné rezíduum sa čistí pomocou 50 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny EE (440 mg, 28 %).

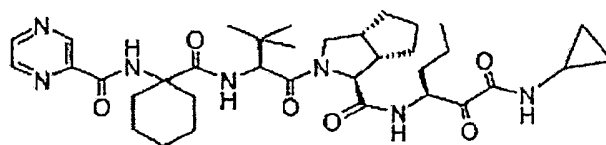


Postupujúc vyššie uvedeným spôsobom na prípravu vyššie uvedenej zlúčeniny a spôsobmi vzťahujúcimi sa k príprave ich medziproduktov, ale s použitím zodpovedajúcich východiskových materiálov sa pripravujú nasledujúce zlúčeniny EF - EG:

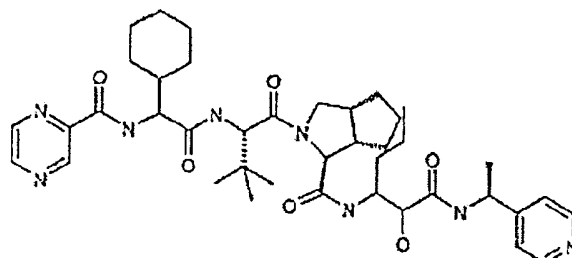


Príklad 41**Zlúčenina EH**

Do DCM roztoku (3 ml) zlúčeniny cciii (140 mg, 0,2 mmol) sa pridá činidlo DMP (133 mg, 0,3 mol). Reakčná zmes sa mieša za teploty okolia počas 2 hodín a reakcia sa zastaví pridávaním 10 % Na₂SO₃ (vodný) počas 20 minút. Výsledná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Organická vrstva sa premýva soľným roztokom, suší sa nad MgSO₄, koncentruje na žltý olej, čistí sa silikagélom (70 % EtOAc/hexán) a potom lyofilizuje kvôli získaniu zlúčeniny EH (50 mg, 38 %).

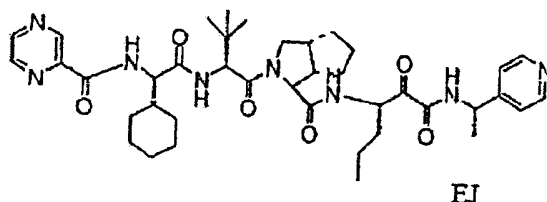
**Príklad 42****Zlúčenina EJ**

Zlúčenina ixxxiii (520 mg, 1 mmol) sa vyberie v DCM (5 ml), do vyššie uvedeného roztoku sa pridá PyBOP (624 mg, 1,2 mmol) a mieša sa počas 5 minút. Zlúčenina cdviii (300 mg, 1,2 mmol) v THF (5 ml) sa pridá po kvapkách do tohto roztoku, nasleduje DIPEA (0,22 ml, 1,2 mmol). Reakčná zmes sa mieša za teploty okolia cez noc pod dusíkovou atmosférou. V tomto okamihu sa reakčná zmes zriedi EtOAc, premýva nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Organická fáza sa suší nad MgSO₄, filtruje a koncentruje kvôli získaniu surového medziproduktu cdix.



cdix

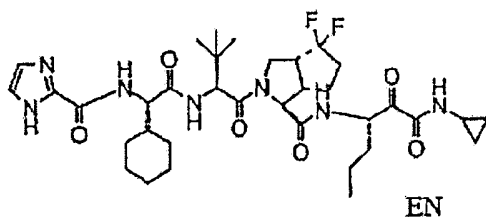
Tento medziprodukt cdix (~ 1 mmol) sa vyberie v DCM (10 ml). Do tohto roztoku sa pridá Dess - Martinov periodinan (466 mg, 1,1 mmol). Po miešaní 1 hodinu za teploty okolia sa reakcia zastaví pomocou polymerizačne viazaného Na_2SO_3 (740 mg, 1,5 mmol DMP/g živica) a mieša 45 minút. Potom sa reakčná zmes vychytáva polymerizačne viazanou TBD živcou (440 mg, 2,5 mmol DMP/g živice). Výsledná zmes sa mieša počas 45 minút a potom filtruje. Čistenie sa dosiahne v zmesi 5 % EtOH/EtOAc kvôli získaniu zlúčeniny EJ (245 mg, 32 % v dvoch krokoch). Referencie z literatúry na záverečné spracovanie možno zistiť v Tetrahedron 55 (1999), 6785 - 6796.



EJ

Příklad 43**Zlúčenina EN**

Medziproduktová zlúčenina cdvii (415 mg, 0,59 mmol) sa vyberie v DCM (10 ml) a THF (10 ml). Pridá sa t-BuOH (300 μ l), nasledovaný Dess-Martinovým periodinanom (750 mg, 1,77 mmol). Reakčná zmes sa mieša 50 minút a potom sa reakcia zastaví pomocou P-Na₂SO₃ (1,5 mmol DMP/g živice). Po miešaní počas 20 minút za teploty okolia sa reakčná zmes vychytáva pomocou P-TBD (2,5 mmol DMP/g živice). Po miešaní 1 hodinu sa výsledná zmes filtruje a koncentruje. Produkt sa čistí chromatografiou na silikagéli (50 % - 70 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny EN (220 mg, 53 %).



Pre nasledujúce zlúčeniny, ako je uvedené v tabuľke 1, sa získali hmotnostné spektrá (M):

Tabuľka 1

Príklad	Nájdená hmotnosť
A	733,3
B	747,2
C	657,2
D	769,4
E	733,4
F	625,4
G	639,3
H	661,4
I	643,4
J	707,3
K	641,3
L	689,3
M	639,3
N	639,4
O	731,4
P	687,4
Q	653,4
R	701,4
S	639,3
T	747,1
U	655,4
V	653,4
W	703,4
X	661,3
Y	647,3
Z	663,3
AA	667,4

Príklad	Nájdená hmotnosť
AB	711,4
AC	725,4
AD	647,3
AE	779,4
AF	689,3
AG	671,4
AK	806,4
AH	687,5
AI	735,4
AJ	736,5
AM	870,4
AN	813,3
AP	724,4
AQ	653,4
AR	628,2
AW	642,2
AX	614,2
AY	628,3
BD	570,3
BE	520,2
BF	534,3
BG	584,3
BU	890,3
BV	685,4
BW	679,3
BX	695,3
BY	697,3
BZ	787,4
CA	701,3
CB	669,4

Príklad	Nájdená hmotnosť
CC	733,5
CD	643,3
CE	653,5
CH	749,4
CI	653,3
CJ	717,5
CK	683,4
CL	669,3
CM	675,2
CN	717,2
CO	653,3
CP	683,3
CQ	669,3
CR	675,2
CT	661,8
CS	639,3
CU	679,2
CV	709,3
CW	743,3
CX	695,3
CY	665,2
CZ	681,3
DA	695,3
DB	701,2
DC	673,3
DD	693,3
DE	757,4
DF	682,3
DG	676,3
DH	676,2

Príklad	Nájdená hmotnosť
DI	692,5
DJ	605,2
DK	874,4
DL	924,5
DM	924,2
DN	952,7
DO	830,0
DP	842,5
DT	667,4
DU	639,2
DV	740,3
DW	684,2
DX	678,5
DY	749,3
DZ	685,3
EA	649,3
EB	700,3
EC	702,3
ED	730,3
EE	775,3
EF	749,3
EG	722,3
EH	665,2
EI	796,4
EJ	744,3
EK	730,5
EL	730,5
EM	757,3
EN	703,5
EO	715,5

Príklad	Nájdená hmotnosť
EP	679,2
EQ	651,3
ER	715,3
ES	668,5
ET	732,5
EU	743,3
EV	683,3
EW	750,4
EX	786,4
EY	744,5
EZ	780,4
FB	693,4
FC	655,3
FD	655,3
FE	774,4
FF	681,5
FG	667,5

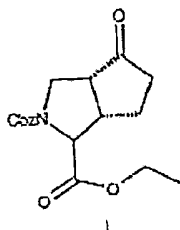
Hmotnostná spektroskopia s vysokým rozlíšením (HRMS) poskytla nasledujúce hodnoty pre získané zlúčeniny uvedené v tabuľke 2.

Tabuľka 2

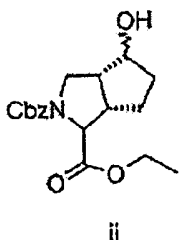
Príklad	Molekulárny vzorec (M+1)	Vypočítané MS (M+1)	Nájdená hmotnosť (M+1)
L	$C_{37}H_{52}N_7O_6$	690,3979	690,3986
M	$C_{33}H_{50}N_7O_6$	640,3822	640,3822
Z	$C_{32}H_{48}F_2N_7O_6$	664,3634	664,3627
AB	$C_{36}H_{48}F_2N_7O_6$	712,3634	712,3649
CE	$C_{34}H_{52}N_7O_6$	654,3979	654,3967
EN	$C_{35}H_{52}N_7O_6F_2$	704,3947	704,3945
EK	$C_{37}H_{63}N_6O_8S$	751,4428	750,4350 (M)
EC	$C_{36}H_{59}N_6O_8$	703,4395	703,4382
CA	$C_{35}HSON_7O_6F_2$	702,3790	702,3801
EZ	$C_{40}H_{55}N_8O_6F_2$	781,4213	781,4196
EU	$C_{36}H_{52}N_7O_6F_2$	716,3947	716,3929
CY	$C_{35}H_{52}N_7IO_6$	666,3979	666,3966
BX	$C_{37}H_{58}N_7O_6$	696,4448	696,4432
S	$C_{33}H_{50}N_7O_6$	640,3823	640,3831
BW	$C_{36}H_{54}N_7O_6$	680,4136	680,4126
CU	$C_{36}H_{54}N_7O_6$	680,4136	680,4128
EJ	$C_{40}H_{57}N_8O_6$	745,4401	745,4417
EM	$C_{35}H_{54}N_7O_6$	668,4136	668,4139
žiaden	$C_{41}H_{58}N_7O_6$	744,4448	744,4691

Príklad medziproduktu 1**Zlúčenina ii**

Do etanolového roztoku (40 ml) zlúčeniny i (8,1 g, 24,4 mmol) sa pridá $NaBH_4$



(924 mg, 24,4 mmol) za teploty $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Reakčná zmes sa mieša za tejto teploty počas 30 minút a potom sa reakcia zastaví pomocou AcOH (3 ml). Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc (250 ml) a premýva NaHCO_3 a soľným roztokom. Organická vrstva sa suší a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (50 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 7,85 g (97 %) zlúčeniny ii,

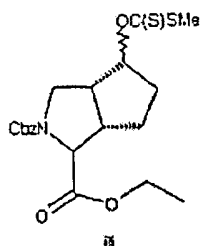


Príklad medziproduktu 2

Zlúčenina iii

Do THF roztoku (70 ml) zlúčeniny ii (4,48 g, 13,4 mmol) sa pridá za teploty $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ NaH (699 mg, 60 %, 17,42 mmol). Po miešaní za tejto teploty počas 40 minút sa pridá bezvodý MeI (1,25 ml, 20,1 mmol). Reakčná zmes sa mieša asi pri teplote okolia cez noc. V tomto okamihu sa reakcia opatrne zastaví nasýteným roztokom NH_4Cl za teploty $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Reakčná zmes sa extrahuje pomocou Et_2O a EtOAc. Organická vrstva sa premýva vodou, soľným roztokom

a suší nad Na_2SO_4 . Takto získaná organická vrstva sa koncentruje vo vákuu kvôli získaniu xantátovej zlúčeniny iii,

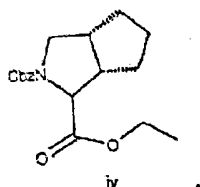


Príklad medziproduktu 3

Zlúčenina iv

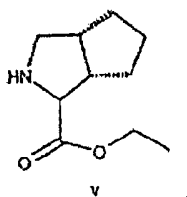
Xantátová zlúčenina iii (~ 13,4 mmol) sa rozpustí v toluéne (100 ml). Do tohto roztoku sa pridá AIBN (216 mg, 1,34 mmol). Výsledný roztok sa odplyní suchým dusíkom a potom sa spracováva $n\text{-Bu}_3\text{SnH}$ (5,4 ml, 20,1 mmol). Reakčná zmes sa zahrieva na teplotu 90 °C počas 3 hodín.

V tomto okamihu sa reakčná zmes ochladí na teplotu okolia a koncentruje vo vákuu. Výsledné rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (15 - 20 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 2,8 g (66 % celkovo zo zlúčeniny ii) zlúčeniny iv,

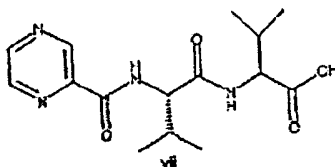


Príklad medziproduktu 4**Zlúčenina v**

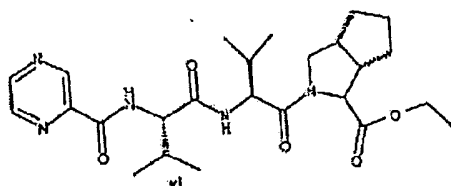
Do etanolového roztoku (21 ml) zlúčeniny iv (1 g, 3,15 mmol) sa pridá $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (655 mg, 20 %, 0,95 mmol) pod prúdom dusíka. Výsledná reakčná zmes sa vystaví štandardnej hydrogenácii (1,5 atm.). Po 5 hodinách sa zdroj vodíka odstráni a reakčná zmes sa filtruje. Filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu voľnej aminovej zlúčeniny v,

**Príklad medziproduktu 5****Zlúčenina vi**

Do DCM roztoku (10 ml) zlúčeniny vii (629 mg, 1,95 mmol)



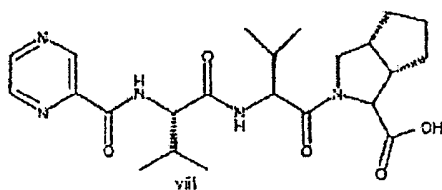
sa pridá za približne teploty okolia HOAt (265 mg, 1,95 mmol), nasledovaný 1 M DCC roztokom v DCM (1,95 ml, 1,95 mmol). Po miešaní počas 30 minút sa pridá DCM roztok (3 ml) zlúčeniny v (1,5 mmol) do vyššie uvedenej HOAt-aktivovanej kyseliny. Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. V tomto okamihu sa reakčná zmes filtruje cez Celit. Filtráty sa zriedia pomocou EtOAc (75 ml) a premývajú vodou a solným roztokom. Organická vrstva sa suší a koncentruje vo vákuu. Výsledné rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (70 - 80 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 620 mg (85 %) zlúčeniny vi,



Príklad medziproduktu 6

Zlúčenina viii

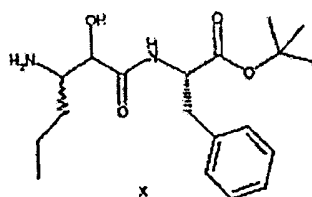
Do etanolového roztoku (10 ml) zlúčeniny vi (615 mg, 1,26 mmol) sa pridá 2 N NaOH vodný roztok (1,26 ml, 2,52 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc približne pri teplote okolia a potom okyslí na pH 3 použitím kyslých živíc Dowex. Pevné látky sa odfiltrujú a filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa znova rozpustí v zmesi 1 : 1 CH₃CN/H₂O. Tento roztok sa vystaví lyofilizácii kvôli získaniu 495 mg (85 %) zlúčeniny viii,



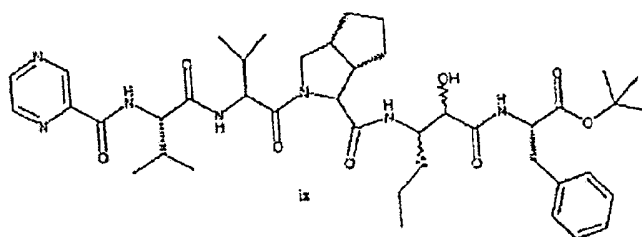
Príklad medziproduktu 7

Zlúčenina ix

Do DCM roztoku (10 ml) zlúčeniny viii (230 mg, 0,5 mmol) sa pridá PyBop (417 mg, 0,8 mmol). Reakčná zmes sa mieša



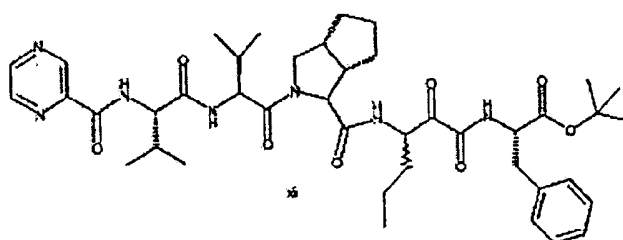
približne pri teplote okolia počas 30 minút. Do tohto roztoku sa potom pridá THF roztok (5,25 ml) zlúčeniny x (263 mg, 0,75 mmol), nasledovaný DIPEA (0,174 ml, 1 mmol). Reakčná zmes sa mieša asi pri teplote okolia cez noc a potom sa reakcia zastaví vodou (30 ml) počas 30 minút. Reakčná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc (100 ml). Organická vrstva sa premýva soľným roztokom a suší a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (5 % EtOH/EtOAc) kvôli získaniu ~ 400 mg (100 %) zlúčeniny ix,



Príklad medziproduktu 8

Zlúčenina xi

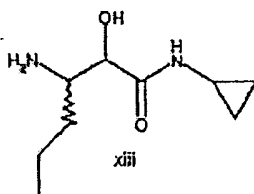
Do DCM roztoku (10 ml) zlúčeniny ix (396 mg, 0,5 mmol) sa pridá činidlo DMP (278 mg, 0,65 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia 1 hodinu a potom sa reakcia zastaví pomocou 10 % Na_2SO_3 počas 30 minút. Reakčná zmes sa potom extrahuje pomocou EtOAc (75 ml) a premýva soľným roztokom. Organická vrstva sa suší a koncentruje vo vákuu. Výsledné rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (70 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 320 mg (81 %) zlúčeniny xi,



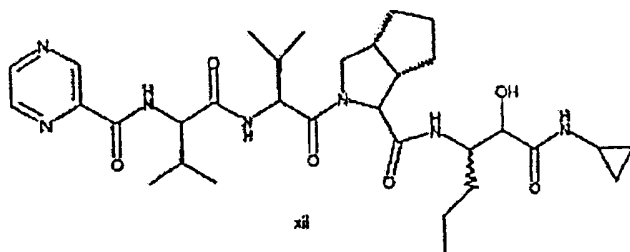
Príklad medziproduktu 9

Zlúčenina xii

Do DCM roztoku (10 ml) zlúčeniny viii (230 mg, 0,5 mmol) sa pridá PyBop (417 mg, 0,8 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 30 minút. Do tohto roztoku sa potom pridá THF roztok (3,5 ml) zlúčeniny xiii



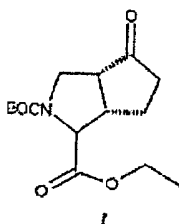
(140 mg, 0,75 mmol) a nasledovaný DIPEA (0,174 ml, 1 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc a potom sa reakcia zastaví vodou (30 ml) počas 30 minút. Reakčná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc (75 ml). Organická vrstva sa premýva soľným roztokom a suší a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (5 % EtOAc/EtOAc) kvôli získaniu kvantitatívneho výťažku zlúčeniny xii,



Príklad medziproduktu 10

Zlúčenina i'

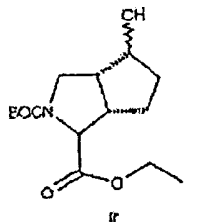
Do metanolového roztoku (30 ml) zlúčeniny i (5 g, 15,1 mmol) sa pridá $(\text{BOC})_2\text{O}$ (3,3 g, 15,1 mmol) a $\text{H}_2/\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (1,6 g, 10 % obsah Pd). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 2 hodín a potom dvakrát filtruje cez Celit. Celitový vankúš sa preplachuje DCM. Skombinované filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu olejového rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (40 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 3,8 g (85 %) zlúčeniny i',



Príklad medziproduktu 11

Zlúčenina ii'

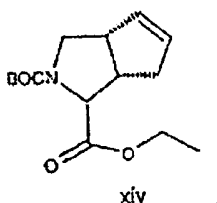
Do metanolového roztoku (111 ml) zlúčeniny i' (3,7 g, 12,5 mmol) sa pridá za teploty 0 °C NaBH_4 (0,805 g, 21 mmol). Po miešaní za teploty 0 °C počas 2,5 hodiny sa reakčné rozpúšťadlo pomaly odparí vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa zriedi EtOAc. Tento roztok sa potom premýva dvakrát vodou. Vodná vrstva sa extrahuje pomocou EtOAc. Skombinované organické vrstvy sa sušia nad MgSO_4 a filtrujú a koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou kvôli získaniu 3,76 g (99 %) zlúčeniny ii'



Príklad medziproduktu 12

Zlúčenina xiv

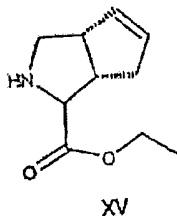
Do DCM roztoku (180 ml) zlúčeniny ii' (3,76 g, 12,3 mmol) sa pridá za teploty 0 °C DMAP (5 g, 40,1 mmol), potom nasledovaný Tf_2O (4 ml, 23,7 mmol). Reakčná zmes sa mieša za teploty 0 °C 1 hodinu a približne pri teplote okolia ďalšiu 1,5 hodiny. Reakčná zmes sa potom premýva dvakrát 5 % NaHCO_3 a suší nad MgSO_4 . Takto získaná organická vrstva sa koncentruje vo vákuu kvôli získaniu surového triflátu. Výsledný triflát (2,7 g, 6 mmol) sa rozpustí v DCM (120 ml). Do tohto roztoku sa pridá DMAP (2,5 g, 20,5 mmol). Výsledná reakčná zmes sa zahrieva na teplotu spätného toku cez noc. V tomto okamihu sa reakčná zmes ochladí na teplotu okolia a premýva dvakrát 5 % NaHCO_3 . Reakčná zmes sa suší nad MgSO_4 , filtruje a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu hnedastého olejovitého rezídua, ktoré sa čistí (1 % MeOH/DCM) kvôli získaniu 500 mg (30 %) zlúčeniny xiv,



Príklad medziproduktu 13

Zlúčenina xv

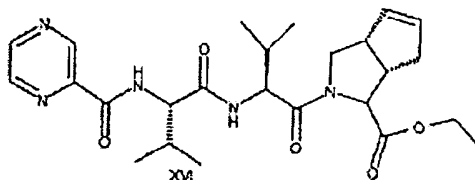
Zlúčenina xiv (500 mg, 1,8 mmol) sa rozpustí v 4 N HCl v dioxáne (6,75 ml). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia asi 4 hodiny. V tomto okamihu sa rozpúšťadlo odstráni vo vákuu. Výsledné rezíduum sa titruje dvakrát dietyléterom kvôli získaniu takmer kvantitatívneho výťažku HCl soli zlúčeniny xv,



Príklad medziproduktu 14

Zlúčenina xvi

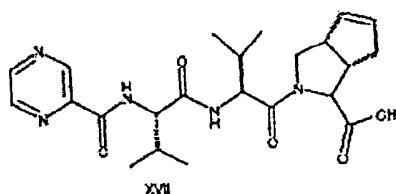
Do THF roztoku (7 ml) zlúčeniny vii (579 mg, 1,8 mmol) sa pridá HOAt (245 mg, 1,8 mmol) a DCC (1,8 ml, 1 M v DCM). Vznikne suspenzia. Po miešaní približne pri teplote okolia počas 15 minút sa do vyššie uvedenej suspenzie pridá THF roztok (6 ml) zlúčeniny xv (1,8 mmol) a DIPEA (0,63 ml, 3,6 mmol). Ďalšie DIPEA (0,8 ml) sa pridá neskôr. Reakčná zmes sa mieša cez noc približne pri teplote okolia. V tomto okamihu sa takto vytvorená biela pevná látka odfiltruje. Biela pevná látka sa preplachuje THF. Skombinované filtráty a premyté látky sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu surového produktu, ktorý sa čistí chromatografiou na silikagéli (100 % EtOAc) kvôli získaniu 665 mg (76 %) zlúčeniny xvi,



Príklad medziproduktu 15

Zlúčenina xvii

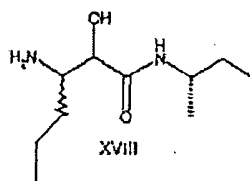
Do etanolového roztoku (8 ml) 7 (665 mg, 1,37 mmol) sa pridá 1N vodný NaOH (2,4 mmol) za teploty 0 °C. Reakčná zmes sa mieša cez noc približne pri teplote okolia a potom sa okyslí na pH 3 použitím kyslých živíc Dowex. Pevné látky sa filtrujú. Výsledné filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu bledožltého rezídua, ktoré sa znova rozpustí v zmesi 1 : 1 CH₃CN/H₂O a lyofilizuje sa kvôli získaniu 467 mg (74 %) zlúčeniny xvii,



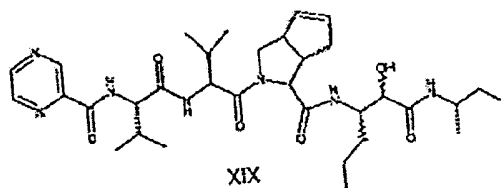
Príklad medziproduktu 16

Zlúčenina xix

DCM roztok (4 ml) zlúčeniny xvii (100 mg, 0,22 mmol) sa spracováva PyBop (207 mg, 0,4 mmol) približne pri teplote okolia počas 20 minút. V tomto okamihu sa vyššie uvedený roztok spracováva THF roztokom (2,6 ml) zlúčeniny xviii (65 mg, 0,32 mmol), nasledovaný DIPEA



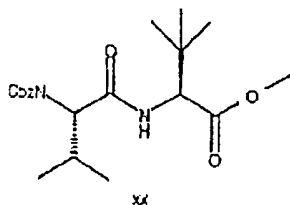
(0,076 ml). Po miešaní približne pri teplote okolia počas 7 hodín sa reakcia zastaví vodou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou DCM (60 ml). Organická vrstva sa separuje a premýva dvakrát soľným roztokom a suší nad MgSO_4 . Po filtrácii, koncentrácii a chromatografii na silikagéli (5 % EtOH/EtOAc) sa získa 148 mg (~ 100 %) zlúčeniny xix.



Príklad medziproduktu 17

Zlúčenina xx

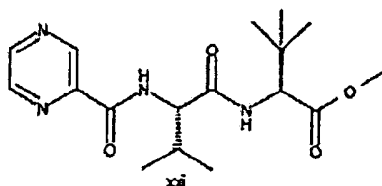
Do THF roztoku (100 ml) N-Cbz-L-valínu (14,4 g, 57,2 mmol) sa pridá HOBT (7,72 g, 57,2 mmol) a EDCI (10,98 g, 57,2 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia počas 20 minút sa pridá do vyššie uvedeného roztoku THF roztok (50 ml) obsahujúci hydrochlorid metylesteru terc-L-leucínu (10,4 g, 57,2 mmol) a DIPEA (11,9 ml, 68,7 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. Po štandardnom vodnom spracovaní a chromatografii na silikagéli (30 % EtOAc/hexán) sa získa 14 g (64 %) zlúčeniny xx.



Príklad medziproduktu 18

Zlúčenina xxi

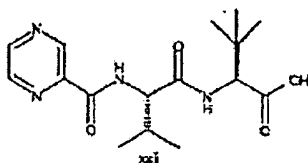
Do metanového roztoku (80 ml) xx (6,71 g, 17,7 mmol) sa pridá (pod prúdom N_2) Pd/C (1,88 g, 10 % obsah Pd). Reakčná nádoba sa vystaví hydrogenácii (1 atm. H_2) cez noc približne pri teplote okolia. V tomto okamihu sa reakčná zmes filtruje cez vrstvu Celitu a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu zodpovedajúceho surového voľného amínu pre nasledujúci krok. THF roztok tohto amínu (~ 17,7 mmol) sa pridá do THF (46 ml) a DMF (5 ml) roztoku obsahujúceho 2-pyrazínkarboxylovú kyselinu (2,85 g, 23 mmol), Hobbitt (3,12 g, 23 mmol) a EDCI (4,41 g, 23 mmol). Do výslednej zmesi sa potom pridá DIPEA (3,08 g, 17,7 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc približne pri teplote okolia a potom sa reakcia zastaví vodou. Reakčná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Organická vrstva sa premýva soľným roztokom a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (40 - 50 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 3,9 g (63 %) zlúčeniny xxi,



Príklad medziproduktu 19

Zlúčenina xxii

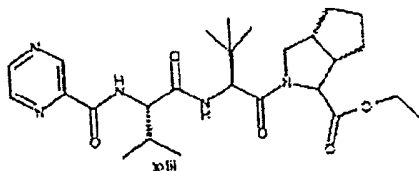
Do metanolového roztoku (40 ml) zlúčeniny xxi (4,67 g, 13,34 mmol) sa pridá 2 N NaOH (10 ml, 20 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 2 hodín. V tomto okamihu sa pridá do reakčnej zmesi dodatočné množstvo 2 N NaOH (3,3 ml, 6,67 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia cez noc sa reakčná zmes okyslí na pH 3 použitím kyslej živice. Reakčná zmes sa potom filtruje a filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa rozpustí v 1 : 1 CH₃CN/H₂O po lyofilizácii. Získa sa 4,15 g (93 %) zlúčeniny xxii.



Príklad medziproduktu 20

Zlúčenina xxiii

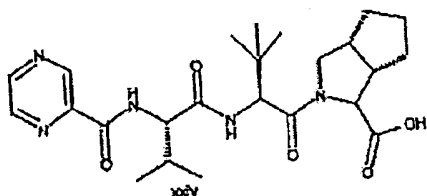
DCM roztok (10 ml) zlúčeniny xxii (917 mg, 2,73 mmol) sa spracováva HOAt (371 mg, 2,73 mmol) a DCC (2,73 ml, 1 M, 2,73 mmol). Po miešaní počas 30 minút sa reakčná zmes spracováva THF roztokom (10 ml) zlúčeniny v (500 mg, 2,73 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia cez noc sa biele pevné látky (močovina) filtrujú. Filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (60 - 70 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 1,06 g (77 %) zlúčeniny xxiii,



Príklad medziproduktu 21

Zlúčenina xxiv

Etanolvý roztok (20 ml) zlúčeniny xxiii (1,06 g, 2,11 mmol) sa spracováva 2 N NaOH (2,11 ml, 4,23 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia cez noc sa reakčná zmes okyslí na pH 3 kyslou živcou. Pevné látky sa odfiltrujú. Výsledné filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa lyofilizuje kvôli získaniu g (100 %) zlúčeniny xxiv,

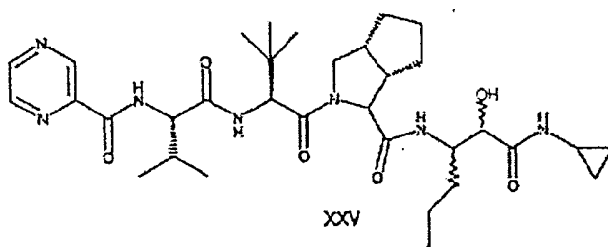


Príklad medziproduktu 22

Zlúčenina xxv

DCM roztok (10 ml) zlúčeniny xxiv (236,7 mg, 0,5 mmol) sa spracováva PyBop (417 mg, 0,8 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia počas 20 minút sa reakčná zmes spracováva DMF roztokom (5,6 ml) zlúčeniny xiii (139,5 mg, 0,75 mmol), nasledovaným DIPEA (0,174 ml, 1 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia počas 8 hodín sa reakcia zastaví vodou a zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Výsledná organická vrstva sa premýva soľným

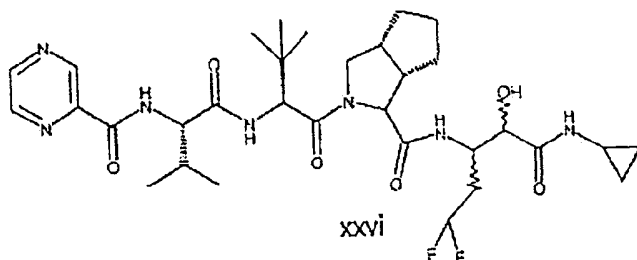
roztokom a suší a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (5 % EtOH/EtOAc) kvôli získaniu ~ 320 mg (100 %) zlúčeniny xxv,



Príklad medziproduktu 23

Zlúčenina xxvi

DCM roztok (15 ml) zlúčeniny xxiv (355 mg, 0,75 mmol) sa spracováva PyBop (622 mg, 1,2 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia počas 20 minút sa reakčná zmes spracováva THF roztokom (10 ml) zlúčeniny xxvii' (156 mg, 0,75 mmol), nasledovaným DIPEA (0,26 ml, 1,5 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia cez noc sa reakcia zastaví vodou a reakčná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Výsledná organická vrstva sa premýva soľným roztokom a suší a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (2 % EtOH/EtOAc) kvôli získaniu ~ 400 mg (80 %) zlúčeniny xxvi,



Príklad medziproduktu 24

Metyl-5-kyanopentanoát

Kyanid draselný (4 g, 61,44 mmol) sa rozpustí v 70 ml vody a 200 ml metanolu. Do roztoku sa pridá 10 g (51,2 mmol) metyl-5-brómpentanoátu a zmes sa zahrieva na teplotu spätného toku cez noc. Reakčná zmes sa koncentruje do sucha. Do rezídua (100 ml) sa pridá EtOAc kvôli extrakcii produktu. Organická látka sa premýva trikrát vodou, suší a koncentruje kvôli získaniu 5,37 g (74 %) metyl-5-kyanopentanoátu vo forme oleja.

Príklad medziproduktu 25

Metyl-5-tetrazol-5-ylpentanoát

Metyl-5-kyanopentanoát (4,8 g, 34 mmol) sa rozpustí v toluéne, pridajú sa trietylamóniumchlorid (14 g, 102 mmol) a azid sodný (6,63 g, 102 mmol). Zmes sa zahrieva na teplotu spätného toku cez noc. Reakčná zmes sa ochladí na teplotu okolia, pridá sa voda kvôli extrahovaniu (3 x 100 ml), metyl-5-tetrazol-5-ylpentanoátu z organickej látky. Do vodnej fázy sa pridá koncentrovaný HCl kvôli úprave pH na hodnotu 2. Produkt sa extrahuje z vodného roztoku pomocou EtOAc (3 x 50 ml). Organická látka sa skombinuje, suší a koncentruje kvôli získaniu 4,25 g (68 %) metyl-5-tetrazol-5-ylpentanoátu.

Príklad medziproduktu 26**Metyl-5-[N-(1,1-dimetylbenzyl)tetrazol-5-yl]pentanoát**

Metyl-5-tetrazol-5-ylpentanoát (4,23 g, 23 mmol) a trichlóroctová kyselina (8,69 g, 53 mmol) sa rozpustí v 50 ml CHCl_3 . α -metylstyren (2,72 g, 23 mmol) sa pridá do roztoku po kvapkách a reakčná zmes sa nechá za miešania približne pri teplote okolia cez noc. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc na 200 ml a organická vrstva sa premýva 10 % vodným KOH a sol'ným roztokom. Organická vrstva sa suší a koncentruje. Produkt sa čistí okamihovou kolónovou chromatografiou kvôli získaniu 6,6 g (95 %) metyl-5-[N-(1,1-dimetylbenzyl)tetrazol-5-yl]pentanoátu.

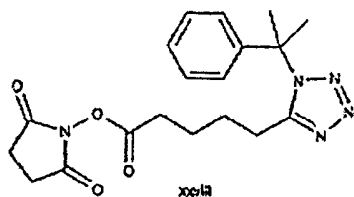
Príklad medziproduktu 27**5-[N-(1,1-dimetylbenzyl)tetrazol-5-yl]pentánová kyselina**

Metyl-5-[N-(1,1-dimetylbenzyl)tetrazol-5-yl]pentanoát (6,6 g, 21,8 mmol) sa rozpustí v metanole (100 ml) a pridá sa 23 ml 1 N vodného NaOH. Zmes sa mieša cez noc a koncentruje kvôli odstráneniu metanolu. Rezíduum sa rozpustí vo vode (100 ml) a roztok sa neutralizuje pridaním ekvivalentu 1 N vodného HCl. Produkt sa extrahuje pomocou EtOAc (3 x 50 ml). Organická látka sa suší a koncentruje kvôli získaniu 4,75 g (75 %) 5-[N-(1,1-dimetylbenzyl)tetrazol-5-yl]pentánovej kyseliny.

Príklad medziproduktu 28**Zlúčenina xxviii**

5-[N-(1,1-dimetylbenzyl)tetrazol-5-yl]pentánová kyselina (4,75 g, 16,5 mmol) sa rozpustí v DCM (100 ml) a pridá sa 4,8 g (24,8 mmol) EDCI a 6 ml DIPEA. Do zmesi sa pridá N-hydroxysukcínimid (3,8 g, 33 mmol). Reakčná zmes sa mieša tri hodiny približne pri teplote okolia. Zmes sa zriedi pomocou

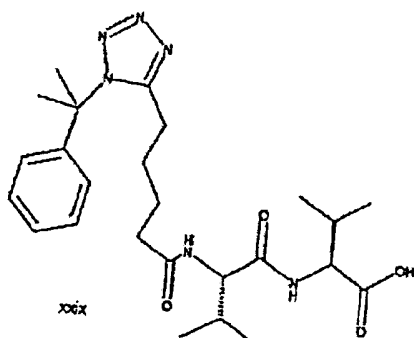
DCM na 200 ml a roztok sa premýva trikrát vodou. Organická látka sa suší a koncentruje kvôli získaniu 4,79 g (75 %) zlúčeniny xxviii,



Príklad medziproduktu 29

Zlúčenina xxix

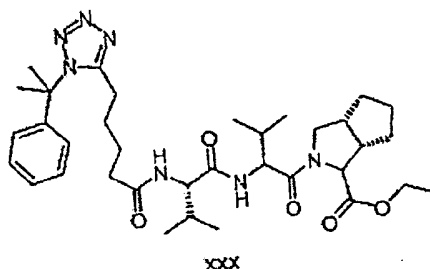
Dipeptid H-Val-Val-OH (3,22 g, 14,9 mmol) sa suspenduje v 50 ml N,N-dimetylformamidu (DMF) a pridá sa 4,75 g (12,42 mmol) zlúčeniny xxviii, nasleduje adícia 3,4 ml (18,63 mmol) diizopropyletylamínu (DIPEA). Zmes sa zahrieva na teplotu 40 °C a mieša sa cez noc. Rozpúšťadlo sa odparí za vysokého vákua. Rezíduum sa rozpustí v EtOAc a premýva 1 N HCl a soľným roztokom kvôli získaniu 5,52 g (91 %) zlúčeniny xxix,



Príklad medziproduktu 30

Zlúčenina xxx

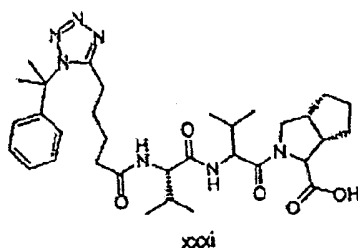
1,6 g (3,29 mmol) zlúčeniny xxix sa rozpustí v 20 ml DCM, pridá sa 3,3 ml 1 M roztoku DCC v THF. Do zmesi sa pridá 500 mg (2,73 mmol) zlúčeniny v. Zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. Zmes sa zriedi EtOAc na 100 ml a premýva 1 N HCl, NaHCO₃ a soľným roztokom. Čistenie kolónovou chromatografiou (50 % EtOAc/hexán) poskytne 1,02 g (58 %) zlúčeniny xxx,



Príklad medziproduktu 31

Zlúčenina xxxi

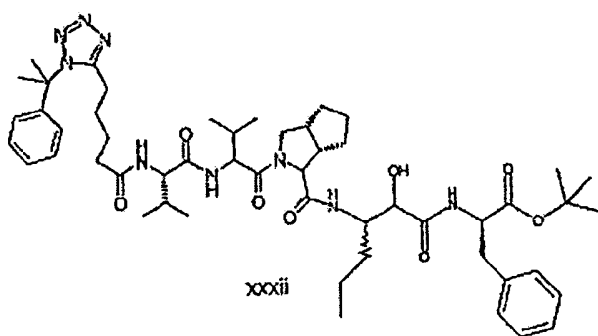
Zlúčenina xxx (1,02 g, 1,57 mmol) sa rozpustí v 10 ml MeOH a pridajú sa 2 ml 1 N vodného NaOH. Zmes sa mieša cez noc. Metanol sa odstráni odparením a rezíduu sa rozpustí vo vode a neutralizuje 2 ml HCl. Po extrakcii pomocou EtOAc sa získa 1,00 g (~ 100 %) zlúčeniny xxxi.



Príklad medziproduktu 32

Zlúčenina xxxii

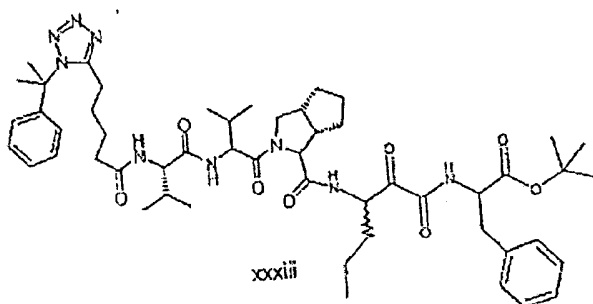
Zlúčenina xxxi (300 mg, 0,48 mmol) a PyBop (300 mg, 0,58 mmol) sa rozpustí v 10 ml DCM. Do roztoku sa pridá zlúčenina x (201 mg, 0,58 mmol) a potom DIPEA (104 μ l). Zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. Reakčná zmes sa potom zriedi pomocou EtOAc na 100 ml a premýva dvakrát 1 N HCl, dvakrát NaHCO₃ a trikrát soľným roztokom. Organická látka sa suší a koncentruje. Rezíduum sa čistí kolónovou chromatografiou (100 % EtOAc) kvôli získaniu 450 mg (98 %) zlúčeniny xxxii,



Príklad medziproduktu 33

Zlúčenina xxxiii

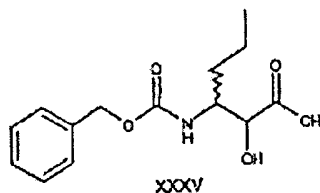
Zlúčenina xxxii (360 mg, 0,38 mmol) sa rozpustí v 8 ml DCM a pridá sa 240 mg (0,57 mmol) činidla DMP. Zmes sa mieša približne pri teplote okolia tri hodiny. Zmes sa zriedi EtOAc na 50 ml a premýva trikrát soľným roztokom. Produkt sa čistí kolónovou chromatografiou (25 % etanol/EtOAc) kvôli získaniu 300 mg (83 %) zlúčeniny xxxiii,



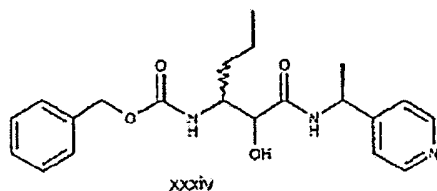
Príklad medziproduktu 34

Zlúčenina xxxiv

Do DCM roztoku (10 ml) xxxv (790 mg, 2,80 mmol) sa pridá



PyBop (1,7 g, 3,36 mmol) a Hobbit (450 mg, 3,36 mmol). Výsledný roztok sa ochladí na teplotu 0 °C a spracováva DCM roztokom (3 ml) (s)- α -(4-pyridyl) etylamínu (410 mg, 3,36 mmol). Za tým nasleduje adícia DIPEA (0,5 ml, 3,36 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc približne pri teplote okolia. V tomto okamihu sa reakčná zmes zriedi pomocou EtOAc. Celok sa premýva nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Takto získaná organická vrstva sa suší a koncentruje vo vákuu. Výsledné rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (5 % EtOH/EtOAc) kvôli získaniu 630 mg (58 %) zlúčeniny xxxiv,

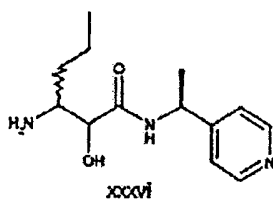


Upozornenie: (s)- α -(4-pyridyl)etylamin sa získa z jeho D-vínanovej soli premývaním báz (1 N NaOH) a následnou extrakciou EtOAc. Výťažok je 89 %.

Príklad medziproduktu 35

Zlúčenina xxxvi

Do metanolového roztoku (15 ml) zlúčeniny xxxiv (630 mg, 1,64 mmol) sa pridá pod dusíkovou atmosférou Pd/C (150 mg, 10 % obsah paládia). Reakčná zmes sa mieša pod vodíkovou atmosférou cez noc. Reakčná zmes sa filtruje cez vrstvu Celitu® 521. Filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu 420 mg (~ 100 %) zlúčeniny xxxvi,

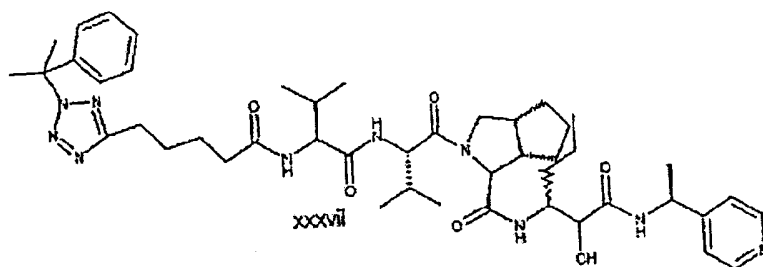


Príklad medziproduktu 36

Zlúčenina xxxvii

Do DCM roztoku (3 ml) zlúčeniny xxxi (270 mg, 0,43 mmol) sa pridá PyBop (270 mg, 0,52 mmol). Za tým nasleduje pridanie zlúčeniny xxxvi (160

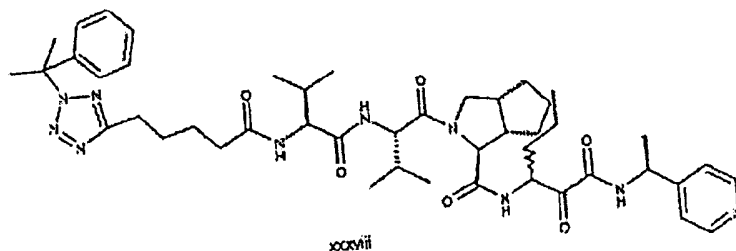
mg, 0,64 mmol) a DIPEA (0,09 ml, 0,52 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. V tomto okamihu sa reakčná zmes zriedi EtOAc a premýva 0,1 N HCl, nasledovaným nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Výsledná organická vrstva sa suší a koncentruje kvôli získaniu zlúčeniny xxxvii (430 mg celková hmotnosť) pre nasledujúci krok



Príklad medziproduktu 37

Zlúčenina xxxviii

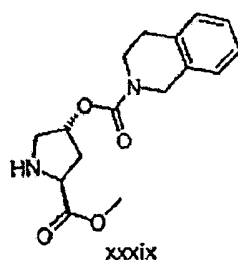
Do DCM roztoku (3 ml) zlúčeniny xxxvii (370 mg, 0,43 mmol) sa pridá činidlo DMP (280 mg, 0,65 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 2 hodín a potom sa reakcia zastaví pomocou 10 % Na₂SO₃. Po miešaní počas 30 minút sa reakčná zmes extrahuje pomocou EtOAc. Organická vrstva sa premýva nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Výsledná organická vrstva sa suší a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (5 % EtOH/EtOAc) kvôli získaniu 180 mg (49 % pre dva kroky) zlúčeniny xxxviii,



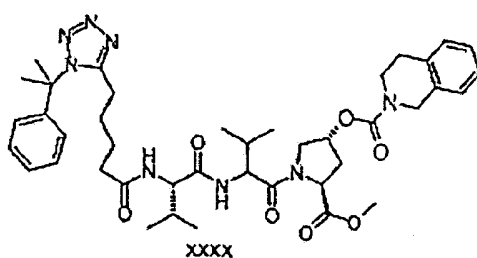
Príklad medziproduktu 38

Zlúčenina xxxx

Zlúčenina xxix (2,5 g, 5 mmol) sa rozpustí v 40 ml DCM, do roztoku sa pridá 5,1 ml 1 M roztoku DCC v THF. Do zmesi sa pridá 1,08 g (3,53 mmol) zlúčeniny xxxix. Zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc.



Zmes sa zriedi EtOAc na 100 ml, premýva sa postupne 1 N HCl, NaHCO₃ a soľným roztokom a potom čistí kolónovou chromatografiou (80 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 2,59 (95 %) zlúčeniny xxxx,

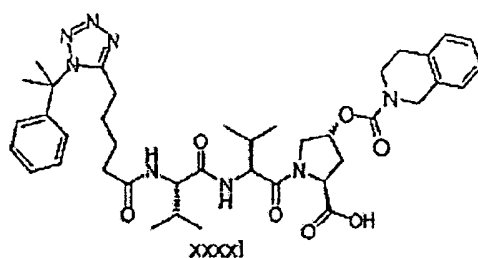


Príklad medziproduktu 39

Zlúčenina xxxxi

Zlúčenina xxxx (2,59 g, 3,35 mmol) sa rozpustí v 20 ml MeOH a pridajú sa 4 ml 1 N vodného NaOH. Zmes sa mieša cez noc a potom rotačne odparí a

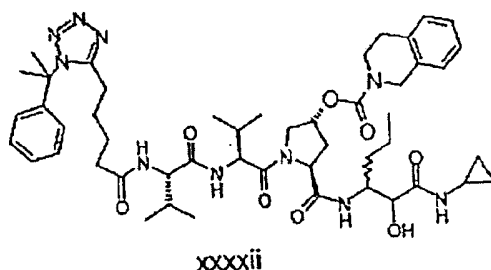
nechá rezíduum. Rezíduum sa rozpustí vo vode a neutralizuje 2 ml HCl. Neutralizovaný roztok sa potom extrahuje EtOAc kvôli získaniu 2,49 g (~ 100 %) zlúčeniny xxxxi,



Príklad medziproduktu 40

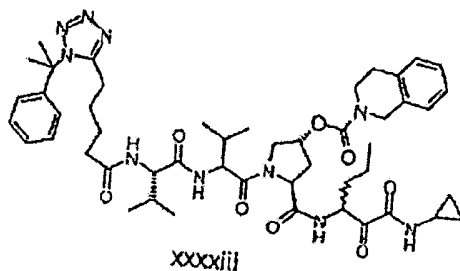
Zlúčenina xxxxi

Zlúčenina xxxxi (847 mg, 1,16 mmol) a 724 mg (1,39 mmol) PyBop sa rozpustí v 10 ml DCM. Do roztoku sa pridá zlúčenina xiii (260 mg, 1,39 mmol) a potom nasleduje adícia DIPEA (209 μ l). Zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. Reakčná zmes sa potom zriedi pomocou EtOAc na 100 ml a premýva dvakrát 1 N HCl, dvakrát NaHCO₃ a trikrát solným roztokom. Organická látka sa suší a koncentruje. Rezíduum sa čistí kolónovou chromatografiou (5 % etanol/EtOAc) kvôli získaniu 930 mg (86 %) zlúčeniny xxxxi,

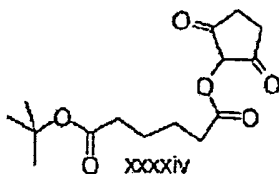


Príklad medziproduktu 41**Zlúčenina xxxxiii**

Zlúčenina xxxxii (350 mg, 0,38 mmol) sa rozpustí v 10 ml DCM a pridá sa 242 mg (0,57 mmol) činidla DMP. Zmes sa mieša približne pri teplote okolia tri hodiny. Zmes sa zriedi EtOAc na 50 ml a premýva sa trikrát soľným roztokom. Produkt sa čistí kolónovou chromatografiou (100 % EtOAc) kvôli získaniu 180 mg (51 %) zlúčeniny xxxxiii,

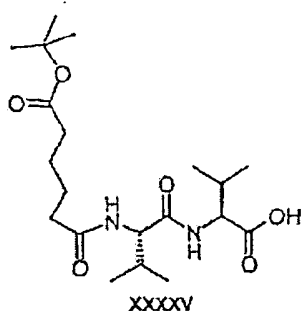
**Príklad medziproduktu 42****Zlúčenina xxxxv**

H-Val-Val-OH (5 g, 23 mmol) sa suspenduje v 100 ml DMF, pridá sa zlúčenina xxxxiv



(8,3 g, 27,6 mmol) a potom sa pridá 6,2 ml (35,5 mmol) DIPEA. Zmes sa mieša za teploty 40 °C dva dni. Rozpúšťadlo sa odstráni za vysokého vákuua a

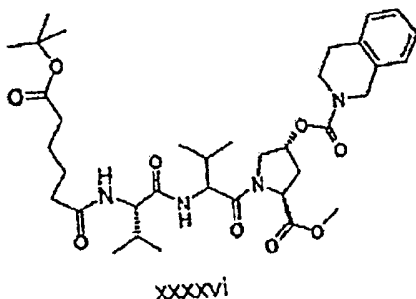
rezíduum sa rozpustí v 100 ml EtOAc a premýva trikrát 1 N HCl a dvakrát soľným roztokom. Získa sa 9,14 g (99 %) zlúčeniny xxxv.



Príklad medziproduktu 43

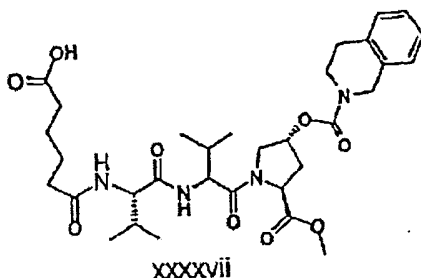
Zlúčenina xxxvi

Zlúčenina xxxv (2,8 g, 7 mmol) a 954 mg (7 mmol) HOAt sa rozpustí v 100 ml DCM. Pridá sa 7 ml 1 M DCC/DCM. Do reakčnej zmesi sa pridá zlúčenina xxxix (2,15 g) a reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. Zmes sa koncentruje do sucha a rezíduum sa rozpustí v EtOAc a čistí sa kolónovou chromatografiou (100 % EtOAc) kvôli získaniu 4,57 g (95 %) zlúčeniny xxxvi,

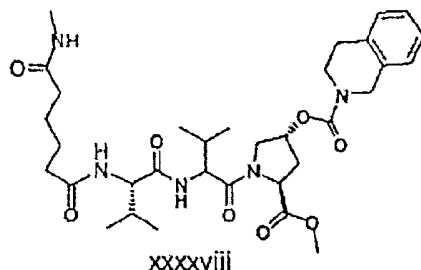


Príklad medziproduktu 44**Zlúčenina xxxvii**

Zlúčenina xxxvi (4,57 g, 6,65 mmol) sa rozpustí v 10 ml TFA a 10 ml DCM. Zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 4 hodín. Rozpúšťadlo sa odstráni vo vákuu a rezíduum sa rozpustí v zmesi 50 : 50 acetonitril/voda a lyofilizuje sa kvôli získaniu zlúčeniny xxxvii vo forme prášku

**Príklad medziproduktu 45****Zlúčenina xxxviii**

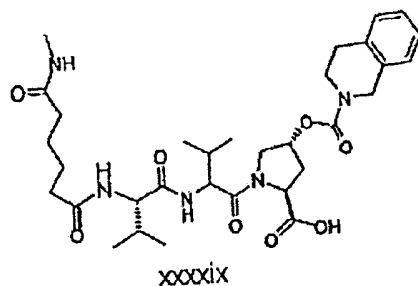
Zlúčenina xxxvii (1 g, 1,59 mmol) a 990 mg (2,28 mmol) PyBop sa rozpustí v 20 ml DCM a pridá sa 1,6 ml 1 M metylamínu v THF. Zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 4 hodín. Reakčná zmes sa zriedi na 100 ml EtOAc a premýva 1 N HCl, NaHCO₃ a soľným roztokom. Rezíduum sa čistí okamihovou kolónovou chromatografiou (10 % EtOH/EtOAc) kvôli získaniu 1 g (98 %) zlúčeniny xxxviii,



Príklad medziproduktu 46

Zlúčenina xxxix

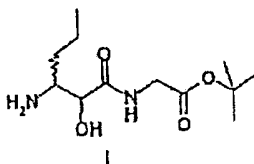
Zlúčenina xxxviii (1 g, 1,55 mmol) sa rozpustí v 10 ml MeOH a pridajú sa 2 ml 1 N NaOH. Zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. Rozpúšťadlo sa odstráni odparením. Rezíduum sa rozpustí vo vode, neutralizuje a extrahuje EtOAc kvôli získaniu 960 mg (98 %) zlúčeniny xxxix,



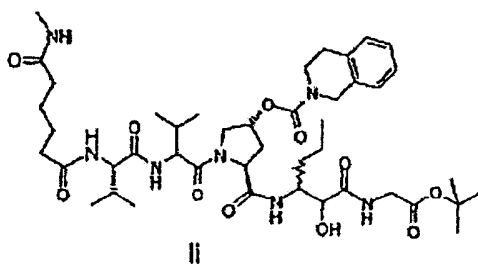
Príklad medziproduktu 47

Zlúčenina li

Zlúčenina xxxix (315 mg, 0,5 mmol) a 312 mg (0,6 mmol) PyBop sa rozpustí v 10 ml DCM. Pridá sa zlúčenina 1 (56 mg, 0,6 mmol) a 108 μ l DIPEA. Zmes



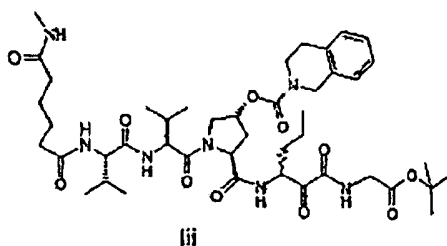
sa mieša približne pri teplote okolia cez noc a zriedi sa na 100 ml EtOAc a premýva 1 N HCl, NaHCO₃ a soľným roztokom. Čistenie kolónovou chromatografiou (15 % EtOH/EtOAc) umožní získanie 400 mg (92 %) zlúčeniny li,



Príklad medziproduktu 48

Zlúčenina lii

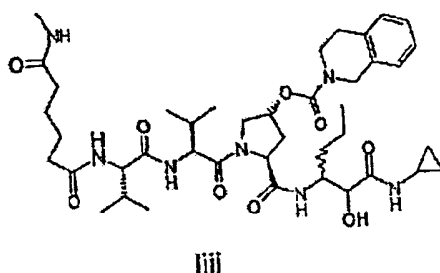
Zlúčenina li (400 mg, 0,46 mmol) sa rozpustí v 10 ml DCM a pridá sa 292 mg (0,69 mmol) činidla DMP. Zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 3 hodín. Rozpúšťadlo sa odstráni odparením a produkt sa čistí pomocou RP-HPLC kvôli získaniu 130 mg (32 %) zlúčeniny lii,



Príklad medziproduktu 49

Zlúčenina liii

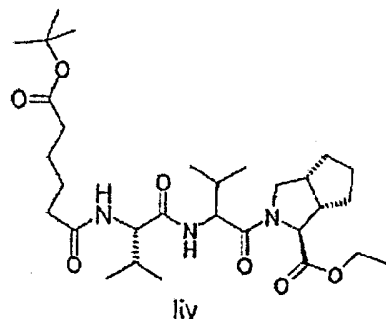
Zlúčenina xxxix (210 mg, 0,33 mmol) a 208 mg (0,4 mmol) PyBop sa rozpustí v 10 ml DCM. Zlúčenina xiii (154 mg, 0,83 mmol) sa pridá do roztoku s následnou adíciou DIPEA (72 μ l, 0,4 mmol). Zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. Reakčná zmes sa zriedi na 100 ml pomocou EtOAc, premýva 1 N HCl, NaHCO₃ a soľným roztokom a potom čistí okamihovou kolónovou chromatografiou (1 % EtOH/EtOAc) kvôli získaniu 250 mg (95 %) zlúčeniny liii,



Príklad medziproduktu 50

Zlúčenina liv

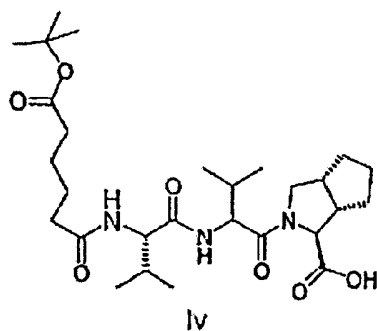
Zlúčenina xxxv (755 mg, 1,88 mmol) a 255 mg (1,88 mmol) HOAt sa rozpustí v 20 ml DCM. Pridá sa 1,88 ml 1 M DCC/DCM. Do reakčnej zmesi sa pridá zlúčenina v (288 mg) a reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 2 hodín. Zmes sa koncentruje do sucha a rezíduum sa rozpustí v EtOAc a čistí sa kolónovou chromatografiou (80 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 800 mg (90 %) zlúčeniny liv,



Príklad medziproduktu 51

Zlúčenina lv

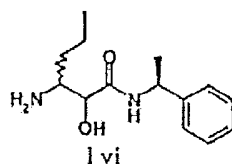
Zlúčenina liv (800 mg, 1,41 mmol) sa rozpustí v 10 ml MeOH a pridajú sa 2 ml NaOH. Zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. Rozpúšťadlo sa odstráni vo vákuu a rezíduum sa rozpustí vo vode a neutralizuje 2 ml 1 N HCl. Produkt sa extrahuje pomocou EtOAc. Odparenie extrakčného rozpúšťadla poskytuje 760 mg (~ 100 %) lv,



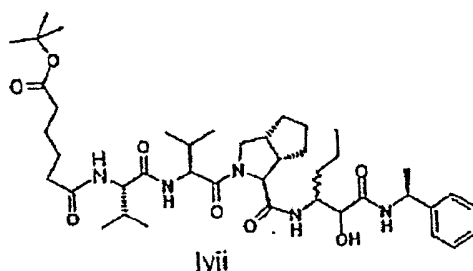
Príklad medziproduktu 52

Zlúčenina lvii

Zlúčenina lv (760 mg, 1,41 mmol) a 880 mg (1,69 mmol) PyBop sa rozpustí v 5 ml DCM. Do roztoku sa pridá zlúčenina lvi (530 mg, 2,12 mmol) a potom 0,31



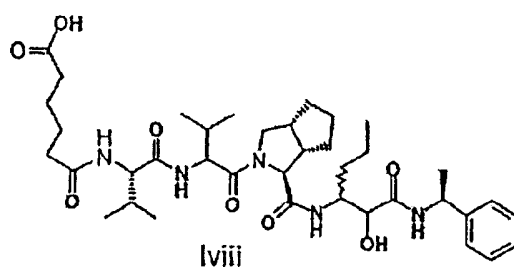
DIPEA. Zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. Reakčná zmes sa zriedi na 100 ml pomocou EtOAc, premýva sa 1 N HCl, NaHCO₃ a soľným roztokom a potom čistí okamihovou kolónovou chromatografiou (100 % EtOAc) kvôli získaniu 870 mg (80 %) zlúčeniny Ivii,



Príklad medziproduktu 53

Zlúčenina Iviii

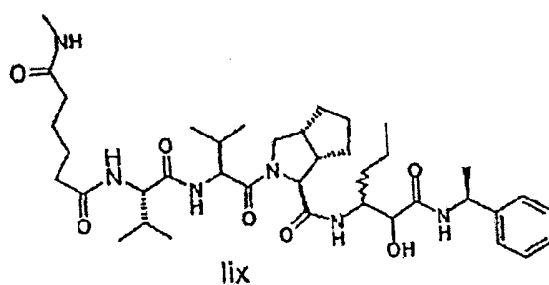
Zlúčenina Ivii (350 mg, 0,45 mmol) sa rozpustí v 5 ml TFA a 5 ml DCM a zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 3 hodín. Rozpúšťadlo sa odstráni odparením a produkt sa čistí pomocou RP-HPLC kvôli získaniu 220 mg (69 %) zlúčeniny Iviii,



Príklad medziproduktu 54

Zlúčenina lix

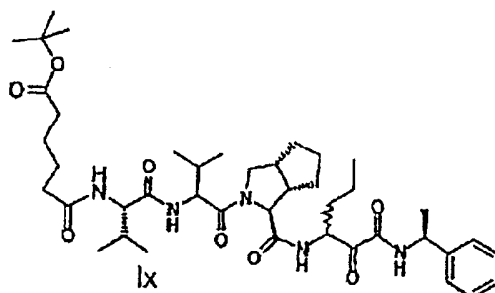
Zlúčenina lviii (200 mg, 0,28 mmol) a 218 mg (0,42 mmol) PyBop sa rozpustí v 5 ml DCM. Pridá sa metylamín (0,28 ml 2 M v THF). Zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. Zmes sa zriedi na 100 ml pomocou EtOAc, premýva 1 N HCl, NaHCO₃ a soľným roztokom a potom čistí kolónovou chromatografiou (15 % EtOH/EtOAc) kvôli získaniu 168 mg (79 %) zlúčeniny lix,



Príklad medziproduktu 55

Zlúčenina lx

Zlúčenina lviii (200 mg, 0,26 mmol) sa rozpustí v 4 ml DCM a pridá sa 165 mg (0,39 mmol) činidla DMP. Zmes sa mieša približne pri teplote okolia počas 3 hodín. Rozpúšťadlo sa odstráni odparením. Rezíduum sa rozpustí v zmesi 50 % acetonitril/voda a čistí pomocou RP-HPLC kvôli získaniu 140 mg (70 %) zlúčeniny lx



Príklad medziproduktu 56

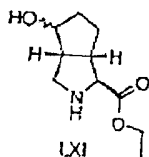
Zlúčenina ii

DCM (30 ml) a EtOH (30 ml) roztok zlúčeniny i (4 g, 12,1 mmol) sa pod dusíkovou atmosférou ochladí na -10 °C. Pridá sa NaBH₄ (458 mg, 12,1 mmol) a roztok sa mieša pri 10 °C počas 50 minút. TLC (50 % EtOAc/hexán) ukázala premenu na pomalšie bežiacu škvrnu. Reakcia sa opatrne zastaví pridaním ľadu a potom studeného nasýteného roztoku NH₄Cl (10 ml). Zmes sa vleje do DCM (300 ml). Organická vrstva sa premýva raz nasýteným roztokom NH₄Cl (60 ml) a dvakrát soľným roztokom (60 ml). Organická vrstva sa potom separuje, suší sa nad MgSO₄ a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu 3,5 g zlúčeniny ii (87 %).

Príklad medziproduktu 57

Zlúčenina lxi

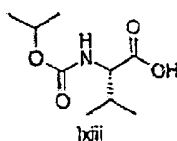
V 250 ml guľatej banke vybavenej H₂ balónom sa etanolvý roztok (50 ml) zlúčeniny ii (3,5 g, 10,5 mmol) vystaví štandardným hydrogenačným podmienkam (20 % Pd(OH)₂/C (1,47 g, 2,1 mmol)) počas 5 hodín približne pri teplote okolia. Katalyzátor sa odfiltruje cez Celit a premýva DCM. Rozpúšťadlo sa potom odstráni za zníženého tlaku kvôli získaniu 2 g (96 %) zlúčeniny lxi,



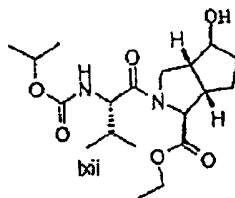
Príklad medziproduktu 58

Zlúčenina Ixii

Pod inertnou atmosférou sa roztok zlúčeniny Ixi (200 mg, 1 mmol), zlúčenina Ixiii,



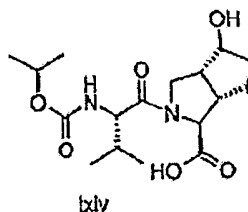
(233 mg, 1,1 mmol), HOAt (1-hydroxy-7-azabenzotriazol) (156 mg, 1,15 mmol) v bezvodom DMF (6 ml) mieša počas 20 minút. Teplota sa potom zníži na 0 °C s následnou adíciou DIC (0,18 ml, 1,15 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc približne pri teplote okolia. Roztok sa zriedi EtOAc a potom premýva dvakrát 1 N HCl, dvakrát nasýteným vodným NaHCO₃ a soľným roztokom. Organická vrstva sa separuje, suší sa nad MgSO₄ a rozpúšťadlo sa odstráni za zníženého tlaku. Rezíduum sa čistí chromatografiou (silikagél: 70 % EtOAc/DCM) kvôli získaniu zlúčeniny Ixii so 45 % výťažkom.



Príklad medziproduktu 59

Zlúčenina lxiv

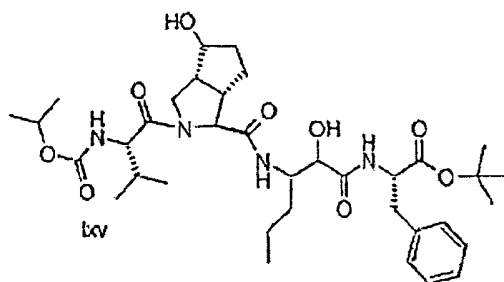
Roztok zlúčeniny lxii (777 mg, 2 mmoly) v dioxáne (6 ml) a 0,5 M NaOH (6 ml) sa mieša počas 5 hodín približne pri teplote okolia. Preskúmanie pomocou TLC (100 % EtOAc) ukazuje úplnú premenu. Reakčná zmes sa ochladí ľadovým kúpeľom s následnou adíciou 1 N HCl (4 ml). Potom sa pridá pevný NaCl a celá zmes sa extrahuje dvakrát EtOAc (2 x 150 ml). Organické extrakty sa potom skombinujú, sušia sa nad MgSO₄ a rozpúšťadlo sa odstráni za zníženého tlaku kvôli získaniu zlúčeniny lxiv s 92 % výťažkom.



Príklad medziproduktu 60

Zlúčenina lxv

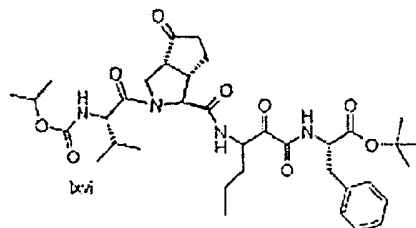
Pod inertnou atmosférou sa roztok zlúčeniny x (203 mg, 0,58 mmol), zlúčeniny lxiv (276 mg, 0,775 mmol), HOAt (1-hydroxy-7-azabenzotriazol) (126 mg, 0,93 mmol) v bezvodom DMF (6 ml) mieša počas 20 minút. Teplota sa potom zníži na 0 °C, s následnou adíciou DIC (0,14 ml, 0,93 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc približne pri teplote okolia. Roztok sa zriedi pomocou EtOAc a potom premýva dvakrát 1 N HCl, dvakrát nasýteným vodným NaHCO₃ a soľným roztokom. Organická vrstva sa separuje a suší nad MgSO₄ a rozpúšťadlo sa odstráni za zníženého tlaku. Rezíduum sa čistí chromatografiou (silikagél: 50 % EtOAc/DCM až 80 : 19 : 1 EtOAc/DCM/MeOH) kvôli získaniu zlúčeniny lxv so 62 % výťažkom.



Príklad medziproduktu 61

Zlúčenina lxvi

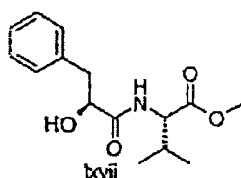
Pod inertnou atmosférou sa pridá do roztoku zlúčeniny lxv (287 mg, 0,42 mmol) v bezvodom DCM (15 ml) činidlo DMP (605 mg, 1,43 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 2 hodín približne pri teplote okolia. (Poznámka: zdvojenie množstva činidla DMP a reakčnej doby zaisťuje, aby sa obidve alkoholové skupiny úplne oxidovali na zodpovedajúce keto skupiny.) Preskúmanie pomocou TLC (silikagél: 2 % MeOH/EtOAc) ukazuje úplnú premenu na rýchlejší produkt. Reakčná zmes sa zriedi DCM (150 ml) a potom premýva dvakrát 10 % vodným roztokom siričitanu sodného (2 x 50 ml), dvakrát nasýteným vodným NaHCO₃ a soľným roztokom. Organická vrstva sa separuje a suší sa nad MgSO₄ a rozpúšťadlo sa odstráni za zníženého tlaku. Rezíduum sa čistí chromatografiou (silikagél: 50 % EtOAc/DCM až 80 : 19 : 1 EtOAc/DCM/MeOH) kvôli získaniu zlúčeniny lxvi so 77 % výťažkom.



Príklad medziproduktu 62

Zlúčenina lxvii

Do DCM roztoku (60 ml) L-3-fenylmliečnej kyseliny (2 g, 12 mmol) sa pridá PyBOP (7,5 g, 14,4 mmol). Do tohto roztoku sa pridá DCM roztok (20 ml) obsahujúci hydrochlorid metylesteru L-valínu (2,4 g, 14,4 mmol) a DIPEA (2,6 ml, 14,4 mmol). Výsledná reakčná zmes sa mieša cez noc približne pri teplote okolia. V tomto okamihu sa reakčná zmes zriedi EtOAc (30 ml), premýva sa NaHCO_3 (30 ml) a soľným roztokom (15 ml). Organická vrstva sa suší nad Na_2SO_4 , filtruje a koncentruje. Čistenie sa vykonáva v 50 % EtOAc/hexán na silikagéli kvôli získaniu 2,97 g (89 %) zlúčeniny lxvii,

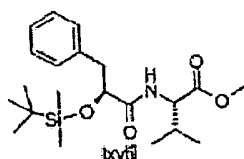


Príklad medziproduktu 63

Zlúčenina lxviii

Zlúčenina lxvii (2,97 g, 10,6 mmol) sa vyberie v DCM (50 ml) a ochladí sa ľadovým kúpeľom. Do tohto roztoku sa pridá TBSCl (2,1 g, 13,8 mmol) nasledovaný imidazolom (0,94 g, 13,8 mmol). Výsledný roztok sa mieša cez

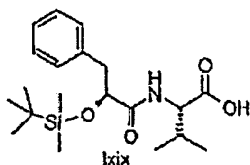
noc. Reakčná zmes sa potom zriedi EtOAc (50 ml), premýva NaHCO₃ a soľným roztokom. Organická vrstva sa suší nad Na₂SO₄, filtruje a koncentruje. Čistenie sa vykonáva v zmesi 20 % EtOAc/hexán na silikagéli kvôli získaniu 3,79 g (90 %) zlúčeniny lxviii,



Príklad medziproduktu 64

Zlúčenina lxix

Do metanolového (50 ml) roztoku zlúčeniny lxviii (3,78 g, 9,6 mmol) sa pridá 1 N vodný NaOH (14,4 ml, 14,4 mmol). Výsledný roztok sa mieša cez noc. Rozpúšťadlo sa čiastočne odstráni vo vákuu. pH reakčnej zmesi sa potom zníži na 3 použitím vodného roztoku 1 N HCl. Rostok sa zriedi EtOAc a soľným roztokom. Požadovaný produkt sa extrahuje pomocou EtOAc (3 x 50 ml). Organické vrstvy sa skombinujú, sušia sa nad Na₂SO₄, filtrujú a koncentrujú kvôli získaniu 3,5 g (96 %) zlúčeniny lxix,

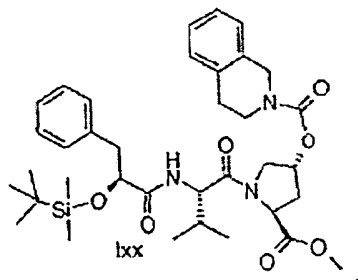


Príklad medziproduktu 65

Zlúčenina lxx

Do DCM (15 ml) roztoku obsahujúceho zlúčeninu lxix (1,1 g, 2,9 mmol) sa pridá HOAt (0,44 g, 3,2 mmol) nasledovaný 1 M roztokom DCC (3,2 ml, 3,2 mmol) v DCM. Po miešaní približne pri teplote okolia počas 20 minút sa pridá DCM (15 ml) roztok zlúčeniny xxxix (970 mg, 3,2 mmol). Táto reakčná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa potom zriedi EtOAc (30 ml), filtruje sa cez vrstvu silikagélu, premýva 0,1 N HCl, NaHCO₃ a soľným roztokom. Organická vrstva sa suší nad Na₂SO₄, filtruje a koncentruje vo vákuu.

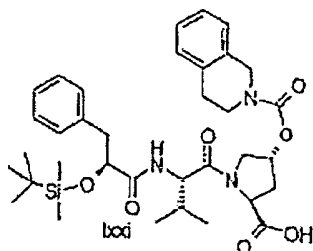
Čistenie sa vykonáva v 50 % EtOAc/hexán na silikagéli kvôli získaniu 1,5 g (77 %) zlúčeniny lxx,



Príklad medziproduktu 66

Zlúčenina lxxi

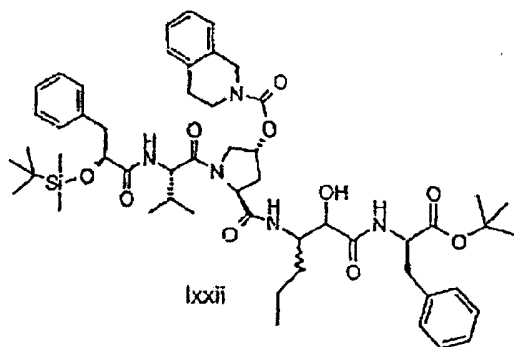
Do metanolového roztoku (30 ml) zlúčeniny xx (1,5 g, 2,4 mmol) sa pridá 1 N vodný NaOH (3,6 ml, 3,6 mmol). Výsledný roztok sa mieša cez noc. V tomto okamihu sa rozpúšťadlo čiastočne odstráni a pH reakčnej zmesi sa upraví na 3 použitím 1 N vodnej HCl. Reakčná zmes sa potom zriedi EtOAc (50 ml) a soľným roztokom (20 ml). Vodná vrstva sa extrahuje pomocou EtOAc (3 x 50 ml). Organické vrstvy sa skombinujú, sušia sa nad Na₂SO₄, filtrujú a koncentrujú kvôli získaniu 1,3 g (92 %) zlúčeniny lxxi,



Príklad medziproduktu 67

Zlúčenina lxxii

Do roztoku DCM (2 ml) obsahujúceho zlúčeninu lxxi (180 mg, 0,28 mmol) sa pridá PyBOP (175 mg, 0,34 mmol) a DIPEA (0,06 ml, 0,34 mmol), nasledovanej DCM roztokom (3 ml) zlúčeniny x (150 mg, 0,41 mmol). Výsledný roztok sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa potom zriedi EtOAc (30 ml), premýva NaHCO_3 a soľným roztokom. Organická vrstva sa suší nad Na_2SO_4 , filtruje a koncentruje. Čistenie sa vykonáva v 100 % EtOAc na silikagéli kvôli získaniu 270 mg (98 %) zlúčeniny lxxii,

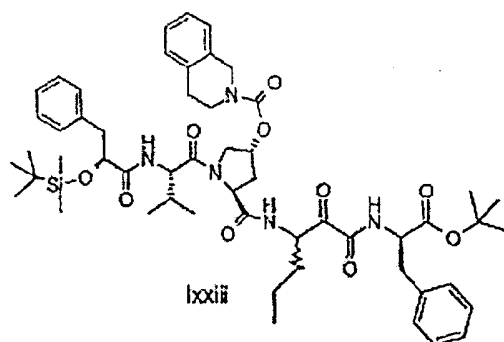


Príklad medziproduktu 68

Zlúčenina lxxiii

Do DCM (3 ml) roztoku zlúčeniny lxxii (270 mg, 0,27 mmol) sa pridá činidlo DMP (140 mg, 0,33 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia počas 1,5 hodiny sa reakcia zastaví pomocou 10 % Na_2SO_3 (10 ml). Reakčná zmes

sa zriedi EtOAc (30 ml) a mieša počas 10 minút. Organická vrstva sa premýva NaHCO_3 a soľným roztokom. Organická vrstva sa suší nad Na_2SO_4 , filtruje a koncentruje. Čistenie sa vykonáva v 60 % EtOAc/hexán kvôli získaniu 150 mg (56 %) zlúčeniny lxxiii,



Príklad medziproduktu 69

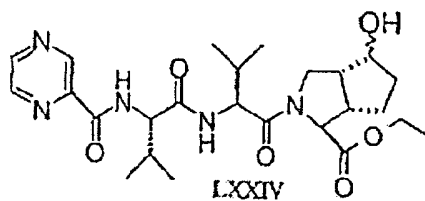
Zlúčenina lxi

Do etanolového roztoku (50 ml) zlúčeniny ii (3,5 g, 10,5 mmol) sa pridá pod prúdom dusíka $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (1,47 g, 20 % obsah Pd, 2,1 mmol). Reakcia sa vystaví hydrogenácii pod tlakom 1 atm. Po skončení sa katalyzátory filtrujú cez vrstvu Celitu a premývajú dichlórmetánom. Filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu 2 g (96 %) zlúčeniny lxi.

Príklad medziproduktu 70

Zlúčenina lxxiv

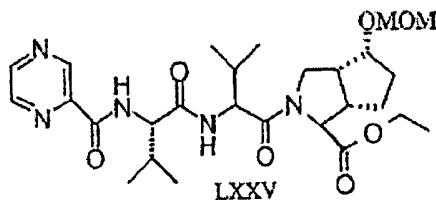
Do DMF roztoku (60 ml) zlúčeniny vii (9,1 g, 28,2 mmol) sa pridá HOAt (4 g, 29,4 mmol) a 1,3-diizopropylkarbodiimid (3,7 g, 29,4 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia počas 30 minút sa pridá do vyššie uvedeného roztoku DMF roztok (10 ml) zlúčeniny lxi (5,1 g, 25,6 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. V tomto okamihu sa biele pevné látky odfiltrujú. Filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli kvôli získaniu 9,5 g (67 %) zlúčeniny lxxiv,



Příklad medziproduktu 71

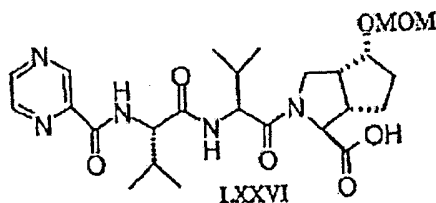
Zlúčenina lxxv

Do roztoku zlúčeniny lxxiv (1,5 g, 3 mmoly) v bezvodom THF (25 ml) sa pridá $\text{Et}_3\text{Pr}_2\text{N}$ (0,78 ml, 4,5 mmol) približne pri teplote okolia. Zmes sa ochladí na teplotu 0 °C a po kvapkách sa pridá MOMC1 (1,5 ml, 19,7 mmol). Reakčná zmes sa nechá zahriať sa na teplotu okolia a mieša sa cez noc. Roztok sa potom zriedi éterom a premýva vodou (3 krát). Vodné vrstvy sa extrahujú ďalej éterom a všetky organické vrstvy sa sušia nad MgSO_4 pred koncentráciou kvôli získaniu žltého oleja. Požadovaný izomér zlúčeniny lxxv sa izoluje chromatografiou na silikagéli (EtOAc/hexán 5/2) so 40 % výťažkom s jasnou separáciou diastereomérov.

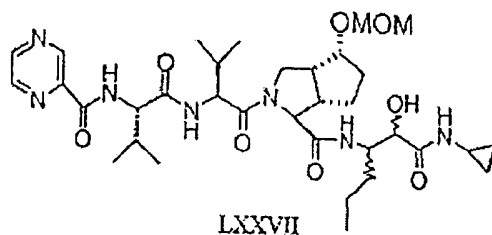


Príklad medziproduktu 72**Zlúčenina lxxvi**

Do roztoku zlúčeniny lxxv (502 mg, 0,9 mmol) v EtOH (5 ml) sa po kvapkách pridá 2 N vodný NaOH (0,9 ml, 1,8 mmol) za teploty 0 °C. Reakčná zmes sa nechá zahriať sa na teplotu okolia a mieša sa cez noc. Po skončení saponifikácie sa roztok okyslí na pH 3 kyslou živcou Dowex 50W8X-200. Pevné látky sa odfiltrujú a výsledný filtrát sa koncentruje vo vákuu kvôli získaniu olejovitého rezídua, ktoré sa lyofilizuje kvôli získaniu 370 mg (80 %) zlúčeniny lxxvi,

**Príklad medziproduktu 73****Zlúčenina lxxvii**

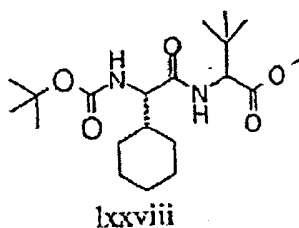
Dichlórmetánový roztok (4 ml) zlúčeniny lxxvi (110 mg, 0,21 mmol) sa spracováva PyBOP (200 mg, 0,38 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia počas 30 minút sa reakčná zmes vloží do THF roztoku (3,2 ml) zlúčeniny xiii (60 mg, 0,32 mmol), nasledovanej $\text{Et}_3\text{Pr}_2\text{N}$. Po miešaní cez noc približne pri teplote okolia sa reakcia zastaví vodou a reakčná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Výsledná organická vrstva sa premýva soľným roztokom a suší sa nad MgSO_4 pred koncentráciou na žltý olej. Čistenie chromatografiou na silikagéli (5 % EtOH/EtOAc) poskytne 143 mg (100 %) zlúčeniny lxxvii,



Príklad medziproduktu 74

Zlúčenina lxxviii

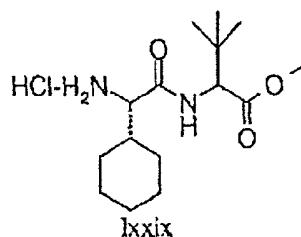
Do THF roztoku (50 ml) H-Chg-OH 2 (5 g, 19,4 mmol) sa pridá HOBt (2,63 g, 19,4 mmol) a EDCI (3,72 g, 19,4 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia počas 20 minút sa pridá do vyššie uvedeného roztoku THF (19 ml) a DMF (10 ml) roztok obsahujúci hydrochlorid metylesteru terc-L-leucínu (19,4 mmol) a DIPEA (6,75 ml, 38,8 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. Štandardné vodné spracovanie a chromatografia na silikagéli (15 - 20 % EtOAc/hexán) poskytuje 2,27 g (30 %) zlúčeniny lxxviii,



Príklad medziproduktu 75

Zlúčenina lxxix

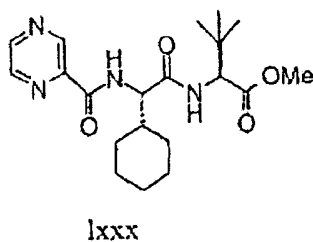
Do THF roztoku (12 ml) zlúčeniny lxxviii (2,27 g, 5,91 mmol) sa pridá 4 N HCl roztok v dioxáne (7,38 ml, 29,5 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. V tomto okamihu sa rozpúšťadlo odstráni za zníženého tlaku kvôli získaniu zlúčeniny lxxix, ktorá sa používa priamo na ďalšiu reakciu.



Príklad medziproduktu 76

Zlúčenina lxxx

Do THF roztoku zlúčeniny lxxix (5,9 mmol) sa pridá THF (20 ml) roztok obsahujúci 2-pyrazínkarboxylovú kyselinu (878 mg, 7,08 mmol), HOBt (957 mg, 7,08 mmol) a EDCI (1,36 g, 7,08 mmol). Do výslednej zmesi sa potom pridá DIPEA (2,05 ml, 11,8 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc približne pri teplote okolia a potom sa reakcia zastaví vodou. Reakčná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Organická vrstva sa premýva soľným roztokom a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (40 - 50 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 1 g (36 %) zlúčeniny lxxx,

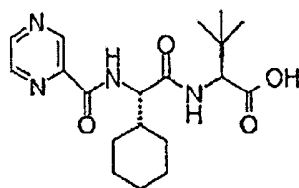


Príklad medziproduktu 77

Zlúčenina lxxxi

Do metanolového roztoku (20 ml) zlúčeniny lxxx (1 g, 2,56 mmol) sa pridá 2 N NaOH (3,2 ml, 6,4 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. V tomto okamihu sa reakčná zmes okyslí na pH 3 použitím 5 N HCl. Reakčná zmes sa zriedi EtOAc (75 ml) a premýva vodou a

soľným roztokom. Takto získaná organická vrstva sa suší a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa rozpustí v 1 : 1 zmesi $\text{CH}_3\text{CH}/\text{H}_2\text{O}$ po lyofilizácii. Celkovo sa získa 1 g (100 %) zlúčeniny lxxxi.

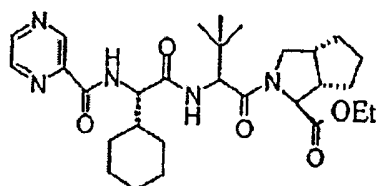


lxxxi

Príklad medziproduktu 78

Zlúčenina lxxxii

Dichlórmetánový roztok (10 ml) zlúčeniny lxxxi (2,56 mmol) sa spracováva HOAt (348 mg, 2,56 mmol) a DCC (2,56 ml, 1M, 2,56 mmol). Po miešaní počas 30 minút sa reakčná zmes spracováva THF roztokom (5 ml) zlúčeniny v (2,56 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia cez noc sa biele pevné látky (močovina) odstránia filtráciou. Filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli kvôli získaniu 1,4 g (100 %) zlúčeniny lxxxii,

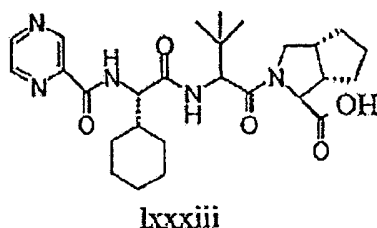


lxxxii

Príklad medziproduktu 79

Zlúčenina lxxxiii

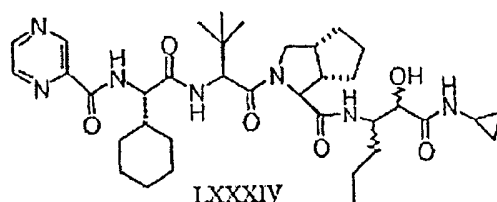
Etanolvý roztok (15 ml) zlúčeniny lxxxii (1,4 g, 2,58 mmol) sa spracováva pomocou 2 N NaOH (2,58 ml, 5,17 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia cez noc sa reakčná zmes okyslí na pH 3 kyslou živinicou. Pevné látky sa odfiltrujú. Výsledné filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa lyofilizuje kvôli získaniu 1,32 g (~ 100 %) zlúčeniny lxxxiii,



Príklad medziproduktu 80

Zlúčenina lxxxiv

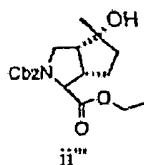
Dichlórmetánový roztok (15 ml) zlúčeniny lxxxiii (360 mg, 0,7 mmol) sa spracováva pomocou PyBOP (582 mg, 1,12 mmol). Po miešaní približne pri teplote okolia počas 20 minút sa reakčná zmes spracováva THF roztokom (10 ml) zlúčeniny xiii (195,6 mg, 1,05 mmol), nasledovaným DIPEA (0,25 ml, 1,40 mmol). Po miešaní cez noc približne pri teplote okolia sa reakcia zastaví vodou a reakčná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Výsledná organická vrstva sa premýva soľným roztokom a suší a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (3 % EtOH/EtOAc) kvôli získaniu 420 mg (88 %) zlúčeniny lxxxiv,



Príklad medziproduktu 81

Zlúčenina ii'''

Zmes bezvodého dichlórmétánu a éteru (20 ml : 20 ml) sa ochladí na teplotu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ pod dusíkovou atmosférou (g). Do roztoku sa pridá TiCl_4 (1 M v dichlórmétáne, 10 ml, 10 mmol) a potom sa následne pridáva MeLi (1,4 M v étere, 7,1 ml, 10 mmol) za miešania ďalších 30 minút za teploty $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Roztok zlúčeniny i (2 g, 6 mmol) v 10 ml dichlórmétánu sa pridá do zmesi po kvapkách za rovnakej teploty v priebehu 15 minút. Roztok sa pomaly zahrieva na $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 minút a potom sa mieša za teploty $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas 2 hodín. Reakcia sa zastaví vliatím zmesi do zmesi voda/éter (1 : 1) a potom sa vrstvy nechajú oddeliť. Vodná vrstva sa ďalej extrahuje dvakrát éterom. Všetky organické vrstvy sa premyjú vodou, soľným roztokom a sušia sa nad MgSO_4 pred koncentráciou na žltý olej. Požadovaná zlúčenina ii''' sa izoluje chromatografiou na silikagéli (EtOAc/hexán 2/1) s 83 % výťažkom.

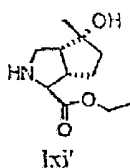


Príklad medziproduktu 82

Zlúčenina Ixi'

Do zlúčeniny ii''' (1,7 g, 5 mmol) sa pridá 10 % hmotn. Pd/C (0,53 g, 0,5

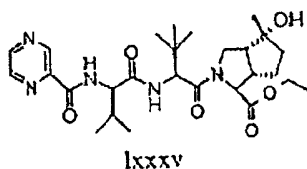
mmol), nasledovanej adíciou MeOH (17 ml). Reakčnou zmesou sa prefukuje plynňý vodík a plynňý vodík sa udržiava v reakcii za teploty 1 atm. cez noc. Reakčná zmes sa potom filtruje a koncentruje kvôli získaniu 929 mg (87 %) zlúčeniny lxi' vo forme bezfarebného oleja.



Príklad medziproduktu 83

Zlúčenina lxxxv

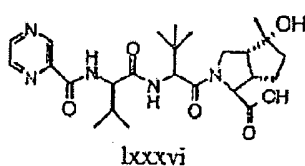
Do THF roztoku (16 ml) zlúčeniny xxii (1 g, 3 mmoly) sa pridá približne pri teplote okolia HOAt (0,41 g, 3 mmoly) a nasledovaný 1 M DCC roztokom dichlórmétanu (3 ml, 3 mmoly). Po miešaní počas 30 minút približne pri teplote okolia sa do vyššie uvedenej HOAt-aktivovanej kyseliny pridá dichlórmétanový roztok (6 ml) zlúčeniny lxi'. Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc. V tomto okamihu sa reakčná zmes filtruje cez Celit. Filtrát sa zriedi EtOAc (120 ml) a premýva vodou a potom soľným roztokom. Organická vrstva sa suší a koncentruje na žltý olej, ktorý sa čistí chromatografiou na silikagéli (100 % EtOAc) kvôli získaniu 1 g (65 %) zlúčeniny lxxxv,



Príklad medziproduktu 84

Zlúčenina lxxxvi

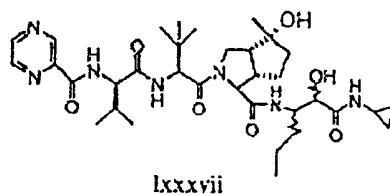
Do etanolového roztoku (8 ml) zlúčeniny lxxxv (920 mg, 1,7 mmol) sa pridá 2 N NaOH vodný roztok (1,7 ml, 3,4 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc približne pri teplote okolia a potom sa okyslí na pH 3 kyslou živcou Dowex. Pevné látky sa odfiltrujú a filtrát sa koncentruje kvôli získaniu bezfarebného oleja, ktorý sa znova rozpustí v 1 : 1 CH₃CN/H₂O a lyofilizuje sa kvôli získaniu 800 mg (93 %) zlúčeniny lxxxvi. HPLC ukazuje jediný produktový pik.



Príklad medziproduktu 85

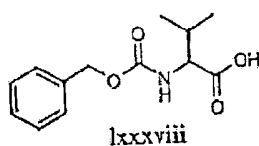
Zlúčenina lxxxvii

Do dichlórmetánového roztoku (4 ml) zlúčeniny lxxxvi (150 mg, 0,3 mmol) sa pridá PyBOP (250 mg, 0,47 mmol). Roztok sa mieša približne pri teplote okolia počas 30 minút. Do tohto roztoku sa potom pridá THF (4,5 ml), roztok zlúčeniny xiii (84 mg, 0,45 mmol) nasledovaný Et₃Pr₂N (0,1 ml, 0,6 mmol). Reakčná zmes sa mieša približne pri teplote okolia cez noc a potom sa reakcia zastaví vodou (25 ml) počas 30 minút. Zmes sa potom extrahuje pomocou EtOAc. Výsledná organická vrstva sa premýva soľným roztokom a suší sa nad MgSO₄ pred koncentráciou na žltý olej. Čistenie chromatografiou na silikagéli (5 % EtOH/EtOAc) poskytne 200 mg (100 %) zlúčeniny lxxxvii,

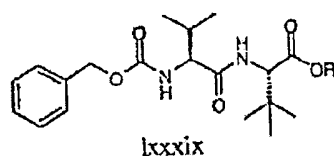


Príklad medziproduktu 86**Zlúčenina lxxxix**

Zlúčenina lxxxviii, N-Cbz-L-valín (2,5 g, 9,9 mmol) sa vyberie v THF (30 ml).



Pridajú sa EDCI (2,29 g, 11,9 mmol) a HOBT (1,62 g, 11,9 mmol) a zmes sa mieša päť minút. Pridá sa hydrochlorid metylesteru L-terc-leucínu (2,17 g, 11,9 mmol) v THF (23,9 ml) nasledovaný DIPEA (2,1 ml). Reakčná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi etylacetátom, premýva sa 1 N HCl, nasýteným hydrogénuhličitanom sodným a soľným roztokom. Organická fáza sa suší nad síranom sodným, filtruje a koncentruje. Koncentrované rezíduum sa čistí v zmesi 25 % etylacetát/hexán kvôli získaniu 1,1 g (29 %) zlúčeniny lxxxix,

**Príklad medziproduktu 87****Zlúčenina lxxxx**

Zlúčenina lxxxix sa hydrolyzuje za štandardných podmienok použitím metylalkoholu (0,3 M) a 1 N NaOH (1,5 ekv.) kvôli získaniu 1,03 g (95 %) zlúčeniny lxxxx.



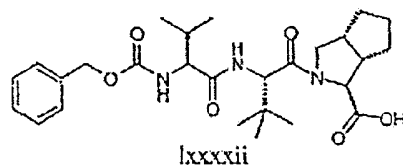
Zlúčenina lxxxxi

Zlúčenina lxxxx (385 mg, 1,06 mmol) sa vyberie v dichlórmetáne (3 ml). Pridá sa DCC (1,4 mmol) nasledovaný HOAt (190 mg, 1,4 mmol). Zlúčenina v (260 mg, 1,4 mmol) sa potom pridá v dichlórmetáne (3 ml). Výsledná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi etylacetátom, filtruje sa cez silikagél a koncentruje. Rezíduum sa čistí v zmesi 50 % etylacetát/hexán kvôli získaniu 440 mg (80 %) zlúčeniny lxxxxi,



Zlúčenina lxxxxii

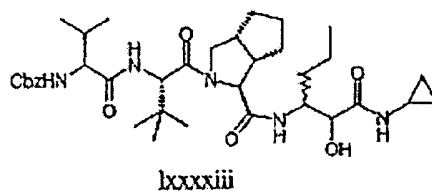
Zlúčenina lxxxxi sa hydrolyzuje za štandardných podmienok použitím etylalkoholu (0,3 M) a 1 N NaOH (1,5 ekv.) kvôli získaniu 390 mg zlúčeniny lxxxxii,



Príklad medziproduktu 90

Zlúčenina lxxxiii

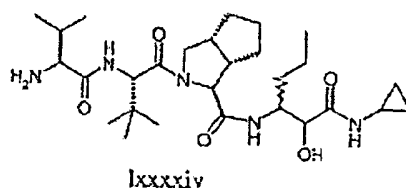
Zlúčenina lxxxii (350 mg, 0,7 mmol) sa vyberie v dichlórmétáne (3 ml). Pridá sa PyBOP (480 mg, 0,91 mmol) nasledovaný zlúčeninou xiii (170 mg, 0,91 mmol). Pridá sa DIPEA (0,16 ml, 0,91 mmol) a reakčná zmes sa mieša cez noc. Reakčná zmes sa koncentruje a čistí sa v 100 % etylacetátu kvôli získaniu 420 mg (90 %) zlúčeniny lxxxiii,



Príklad medziproduktu 91

Zlúčenina lxxxiv

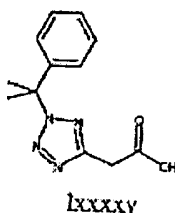
Zlúčenina lxxxiii sa hydrogenuje použitím 10 % P/C (1 % mol) v metylalkohole pod vodíkovou atmosférou kvôli získaniu 335 mg (100 %) zlúčeniny lxxxiv,



Príklad medziproduktu 92

Zlúčenina lxxxv

Etyl-1H-tetrazol-5-acetát (5 g, 32 mmol) sa vyberie v chloroforme (80 ml). Pridá sa trichlóroctová kyselina (12,03 g, 73,65 mmol) nasledovaná α -metylstyénom (3,78 g, 32 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc. Nasledujúci deň sa roztok zriedi etylacetátom, premýva 10 % KOH a soľným roztokom. Organická fáza sa suší nad síranom horečnatým, filtruje a koncentruje kvôli získaniu 8 g (96 %) zodpovedajúceho N-chráneného etyl-tetrazol-5-acetátu. Tento materiál sa vystaví štandardným podmienkam hydrolýzy použitím etylalkoholu (0,3 M) a 1 N NaOH (3 ekv.) kvôli získaniu 7 g (99 %) zlúčeniny lxxxv,

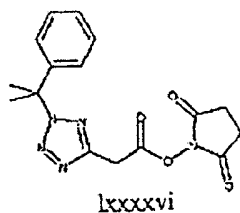


Príklad medziproduktu 93

Zlúčenina lxxxvi

Zlúčenina lxxxv (3,62 g, 14,7 mmol) sa vyberie v dichlórmétáne (50 ml). Pridajú sa EDCI (4,32 g, 22,1 mmol) a DIPEA (5,1 ml, 29,4 mmol) a miešajú sa päť minút. Pridá sa N-hydroxysukcínimid (3,38 g, 29,4 mmol) a mieša sa tri

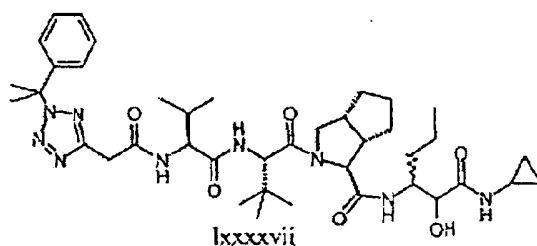
hodiny. Reakčná zmes sa zriedi dichlórmetánom a premýva trikrát vodou. Organická fáza sa suší nad síranom sodným, filtruje a koncentruje kvôli získaniu 3,66 g (73 %) zlúčeniny lxxxxvi,



Príklad medziproduktu 94

Zlúčenina lxxxxvii

Zlúčenina lxxxxiv (335 mg, 0,62 mmol) a zlúčenina lxxxxvi (343 mg, 1 mmol) sa vyberú v dichlórmetáne (6 ml). Pridá sa DIPEA (0,17 ml, 1 mmol) a reakčná zmes sa mieša cez noc. Reakčná zmes sa zriedi etylacetátom, premýva nasýteným hydrogénuhličitanom sodným, soľným roztokom a koncentruje. Rezíduum sa čistí v 5 % zmesi etylalkohol/etylacetát kvôli získaniu 80 mg (16 %) zlúčeniny lxxxxvii,

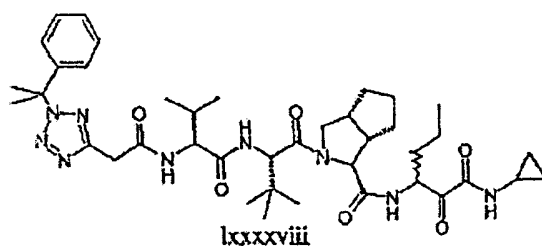


Príklad medziproduktu 95

Zlúčenina lxxxxviii

Zlúčenina lxxxxvii (80 mg, 0,11 mmol) sa vyberie v dichlórmetáne (3 ml). Pridá sa činidlo DMP (55 mg, 0,13 mmol) a mieša sa jednu hodinu. Reakčná

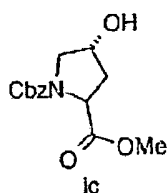
zmes sa zriedi etylacetátom a reakcia sa zastaví pridaním 10 % roztoku siričitanu sodného. Organická fáza sa premýva nasýteným hydrogénuhličitanom sodným a soľným roztokom. Organická fáza sa koncentruje a vzniknuté rezíduum sa čistí v 100 % etylacetátu kvôli získaniu 40 mg (48 %) zlúčeniny lxxxxviii,



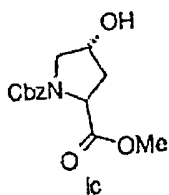
Príklad medziproduktu 96

Zlúčenina xxxix

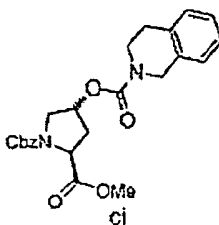
Zlúčenina ic, N-Cbz-4-hydroxy Pro metylester (2,1 g, 7,9 mmol) sa pripraví



s kvantitatívnym výťažkom zo zlúčeniny c, N-Cbz-4-hydroxy Pro)), sa rozpustí v DCM (25 ml). Do roztoku sa pridávajú CDI



(1,54 g, 9,5 mmol) a DIPEA (1,7 ml, 9,5 mmol) a miešajú sa počas 10 minút. 1,2,3,4-tetrahydroizochinolín (TIQ) (1,2 ml, 9,5 mmol) sa pridá po kvapkách do reakčnej zmesi a mieša päť hodín. Organická fáza sa premýva vodou, 1 N HCl a soľným roztokom. Po koncentrácii troch organických fáz sa výsledné rezíduum chromatograficky čistí zmesou 40 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny ci, N-Cbz-4-TIQ-karbonyloxy-Pro, metylester (2,5 g, 75 %).

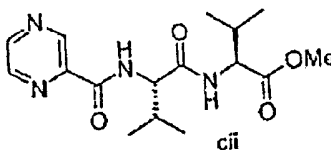


Zlúčenina ci (2,5 g, 5,9 mmol) sa rozpustí v MeOH (75 ml). Roztok sa prefukuje N_2 a pridá sa Pd/C (10 %, 300 mg). Reakčná zmes sa prefukuje H_2 a mieša sa cez noc. Reakčná zmes sa filtruje cez Celit a koncentruje kvôli získaniu zlúčeniny xxxix, 4-(TIQ-karbonyloxy)-Pro, metylesteru (1,49 g, 83 %).

Príklad medziproduktu 97

Zlúčenina vii

Zlúčenina cii, N-pyrazín-2-ylkarbonyl-Val-Val metylester (10,9 g, 32,4 mmol)

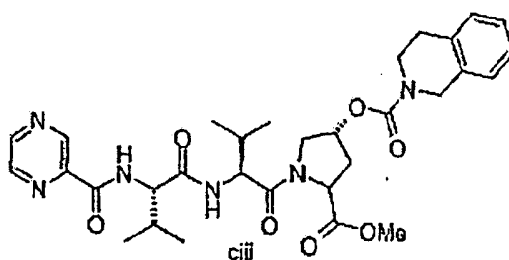


sa rozpustí v THF (80 ml) a potom sa pridá vodný NaOH (48,6 ml, 48,6 mmol). Výsledná zmes sa mieša 48 hodín a potom sa pridá ďalší NaOH (16,3 ml, 16,3 mmol) a zmes sa zahrieva na 40 °C tri hodiny. pH reakčnej zmesi sa potom zníži na 3 a vodná fáza sa extrahuje EtOAc a potom koncentruje kvôli získaniu surovej zlúčeniny vii, kyseliny N-pyrazín-2-ylkarbonyl-Val-Val (10,6 g, 100 %).

Príklad medziproduktu 98

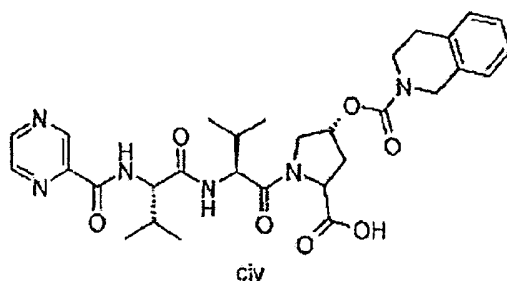
Zlúčenina ciii

Zlúčenina cii (4,1 g, 12,7 mmol) sa rozpustí v DCM (20 ml). Do tohto roztoku sa pridajú HOAt (1,73 g, 12,7 mmol) a DCC (12,7 mmol) a roztok sa mieša jednu hodinu. Zlúčenina xxxix (3,22 g, 10,6 mmol) sa pridá do reakčnej zmesi v DCM (10 ml). Výsledná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa filtruje cez silikagél a koncentruje sa. Výsledné rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (gradient 50 % až 80 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny ciii, metylesteru kyseliny N-pyrazín-2-ylkarbonyl-Val-Val-4-(TIQ-karbonyloxy)-Pro (5,27 g, 81,7 %).

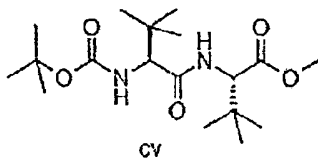


Príklad medziproduktu 99**Zlúčenina cív**

Zlúčenina ciii (650 mg, 1,29 mmol) sa rozpustí v THF (5 ml). Do roztoku sa pridá vodný NaOH (1,42 ml, 1,42 mmol) a potom mieša cez noc. pH roztoku sa zníži na 3 a organická fáza sa izoluje a koncentruje kvôli získaniu rezídua. Rezíduum sa čistí použitím HPLC s obrátenými fázami v zmesi acetonitril/voda kvôli získaniu zlúčeniny cív, kyseliny N-pyrazín-2-ylkarbonyl-Val-Val-4-(TIQ-karbonyloxy)-Pro (600 mg, 95 %).

**Príklad medziproduktu 100****Zlúčenina cv**

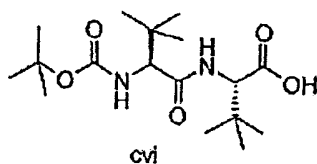
N-Boc-L-terc-leucín (2,3 g, 10 mmol) a hydrochlorid metylesteru L-terc-leucínu (2 g, 11 mmol) sa skombinujú v DMF (30 ml). Potom sa do roztoku pridá HOAt (1,6 g, 11,5 mmol). Výsledná zmes sa mieša počas 20 minút pod dusíkovou atmosférou a potom sa teplota zníži na 0 °C a potom sa pridajú DIC (1,8 ml, 11,5 mmol) a 2,4,6-kolidín (1,45 ml, 11 mmol). Výsledný roztok sa mieša cez noc za zahrievania na teplotu okolia. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc a organická fáza sa premýva 1 N HCl, nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa výsledné rezíduum chromatograficky čistí gradientom zmesi 20 % - 30 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny cv (3,3 g, 92 %).



Príklad medziproduktu 101

Zlúčenina cvi

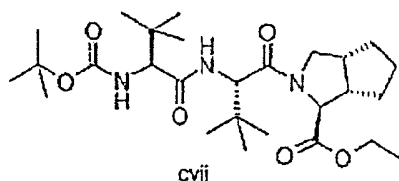
Zlúčenina cv (3,3 g, 9,2 mmol) sa hydrolyzuje použitím dioxánu (40 ml) a 0,5 N NaOH (37 ml, 18,4 mmol) kvôli získaniu zlúčeniny cvi (2,9 g, 92 %).



Príklad medziproduktu 102

Zlúčenina cvii

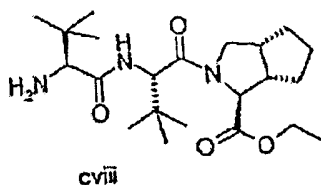
Zlúčenina cvi (2 g, 5,8 mmol) a zlúčenina v (1 g, 5,5 mmol) sa rozpustí v DMF (20 ml). Pridá sa HOAt (832 mg, 6,6 mmol) a DIC (1,1 ml, 6,6 mmol) sa potom pridajú do roztoku. Výsledný roztok sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc a organická fáza sa premýva 1 N HCl, nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa výsledné rezíduum chromatograficky čistí gradientom 20 % - 30 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny cvii (2,4 g, 81 %).



Príklad medziproduktu 103

Zlúčenina cviii

Zlúčenina **cvii** (2,4 g, 4,72 mmol) sa rozpustí v DCM (10 ml). Do roztoku sa pridá TFA (10 ml). Výsledný roztok sa mieša počas 4 hodín. Reakčná zmes sa koncentruje, rozpustí v EtOAc a potom sa organická fáza premýva 1 N NaOH a soľným roztokom. Organická fáza sa koncentruje kvôli získaniu zlúčeniny **cviii** (1,084 g, 56,1 %).

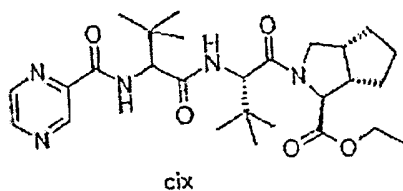


Príklad medziproduktu 104

Zlúčenina cix

2-pyrazínkarboxylová kyselina (181 mg, 1,46 mmol) a zlúčenina **cviii** (541 mg, 1,325 mmol) sa rozpustí v DMF (15 ml). Do roztoku sa pridajú HOAt (207 mg, 1,52 mmol) a DIC (0,24 ml, 1,52 mmol). Výsledný roztok sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc a organická fáza sa premýva 1 N HCl, nasýteným NaHCO_3 a soľným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa výsledné rezíduum chromatograficky čistí gradientom 20 % - 30 % - 35 % zmesi EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny **cix**.

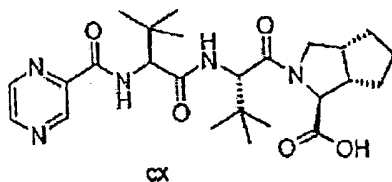
(430 mg, 63 %).



Príklad medziproduktu 105

Zlúčenina **cx**

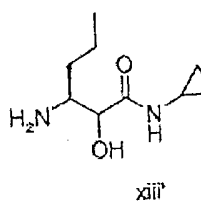
Zlúčenina **cix** sa hydrolyzuje použitím EtOH (7 ml) a 1 N NaOH (4,7 ml, 4,7 mmol) kvôli získaniu zlúčeniny **cx** (700 mg, 91,6 %).



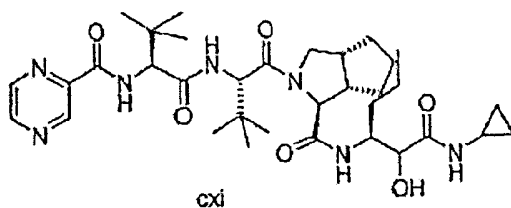
Príklad medziproduktu 106

Zlúčenina **cxi**

Zlúčenina **cx** (690 mg, 1,42 mmol) sa rozpustí v DCM (9 ml). Do roztoku sa potom pridá PyBOP (890 mg, 1,7 mmol) s následnou adíciou zlúčeniny **xiii'** (320 mg, 1,7 mmol).



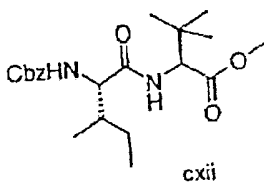
Do výslednej zmesi sa pridá DIPEA (0,3 ml, 1,7 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa potom zriedi pomocou EtOAc, premýva nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa výsledné rezíduum chromatograficky čistí pomocou 100 % EtOAc kvôli získaniu zlúčeniny cxi (490 mg, 52,7 %).



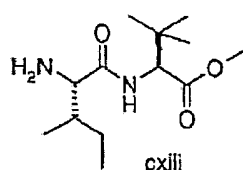
Príklad medziproduktu 107

Zlúčenina cxiv

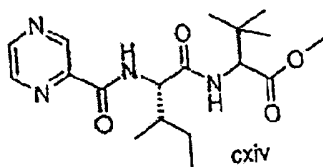
Zlúčenina cxii (1,2 g, 3,06 mmol) sa rozpustí v MeOH (12 ml). Po dôkladnom prepáchnutí N₂ sa pridá 10 % hmotn.



$\text{Pd}(\text{OH})_2$ na uhlí (0,6 g) a zmes sa hydrogenuje cez noc, potom sa skončenie reakcie v zmesi preukáže pomocou TLC (30 % EtOAc/hexán). Roztok sa oddelí od pevného materiálu filtráciou a koncentruje na zodpovedajúcu ochrany zbavenú zlúčeninu cxiii vo forme bezfarebného oleja (100 %), ktorá sa použije v ďalšom kroku bez ďalšieho čistenia.



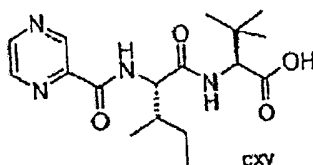
2-pyrazínkarboxylová kyselina (400 mg, 3,2 mmol, 1,1 ekv.) sa rozpustí v DCM/THF (4 ml/4 ml) a potom sa pridajú HOAt (440 mg, 3,2 mmol) a DCC (343 ml, 1 M v DCM). Po miešaní za teploty okolia počas 20 minút sa zlúčenina cxiii (0,96 g, 3,2 mmol), získaná prv, rozpustí v DCM (6,4 ml) a pridá sa do aktivovanej zmesi. Po miešaní cez noc za teploty okolia sa reakčná zmes filtruje cez Celit a zlúčenina cxiv sa čistí kolónovou chromatografiou (30 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu bielej pevnej látky (0,8 g, 80 %).



Príklad medziproduktu 108**Zlúčenina cxv**

Zlúčenina cxiv (0,8 g, 2,2 mmol) sa rozpustí v MeOH (10 ml) a potom sa pridá 2 N NaOH (vodný) (3,3 ml, 6,6 mmol). Roztok sa mieša za teploty okolia cez noc, potom sa skončenie reakcie v zmesi indikuje pomocou TLC (50 % EtOAc/ hexán).

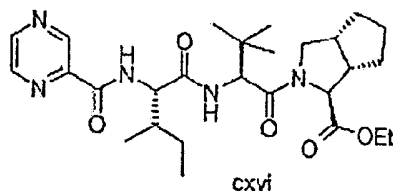
Okyslenie na pH 3 pomocou 5 N HCl a zriedenie pomocou EtOAc nasleduje extrakcia organickej fázy. Extrahovaná organická fáza sa premýva soľným roztokom a suší sa nad MgSO₄ kvôli získaniu zlúčeniny cxv (0,74, 95 %) po koncentrácii.

**Príklad medziproduktu 109****Zlúčenina cxvi**

Do DCM roztoku (6 ml) zlúčeniny cxv (0,74 g, 2,1 mmol) sa za teploty okolia pridá HOAt (290 mg, 2,1 mmol) s následnou adíciou roztoku 1 M DCC v DCM (2,2 ml, 2,2 mmol). Po miešaní počas 30 minút za teploty okolia sa pridá do vyššie uvedenej HOAt-aktivovanej kyseliny THF roztok (10,5 ml, 0,2 M) zlúčeniny v (2,1 mmol).

Reakčná zmes sa mieša za teploty okolia cez noc. V tomto okamihu sa reakčná zmes filtruje cez Celit. Filtrát sa zriedi pomocou EtOAc (120 ml) a premýva vodou a soľným roztokom. Organická fáza sa suší a koncentruje na žltý olej, ktorý sa čistí chromatografiou na silikagéli (50 % EtOAc/hexán) kvôli

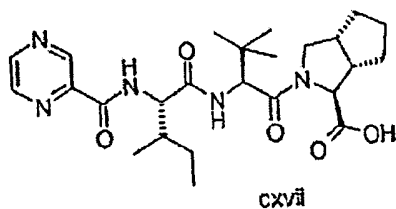
získaniu zlúčeniny cxvi (0,714 g, 66 %).



Príklad medziproduktu 110

Zlúčenina cxvii

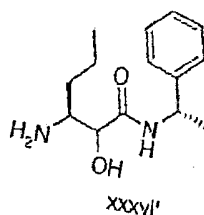
Do EtOH roztoku zlúčeniny cxvi (0,7 g, 1,4 mmol) sa pridá 2 N NaOH vodný roztok (2 ml, 4 mmoly). Reakčná zmes sa mieša cez noc za teploty okolia, potom sa okyslí na pH 3 pridaním 5 N HCl a zriedenie pomocou EtOAc nasleduje extrakcia organickej fázy. Extrahovaná organická fáza sa premýva soľným roztokom a suší sa nad MgSO_4 kvôli získaniu zlúčeniny cxvii (95 %) po koncentrácii.



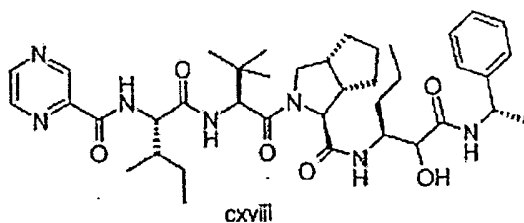
Príklad medziproduktu 111

Zlúčenina cxviii

Do DCM/THF roztoku (10 ml/2 ml) zlúčeniny cvii (300 mg, 0,6 mmol) sa pridá PyBOP (416 mg, 0,8 mmol). Roztok sa mieša za teploty okolia počas 30 minút. Do tohto roztoku sa potom pridá zlúčenina xxxvi' (200 mg, 0,8 mmol),



nasledovaná DIPEA (0,22 ml, 1,2 mmol). Reakčná zmes sa mieša za teploty okolia cez noc a potom sa reakcia zastaví vodou (25 ml) počas 30 minút. Zmes sa potom extrahuje použitím EtOAc. Výsledná organická fáza sa premýva soľným roztokom a suší nad MgSO₄ pred koncentráciou kvôli získaniu žltého oleja. Čistenie chromatografiou na silikagéli (3 - 5 % EtOH/EtOAc) poskytne zlúčeninu cxviii (335 mg, 76 %).

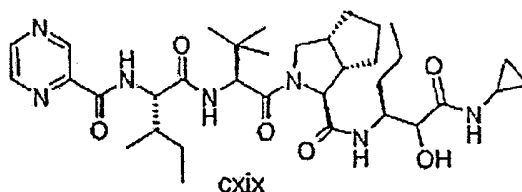


Príklad medziproduktu 112

Zlúčenina cxix

Do DCM roztoku (10 ml) zlúčeniny cxvii (340 mg, 0,6 mmol) sa pridá PyBOP (470 mg, 0,9 mmol). Roztok sa mieša za teploty okolia počas 30 minút. Do tohto roztoku sa potom pridá zlúčenina xiii' (170 mg, 0,9 mmol), nasledovaná DIPEA (0,24 ml, 1,2 mmol). Reakčná zmes sa mieša za teploty okolia cez noc a potom sa reakcia zastaví vodou (25 ml) počas 30 minút. Zmes sa potom extrahuje pomocou EtOAc. Výsledná organická fáza sa premýva

soľným roztokom a suší sa nad MgSO_4 pred koncentráciou na žltý olej. Čistenie chromatografiou na silikagéli (3 - 5 % EtOH/EtOAc) poskytne zlúčeninu cxix (164 mg, 36 %).



Príklad medziproduktu 113

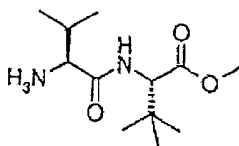
Zlúčenina xx

N-Cbz-L-valín (6,28 g, 25 mmol) sa rozpustí v DCM (30 ml). Do tohto roztoku sa pridajú HOBt (3,38 g, 25 mmol) a DCC (25 ml, 1 M roztok) a miešajú sa päť minút. Do tejto zmesi sa pridá hydrochlorid metylesteru L-terc-leucínu (25 ml, 1 M roztok) a mieša sa cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc, premýva 1 N HCl, nasýteným NaHCO_3 a soľným roztokom. Organická fáza sa suší nad Na_2SO_4 , filtruje a koncentruje. Rezíduum sa chromatograficky čistí zmesou 20 % - 30 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny xx (2,96 g, 31 %).

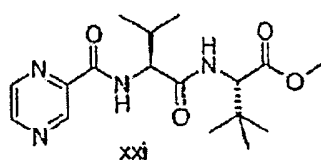
Príklad medziproduktu 114

Zlúčenina xxi

Zlúčenina xx (2,95 g, 7,8 mmol) sa hydrogenuje použitím 10 % Pd/C (800 mg) v MeOH (40 ml) pod vodíkovou atmosférou kvôli získaniu ďalej uvedeného zodpovedajúceho voľného amínu (1,9 g, 100 %).



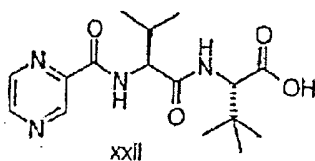
2-pyrazínkarboxylová kyselina (970 mg, 7,8 mmol) sa rozpustí v DCM (20 ml). Do tohto roztoku sa pridá PyBOP (4,06 g, 7,8 mmol). Voľný amín (1,9 g, 7,8 mmol) v DCM (15 ml) sa pridá do roztoku a potom sa pridá DIPEA (1,36 ml, 7,8 mmol). Výsledná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc a organická fáza sa premýva nasýteným NaHCO_3 a soľným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa rezíduum chromatograficky čistí zmesou 30 % - 40 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny xxi (2,07 g, 75,8 %).



Príklad medziproduktu 115

Zlúčenina xxii

Zlúčenina xxi sa hydrolyzuje použitím MeOH (20 ml) a 1 N NaOH (3 ekv.) kvôli získaniu zlúčeniny xxii (1,82 g, 93,9 %).



Príklad medziproduktu 116

Zlúčenina xxiii

Zlúčenina xxii (895 mg, 2,66 mmol) sa rozpustí v DCM (10 ml). Do roztoku sa pridá DCC (3,2 mmol) a potom sa pridá HOAt (435 mg, 3,2 mmol). Potom sa pridá zlúčenina v (3,2 mmol) v THF (16 ml). Výsledná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc, filtruje cez silikagél a koncentruje. Výsledné rezíduum sa chromatograficky čistí zmesou 50 % EtOAc/ hexán kvôli získaniu zlúčeniny xxiii (730 mg, 54,8 %).

Príklad medziproduktu 117

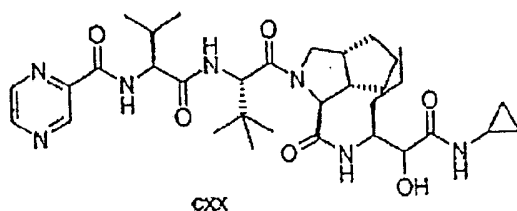
Zlúčenina xxiv

Zlúčenina xxiii sa hydrolyzuje použitím EtOH (5 ml) a 1 N NaOH (1,5 ekv.) kvôli získaniu zlúčeniny xxiv (690 mg, 100 %).

Príklad medziproduktu 118

Zlúčenina cxx

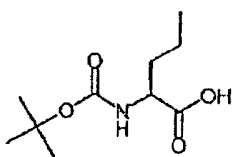
Zlúčenina xxiv (245 mg, 0,52 mmol) sa rozpustí v DCM (3 ml). Do roztoku sa pridá PyBOP (330 mg, 0,62 mmol) a potom sa pridá zlúčenina xiii' (120 mg, 0,62 mmol). Do výslednej zmesi sa pridá DIPEA (0,11 ml, 0,62 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc a organická fáza sa premýva nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa rezíduum chromatograficky čistí zmesou 5 % EtOH/EtOAc kvôli získaniu zlúčeniny cxx (220 mg, 60 %).



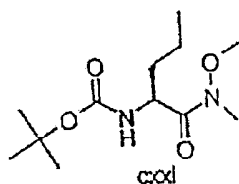
Príklad medziproduktu 119

Zlúčenina xiii'

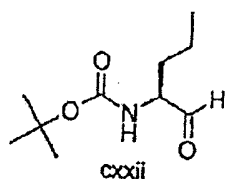
Boc-NVA-OH (24,96 g, 114,9 mmol) sa rozpustí v THF (200 ml). CDI (22,35, 137,8 mmol) sa pridá po častiach do



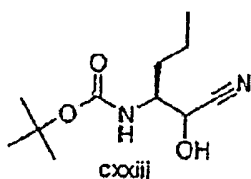
roztoku a roztok sa mieša počas 30 minút. Hydrochlorid N,O-dimetylhydroxylamínu (12,33 g, 126,4 mmol) sa rozpustí v DMF (50 ml) a potom sa pridá do roztoku DIPEA (22 ml, 126,4 mmol). DMF roztok sa nechá za miešania za teploty okolia počas 20 minút a potom sa pridá do THF roztoku. Výsledná zmes sa mieša cez víkend pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa koncentruje vo vákuu na celkový objem 100 ml. Táto organická fáza sa premýva 1 N HCl, nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Organická fáza sa koncentruje kvôli získaniu surovej zlúčeniny cxxi (25,3 g).



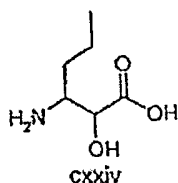
Do suchej jednolitrovej guľatej banky sa pridá pod dusíkovou atmosférou LAH (107,3 mmol) v 1 M Et₂O roztoku. Tento roztok sa ochladí na 0 °C a potom sa pridá po kvapkách zlúčenina cxi (97,5 mmol) v Et₂O (100 ml). Po skončení pridávania sa výsledná zmes mieša počas 30 minút. Reakcia sa zastaví za teploty 0 °C pomalým pridaním EtOAc (50 ml), nasledovaným pomalým pridaním 5 % KHSO₄ (50 ml) roztoku. Táto zmes sa mieša počas 30 minút. Organická fáza sa premýva 1 N HCl, nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Organická fáza sa koncentruje kvôli získaniu surovej zlúčeniny cxii (22,28 g).



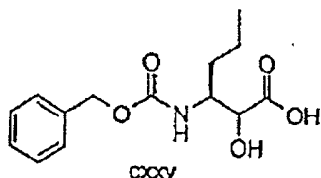
Zlúčenina cxii sa rozpustí v MeOH (100 ml). Na₂S₂O₄ (16,82 g, 96,6 mmol) sa rozpustí vo vode (100 ml) a potom pridá do roztoku zlúčeniny cxii za teploty 0 °C. Táto zmes sa uchováva v chladničke (5 °C) cez noc. Do reakčnej zmesi sa pridá KCN (7,53 g, 115,9 mmol) vo vode (100 ml) a mieša počas 1,5 hodiny za teploty okolia. Zlúčenina sa extrahuje pomocou EtOAc (3 x 100 ml). Organická fáza sa premýva soľným roztokom (3 x 50 ml), suší sa nad MgSO₄, filtruje a koncentruje kvôli získaniu surovej zlúčeniny cxiii (15,86 g).



Zlúčenina cxxiii (15,86 g) sa rozpustí v dioxáne (100 ml). Do tohto roztoku sa pridá koncentrovaný HCl (37 %, 100 ml), nasledovaný anizolom (10 ml) a zahrieva sa na teplotu spätného toku (110 °C). Reakčná zmes sa mieša počas 1,5 hodiny. Keď sa reakčná zmes ochladí na teplotu okolia, rozpúšťadlo sa odstráni vo vákuu kvôli získaniu bezvodnej pasty. Rezíduum sa suší cez noc za vysokého vákua kvôli získaniu surovej zlúčeniny cxxiv.

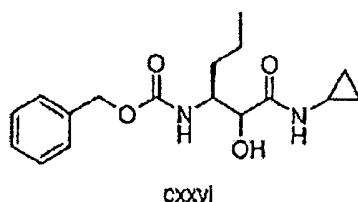


Zlúčenina cxxiv (69,6 mmol) sa rozpustí v DMF (60 ml) a THF (60 ml). Do zmesi sa pridá N-(benzyloxykarbonyloxy)sukcinimid (17,33 g, 69,6 mmol) s následnou adíciou DIPEA (12,1 ml, 69,6 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Zmes sa koncentruje na znížený objem (50 ml) a zriedi sa EtOAc. Organická fáza sa premýva 0,1 N HCl (2 x 10 ml) a soľným roztokom kvôli získaniu zlúčeniny cxxv (17,5 g, 54,2 % v piatich krokoch).

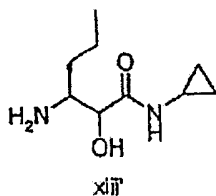


Zlúčenina cxxv (5,66 g, 20,14 mmol) sa rozpustí v DCM (60 ml). Do tohto roztoku sa pridajú PyBOP (12,57 g, 24,2 mmol) a HOBT (3,27 g, 24,2 mmol) a miešajú sa päť minút.

Výsledná zmes sa ochladí na teplotu 0 °C a potom sa pridajú cyklopropylamín (1,67 ml, 24,2 mmol) a DIPEA (4,2 ml, 24,2 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc za zahriatia na teplotu okolia. Reakčná zmes sa premýva 0,1 N HCl, nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Organická fáza sa potom koncentruje a chromatograficky čistí zmesou 70 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny cxxvi (3,18 g, 49,3 %).



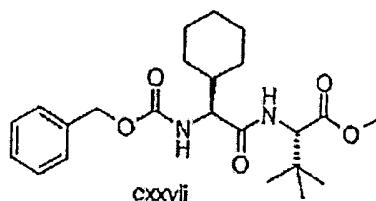
Zlúčenina cxxvi (3,18 g, 9,94 mmol) sa hydrogenuje použitím 10 % Pd/C (600 mg) v MeOH (70 ml). Reakčná zmes sa mieša cez noc pod vodíkovou atmosférou, filtruje cez Celit a koncentruje kvôli získaniu surovej zlúčeniny xiii' (2,1 g, 100 %).



Príklad medziproduktu 120

Zlúčenina cxxvii

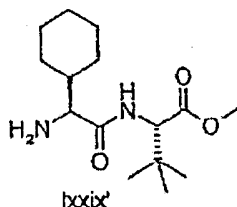
N-Cbz-L-cyklohexylglycín (3 g, 10,3 mmol) sa rozpustí v DCM (36 ml). Do tohto roztoku sa pridajú HOAt (1,5 g, 11,28 mmol) a DCC (11,28 ml, 11,28 mmol) a miešajú sa päť minút. Hydrochlorid metylesteru L-terc-leucínu (103 ml, 1 M roztok, 10,3 mmol) sa pridá do tejto zmesi a mieša sa cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa filtruje cez Celit, preplachuje EtOAc a koncentruje na rezíduum, ktoré sa čistí chromatograficky zmesou 20 % - 30 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny cxxvii (2,2 g, 52 %).



Príklad medziproduktu 121

Zlúčenina lxxix'

Zlúčenina cxxvii (2,2 g, 5,2 mmol) sa hydrogenuje použitím 20 % Pd(OH)₂/C (1 g) v MeOH (15 ml) pod vodíkovou atmosférou kvôli získaniu zlúčeniny lxxix' (1,4 g, 98 %).



Príklad medziproduktu 122

Zlúčenina lxxx

2-pyrazínkarboxylová kyselina (360 mg, 2,9 mmol) sa rozpustí v DCM (10 ml). Do roztoku sa pridá PyBOP (1,81 g, 3,5 mmol). Do roztoku sa potom pridá zlúčenina lxxix' (825 mg, 2,9 mmol) v THF (10 ml) s následnou adíciou DIPEA (0,5 ml, 2,9 mmol). Výsledná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc a organická fáza sa premýva nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Rezíduum vzniknuté koncentráciou organickej fázy sa chromatograficky čistí zmesou 30 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny lxxx (780 mg, 69 %).

Príklad medziproduktu 123**Zlúčenina lxxxi**

Zlúčenina lxxx sa hydrolyzuje použitím MeOH (10 ml) a 1 N NaOH (3 ekv.) kvôli získaniu zlúčeniny lxxxi (615 mg, 81,8 %).

Príklad medziproduktu 124**Zlúčenina lxxxii**

Zlúčenina lxxxi (610 mg, 1,6 mmol) sa rozpustí v DCM (10 ml). Do roztoku sa potom pridá DCC (1,94 ml, 1,94 mmol) s následnou adíciou HOAt (270 mg, 1,94 mmol). Do roztoku sa potom pridá zlúčenina v (1,94 mmol) v THF (19,4 ml). Výsledná zmes sa mieša dve noci pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc, filtruje cez silikagél a koncentruje. Výsledné rezíduum sa čistí chromatograficky zmesou 40 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny lxxxii (450 mg, 83,4 %).

Príklad medziproduktu 125**Zlúčenina lxxxiii**

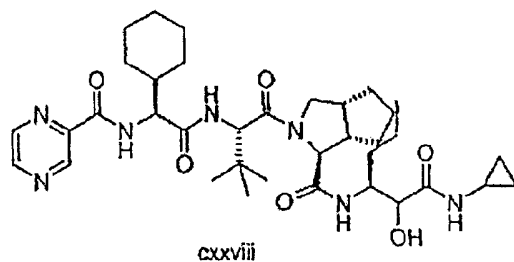
Zlúčenina lxxxi sa hydrolyzuje použitím EtOH (10 ml) a 1 N NaOH (3

ekv.) kvôli získaniu zlúčeniny lxxxiii (650 mg, 99 %).

Príklad medziproduktu 126

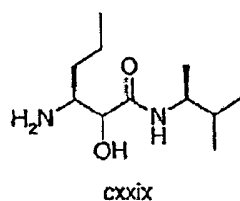
Zlúčenina cxxviii

Zlúčenina lxxxiii (400 mg, 0,78 mmol) sa rozpustí v DCM (5 ml). Do roztoku sa pridá PyBOP (610 mg, 1,2 mmol), nasledovaný zlúčeninou xiii' (230 mg, 1,2 mmol). Do výslednej zmesi sa pridá DIPEA (0,2 ml, 1,2 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc a organická fáza sa premýva nasýteným NaHCO_3 a soľným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa rezíduum chromatograficky čistí pomocou gradientu 100 % EtOAc až 5 % EtOH/EtOAc kvôli získaniu zlúčeniny cxxviii (365 mg, 68,7 %).

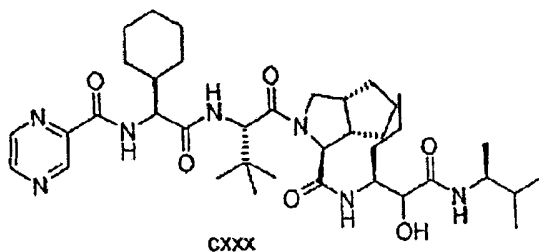


Príklad medziproduktu 127**Zlúčenina cxxx**

Zlúčenina lxxxiii (365 mg, 0,7 mmol) sa rozpustí v DCM (5 ml). Do roztoku sa pridá PyBOP (440 mg, 0,84 mmol) s následnou adíciou zlúčeniny cxxix (0,84 mmol)

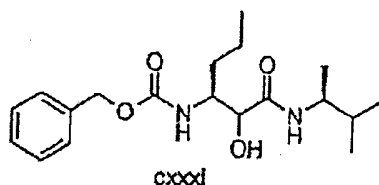


v THF (8,4 ml). Do výslednej zmesi sa pridá DIPEA (0,1 ml, 0,84 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc a organická fáza sa premýva nasýteným NaHCO_3 a soľným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa výsledné rezíduum chromatograficky čistí pomocou 100 % EtOAc kvôli získaniu zlúčeniny cxxx (350 mg, 70 %).

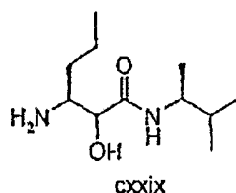


Príklad medziproduktu 128**Zlúčenina cxxxi**

Zlúčenina cxxv (2,54 g, 9,05 mmol) sa rozpustí v DCM (30 ml). PyBOP (5,65 g, 10,9 mmol) a HOBT (1,47 g, 10,9 mmol) sa pridajú do roztoku, ktorý sa mieša päť minút. Výsledná zmes sa ochladí na teplotu 0 °C, potom sa pridajú (S)-(+)-3-metyl-2-butylamín (1,27 ml, 10,9 mmol) a DIPEA (1,9 ml, 10,9 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc za zahriatia na teplotu okolia. Organická fáza sa premýva 0,1 N HCl, nasýteným NaHCO₃ a solným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa výsledné rezíduum chromatograficky čistí zmesou 30 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny cxxxi (1,44 g, 45,5 %).

**Príklad medziproduktu 129****Zlúčenina cxxix**

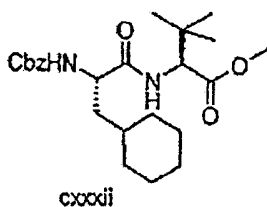
Zlúčenina cxxxi (1,3 g, 3,7 mmol) sa hydrogenuje použitím 10 % Pd/C (500 mg) v MeOH (40 ml). Reakčná zmes sa mieša cez noc pod vodíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa filtruje cez Celit a organická fáza sa koncentruje kvôli získaniu surovej zlúčeniny cxxix (800 mg, 100 %).



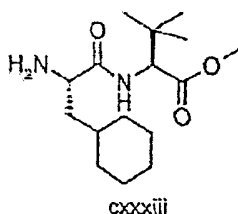
Príklad medziproduktu 130

Zlúčenina cxxxiv

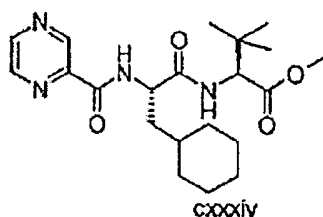
Zlúčenina cxxxii (1,6 g, 3,7 mmol) sa rozpustí v MeOH (12 ml). Po dôkladnom prepláchnutí N₂, sa pridá 10 % hmotn.



Pd(OH) na uhlí (0,74 g) a zmes sa hydrogenuje cez noc, potom sa skončenie reakcie v zmesi preukáže pomocou TLC (30 % EtOAc/hexán). Roztok sa izoluje od pevného materiálu filtráciou a koncentruje kvôli získaniu zlúčeniny cxxxiii vo forme bezfarebného oleja (100 %), ktorá sa používa v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.



2-pyrazínkarboxylová kyselina (400 mg, 3,2 mmol, 1,1 ekv.) sa rozpustí v DCM/THF (4 ml/4 ml) a potom sa pridajú HOAt (440 mg, 3,2 mmol) a DCC (3,3 ml, 1 M v DCM). Po miešaní pri teplote okolia počas 20 minút sa prv získaná zlúčenina cxxxiii (0,96 g, 3,2 mmol) rozpustí v DCM (6,4 ml) a pridá sa do aktivovanej zmesi. Po miešaní dva dni pri teplote okolia sa reakčná zmes filtruje cez Celit a koncentruje na rezíduum, ktoré sa čistí kolónovou chromatografiou (50 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny cxxxiv vo forme bielej pevnej látky (1,06 g, 83 %).

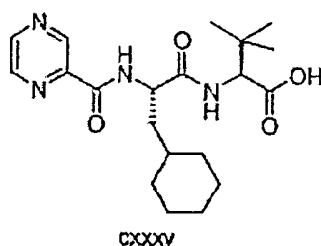


Príklad medziproduktu 131

Zlúčenina cxxxv

Zlúčenina cxxxiv (1,06 g, 2,6 mmol) sa rozpustí v MeOH (10 ml) a potom sa pridá 2 N NaOH (vodný) (4 ml, 8 mmol). Roztok sa mieša pri teplote okolia cez noc, potom sa skončenie hydrolýzy indikuje pomocou TLC (50 %

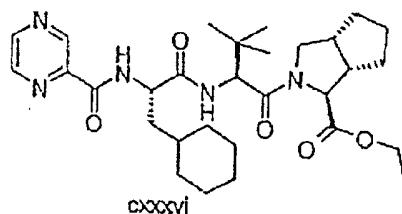
EtOAc/hexán). Roztok sa okyslí na pH 3 pridaním 5 N HCl, zriedi sa EtOAc a potom sa organická fáza extrahuje. Extrahovaná organická fáza sa premýva soľným roztokom a suší sa nad MgSO_4 kvôli získaniu zlúčeniny cxxxv (100 %) po koncentrácii.



Príklad medziproduktu 132

Zlúčenina cxxxvi

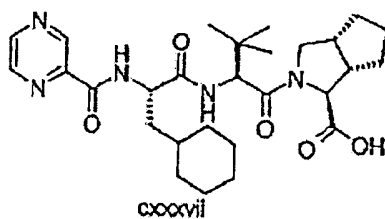
Do DCM roztoku (8 ml) zlúčeniny cxxxv (1,44 g, 3,7 mmol) sa pri teplote okolia pridá HOAt (500 mg, 3,7 mmol) a potom sa pridá 1 M DCC roztok v DCM (3,7 ml, 3,7 mmol). Po miešaní počas 30 minút pri teplote okolia sa do vyššie uvedenej HOAt-aktivovanej kyseliny pridá THF roztok (18,5 ml, 0,2 M) zlúčeniny v (3,7 mmol). Reakčná zmes sa mieša pri teplote okolia cez noc. Reakčná zmes sa filtruje cez Celit. Filtráty sa zriedia pomocou EtOAc (120 ml) a premývajú vodou a soľným roztokom. Organická fáza sa suší a koncentruje kvôli získaniu žltého oleja, ktorý sa čistí chromatografiou na silikagéli (70 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny cxxxvi (1 g, 71 %).



Príklad medziproduktu 133

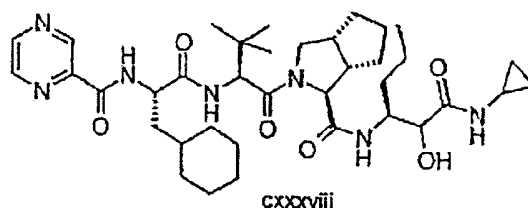
Zlúčenina cxxxvii

Do EtOH roztoku (8 ml) zlúčeniny cxxxvi (1 g, 1,8 mmol) sa pridá 2 N NaOH vodný roztok (2,7 ml, 5,4 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote okolia, potom sa okyslí na pH 3 pomocou 5 N HCl, zriedi EtOAc a potom sa organická fáza extrahuje. Extrahovaná organická fáza sa premýva solným roztokom a suší sa nad MgSO_4 kvôli získaniu zlúčeniny cxxxvii (88 %) po koncentrácii.

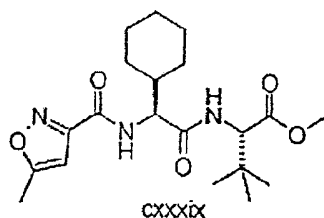


Príklad medziproduktu 133**Zlúčenina cxxxviii**

Do DCM roztoku (10 ml) zlúčeniny cxxxvii (350 mg, 0,6 mmol) sa pridá PyBOP (450 mg, 0,86 mmol). Roztok sa mieša pri teplote okolia počas 30 minút. Do tohto roztoku sa potom pridá zlúčenina xiii' (160 mg, 0,86 mmol) nasledovaná DIPEA (0,23 ml, 1,3 mmol). Reakčná zmes sa mieša pri teplote okolia cez noc a potom sa reakcia zastaví vodou (25 ml) počas 30 minút. Zmes sa potom extrahuje pomocou EtOAc. Extrahovaná organická fáza sa premýva soľným roztokom a suší sa nad MgSO_4 pred koncentráciou kvôli získaniu žltého oleja. Čistenie chromatografiou na silikagéli (5 % EtOH/EtOAc) poskytne zlúčeninu cxxxviii (407 mg, 88 %).

**Príklad medziproduktu 134****Zlúčenina cxxxix**

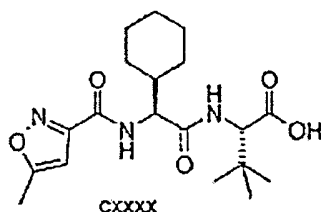
5-metylizoxazol-3-karboxylová kyselina (200 mg, 2,05 mmol) sa rozpustí v DCM (5 ml). Do roztoku sa pridá PyBOP (1,07 g, 2,05 mmol). Do roztoku sa pridá zlúčenina lxxix' (582 mg, 2,05 mmol) v DCM (5 ml) s následnou adíciou DIPEA (0,36 ml, 2,05 mmol). Výsledná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc a organická fáza sa premýva nasýteným NaHCO_3 a soľným roztokom. Organická fáza sa koncentruje a vzniknuté rezíduum sa čistí chromatograficky zmesou 30 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny cxxxix (495 mg, 61,4 %).



Príklad medziproduktu 135

Zlúčenina cxxxx

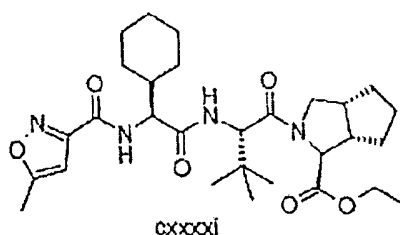
Zlúčenina cxxxix sa hydrolyzuje použitím MeOH (10 ml) a 1 N NaOH (3 ekv.) kvôli získaniu zlúčeniny cxxxx (430 mg, 90 %).



Príklad medziproduktu 136

Zlúčenina cxxxxi

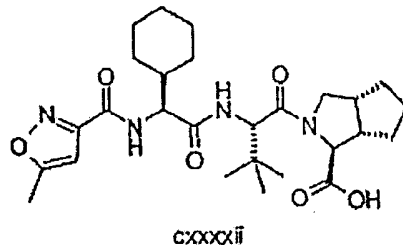
Zlúčenina cxxxx (380 mg, 1 mmol) sa rozpustí v DCM (5 ml). Do roztoku sa potom pridá DCC (1,2 mmol) s následnou adíciou HOAt (165 mg, 1,2 mmol). Zlúčenina v (1,2 mmol) sa potom pridá v THF (12 ml). Výsledná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc, filtruje sa cez silikagél a koncentruje. Vzniknuté rezíduum sa chromatograficky čistí zmesou 35 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny cxxxxi (320 mg, 58 %).



Príklad medziproduktu 137

Zlúčenina cxxxxii

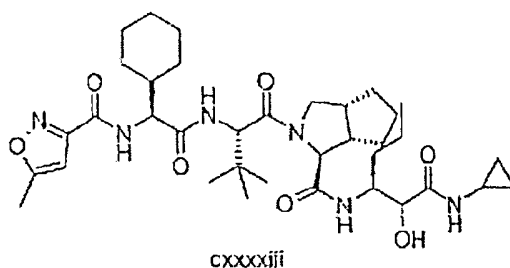
Zlúčenina cxxxix sa hydrolyzuje použitím EtOH (10 ml) a 1 N NaOH (3 ekv.) kvôli získaniu zlúčeniny cxxxxii (730 mg, 94,3 %).



Príklad medziproduktu 138

Zlúčenina cxxxxiii

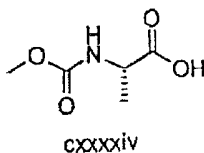
Zlúčenina cxxxxii (240 mg, 0,46 mmol) sa rozpustí v DCM (5 ml). Do roztoku sa potom pridá PyBOP (295 mg, 0,56 mmol) s následnou adíciou zlúčeniny xiii' (110 mg, 0,56 mmol). Do výslednej zmesi sa pridá DIPEA (0,1 ml, 0,56 mmol). Reakčná zmes sa mieša dve noci pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc, a organická fáza sa premýva nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Po koncentrácii organickej fázy sa výsledné rezíduum chromatograficky čistí zmesou 90 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny cxxxxiii (168 mg, 53 %).



Príklad medziproduktu 139

Zlúčenina cxxxxiv

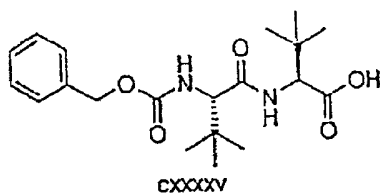
Do roztoku NaOH (2 N, 42,1 ml, 84,2 mmol) sa pri teplote 5 °C pridá L-alanín (5,00 g, 56,1 mmol). Po miešaní počas 10 minút sa pridajú súčasne po kvapkách metylchlórmravčan (6,5 ml, 84,2 mmol) a NaOH (2 N, 42,1 ml, 84,2 mmol). Roztok sa mieša v ľadovom kúpeli počas 2 hodín, potom pri teplote okolia 1 hodinu. Zmes sa premýva Et₂O (2 x 50 ml), vodná vrstva sa neutralizuje na pH 2 pridaním 5 N HCl a extrahuje sa pomocou EtOAc (3 x 50 ml). Extrahovaná organická fáza sa premýva soľným roztokom, suší nad MgSO₄ a koncentruje kvôli získaniu zlúčeniny cxxxxiv, N-karbometoxy-L-alanín (4,54 g, 54 %) vo forme bezfarebného oleja.



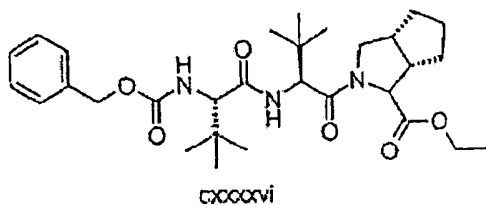
Príklad medziproduktu 140

Zlúčenina cxxxxvi

Roztok zlúčeniny cxxxxv (3,57 g, 9,44 mmol) v THF sa pri teplote 5 °C



spracováva pomocou HOAt (1,28 g, 9,44 mmol) a potom sa pridá DCC (9,50 ml, 9,50 mmol). Po miešaní v ľadovom kúpeli počas 45 minút sa pridá roztok zlúčeniny v (104 ml, 10,4 mmol) v THF. Zmes sa mieša pri teplote okolia cez noc. Zmes sa ochladí na teplotu 5 °C a reakcia sa zastaví nasýteným NaHCO₃. Po filtrácii kvôli odstráneniu precipitovaného DCU sa zmes rozpustí v EtOAc (100 ml), premýva nasýteným NaHCO₃, soľným roztokom a potom suší nad MgSO₄ a koncentruje na rezíduum čistené kolónovou chromatografiou na oxide kremičitom (25 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny cxxxxvi (2,91 g, 57 %) vo forme gumovitej peny.

**Príklad medziproduktu 141**

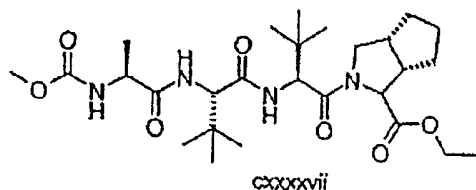
Zlúčenina cviii

Do roztoku zlúčeniny cxxxxvi v MeOH (25 ml), ochladenom v ľadovom kúpeli, sa pod prúdom N₂ pridá pomaly Pd/C. Zmes sa hydrogenuje za tlaku 1 atm. cez noc. Katalyzátor sa odstráni filtráciou, filtrát sa skombinuje s 5 ml DMF a suší vo vákuu kvôli získaniu zlúčeniny cviii.

Príklad medziproduktu 142

Zlúčenina cxxxxvii

Roztok zlúčeniny cxxxxiv (0,298 g, 2,03 mmol) a HOAt (0,276 g, 2,03 mmol) v THF, ochladený v ľadovom kúpeli, sa spracováva pomocou DCC (2,05 ml, 2,05 mmol). Po miešaní v ľadovom kúpeli počas 0,5 hodiny sa pridá roztok zlúčeniny cviii v THF a potom DIPEA (0,39 ml, 2,2 mmol). Zmes sa mieša pri teplote okolia cez noc, potom sa ochladí v ľadovom kúpeli a reakcia sa zastaví nasýteným NaHCO₃. Precipitovaný DCU sa filtruje a filtrát sa rozpustí v EtOAc (100 ml). Organická fáza sa premýva nasýteným NaHCO₃, solným roztokom a potom suší nad MgSO₄. Po odstránení organického rozpúšťadla sa rezíduum čistí kolónovou chromatografiou na oxide kremičitom (60 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny cxxxxvii (0,47 g, 48 %) vo forme gumovitej peny.

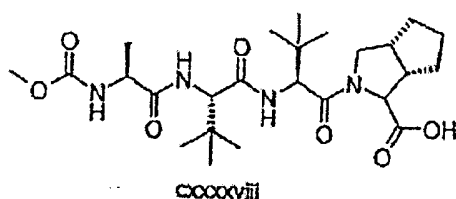


Príklad medziproduktu 143

Zlúčenina cxxxxviii

Do roztoku zlúčeniny cxxxxvii (0,47 g, 0,847 mmol) v EtOH (5 ml) sa pri teplote 5 °C pridá NaOH (2 N, 1,31 ml, 2,62 mmol). Zmes sa mieša pri teplote

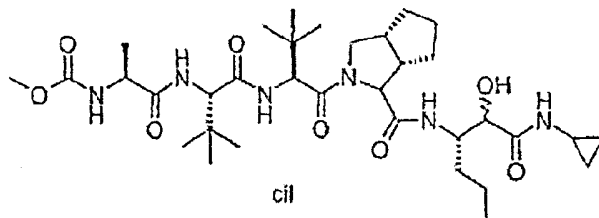
okolia počas 4 hodín. Roztok sa okyslí na pH 2 pridaním HCl (1 N) a EtOH sa odstráni rotačným odparením. Zmes sa extrahuje pomocou EtOAc (3 x 30 ml) a kombinovaný extrakt sa premýva solným roztokom a potom suší nad MgSO₄. Rozpúšťadlo sa odstráni a rezíduum sa suší vo vákuu kvôli získaniu zlúčeniny cxxxviii (0,366 g, 82 %) vo forme gumovitej peny.



Príklad medziproduktu 144

Zlúčenina cil

Roztok zlúčeniny cxxxviii (0,366 g, 0,718 mmol) v DCM sa ochladí v ľadovom kúpeli a spracováva PyBop (0,599 g, 1,15 mmol). Po miešaní pri teplote okolia počas 0,5 hodiny sa zmes ochladí ľadovým kúpeľom a spracováva roztokom zlúčeniny xiii' (0,200 g, 1,08 mmol) v THF a DIPEA (0,250 ml, 1,44 mmol). Zmes sa mieša pri teplote okolia cez noc a potom sa reakcia zastaví roztokom NH₄Cl. Rozpúšťadlo sa koncentruje a zmes sa rozpustí v EtOAc (100 ml). Organická fáza sa premýva nasýteným NaHCO₃, solným roztokom a potom suší nad MgSO₄. Po odstránení organického rozpúšťadla sa rezíduum čistí kolónovou chromatografiou (5 % EtOH/EtOAc) kvôli získaniu zlúčeniny cil (0,35 g, 72 %).



Príklad medziproduktu 145

Zlúčenina cxxi

Do THF roztoku (85 ml) N-Boc-Nva-OH (zlúčenina 1) (8,68 g, 40 mmol) sa pridá CDI (7,79 g, 48 mmol). Po miešaní pri teplote okolia počas 30 minút sa vyššie uvedený roztok spracováva roztokom DMF (25 ml) obsahujúcim hydrochlorid N,O-dimetyl-hydroxylamínu (4,25 g, 44 mmol) a DIPEA (7,66 ml, 44 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote okolia. Reakčná zmes sa potom koncentruje vo vákuu. Výsledné rezíduum sa zriedi EtOAc (300 ml). Tento roztok sa premýva postupne 0,1 N HCl (50 ml), nasýteným NaHCO₃ (3 x 50 ml) a soľným roztokom. Organická fáza sa koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (40 % EtOAc/hexán) na zlúčeninu cxxi (9,38 g, 94 %).

Príklad medziproduktu 146

Zlúčenina cxxii

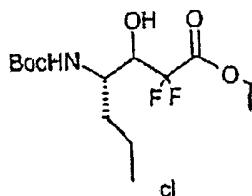
Do dietyl Et₂O roztoku (50 ml) zlúčeniny cxxi (9,38 g, 31,9 mmol), ochladeného na teplotu 0 °C, sa pridá (pomaly) LAH (34,7 ml, 1 M, 34,7 mmol). Teplota reakčnej banky sa udržiava pod 5 °C v priebehu pridávania LAH. Po skončení pridávania sa do reakčnej zmesi pridá EtOAc (20 ml) kvôli odstráneniu prebytku LAH. Vodný KHSO₄ (5 %, 20 ml) sa potom pridá po kvapkách kvôli udržaniu teploty pod 5 °C. Organická fáza sa separuje a potom premýva postupne 1 N HCl (3 x 30 ml), nasýteným NaHCO₃ (3 x 30 ml) a

soľným roztokom. Organická fáza sa koncentruje a suší vo vákuu kvôli získaniu surovej zlúčeniny cxxii (5,18 g, 69 %).

Príklad medziproduktu 147

Zlúčenina cl

Do THF (25 ml) suspenzie Zn (2,75 g, 42 mmol) sa pridá pri teplote spätného toku 0,2 ml $\text{EtOC(O)CF}_2\text{Br}$. Potom nasleduje pomalé pridanie THF roztoku (25 ml) zlúčeniny cxxii (3,05 g, 15,0 mmol) a $\text{EtOC(O)CF}_2\text{Br}$ (4,84 ml, 37,5 mmol). Po skončení pridávania oboch činidiel sa reakčná zmes ďalej zahrieva na teplotu spätného toku počas 30 minút. Reakčná zmes sa ochladí na teplotu okolia a zriedi sa DCM (200 ml). Organická fáza sa premýva pomocou 1 N KHSO_4 . Organická fáza sa koncentruje a suší vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (20 % EtOAc /hexán) kvôli získaniu zlúčeniny cl (2,78 g, 57 %).



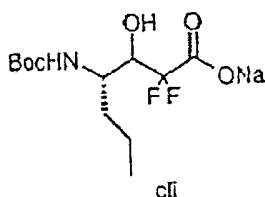
Táto príprava je v zásade rovnaká ako postup, ktorý opísal Thaisrivongs a kol., J. Med., Chem., 29, 2080 - 2087 (1986).

Príklad medziproduktu 148

Zlúčenina cli

THF roztok (40 ml) zlúčeniny cl (2,78 g, 8,53 mmol) sa spracováva 1 N NaOH (12,8 ml, 12,8 mmol). Po miešaní pri teplote okolia cez noc sa

rozpúšťadlo čiastočne odstráni vo vákuu. Zvyšná reakčná zmes sa zriedi vodou (50 ml) a lyofilizuje sa kvôli získaniu surovej zlúčeniny cli (2,82 g, > 100 %) vo forme jej sodnej soli.



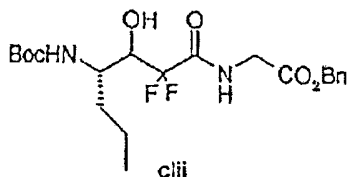
Táto príprava je v zásade rovnaká ako postup, ktorý opísal Thaisrivongs a kol., J. Med. Chem., 29, 2080 -2087 (1986).

Príklad medziproduktu 149

Zlúčenina clii

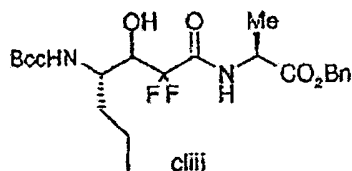
DCM roztok (10 ml) surovej zlúčeniny cli (516 mg, 1,61 mmol) sa spracováva pomocou HOBt (436 mg, 3,23 mmol) a DIC (0,328 ml, 2,09 mmol). Po miešaní pri teplote okolia počas 30 minút sa reakčná zmes spracováva roztokom DCM (5 ml) obsahujúcim soľ glycín benzylester-TsOH (815 mg, 2,42 mmol) a DIPEA (0,422 ml, 2,42 mmol). Po miešaní pri teplote okolia počas 12 hodín sa reakcia zastaví vodou a reakčná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Organická fáza sa suší a koncentruje vo vákuu a čistí sa chromatografiou na silikagéli (40 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny clii (495 mg, 69 %).

^1H NMR zlúčeniny clii (400 MHz, CDCl_3): δ 7,29 - 7,21 (m, 5H), 5,16 (bs, 2H), 4,89 (bs, 1H), 4,20 - 3,90 (m, 4H), 3,80 (bs, 1H), 1,75 - 1,42 (m, 4H), 1,38 (s, 9H), 0,87 (m, 3H).

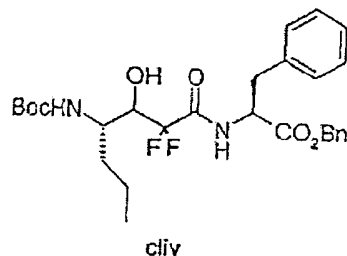


Vychádzajúc zo surovej zlúčeniny cli sa pripravia zlúčeniny cliii (83 %) a cliv (50 %) spôsobom, ktorý je identický so spôsobom uvedeným pre zlúčeninu clii.

^1H NMR zlúčeniny cliii (400 MHz, CDCl_3): δ 7,49 (bs, 1H), 7,34 - 7,24 (m, 5H), 5,13 (AB q, $J = 12,2$ Hz, $J' = 23,9$ Hz, 2H), 4,88 (bd, $J = 8,8$ Hz, 1H), 4,53 (m, 1H), 3,98 - 3,91 (m, 2H), 3,82 (m, 1H), 1,65 - 1,20 (m, 16H, vrátane singletu na 1,37 (9H)), 0,86 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H).



^1H NMR zlúčeniny cliv (400 MHz, CDCl_3): δ 7,60 - 7,00 (m, 10H), 5,30 - 5,00 (m, 2H), 5,00 - 4,75 (m, 2H), 4,15 - 3,70 (m, 3H), 3,30 - 3,00 (m, 2H), 1,75 - 1,20 (m, 13H, vrátane singletu na 1,36 (9H)), 0,86 (bs, 3H).

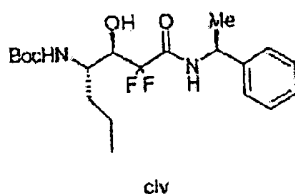


Príklad medziproduktu 150

Zlúčenina clv

Do DCM (10 ml) a THF (5 ml) roztoku surovej zlúčeniny cli (1 g, 3,13 mmol) sa pridá HOBT (634 mg, 4,69 mmol) a EDCI (781 mg, 4,07 mmol) a potom (s)- α -metylbenzylamín (0,604 ml, 4,69 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote okolia a potom sa reakcia zastaví vodou. Reakčná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Organická fáza sa premýva soľným roztokom a suší nad Na_2SO_4 . Organická fáza sa koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (20 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny clv (459 mg, 37 %).

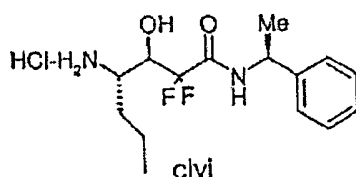
^1H NMR zlúčeniny clv (400 MHz, CDCl_3): δ 7,32 - 7,21 (m, 6H), 5,00 (m, 1H), 4,75 (m, 1H), 3,94 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 1,65 - 1,15 (m, 16H, vrátane dubletu na 1,51 (J = 6,8 Hz, 3H), singlet na 1,39 (9H), 0,82 (m, 3H).



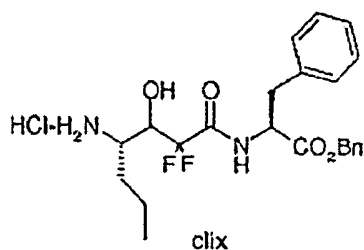
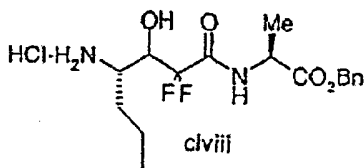
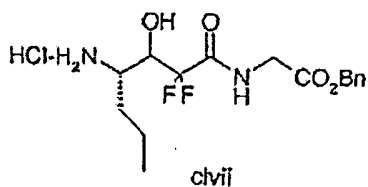
Príklad medziproduktu 151

Zlúčenina clvi

Zlúčenina clv (220 mg, 0,55 mmol) sa rozpustí v 4 N HCl v dioxáne (10 ml). Reakčná zmes sa mieša pri teplote okolia počas 2 hodín a potom sa koncentruje vo vákuu kvôli získaniu surovej zlúčeniny clvi (~ 100 %) vo forme jej HCl soli.

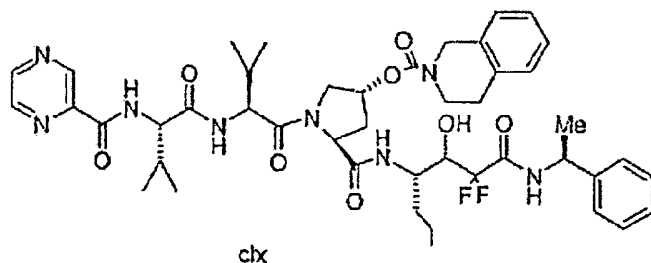


Postupom podľa spôsobu, opísaného na prípravu zlúčeniny clvi, sa pripravia zlúčeniny clvii, clviii a clix s takmer kvantitatívnym výťažkom, vychádzajúc zo surovej zlúčeniny cli.



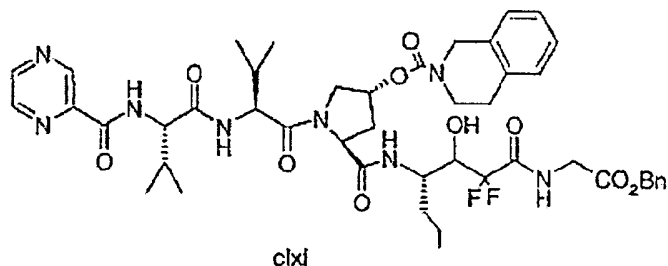
Príklad medziproduktu 152**Zlúčenina clx**

DCM roztok (4 ml) HCl soli zlúčeniny vii (96 mg, 0,144 mmol) sa spracováva pomocou PyBOP (120 mg, 0,23 mmol) a DIPEA (0,1 ml, 0,576 mmol). Po miešaní pri teplote okolia počas 30 minút sa roztok spracováva THF roztokom (4 ml) obsahujúcim zlúčeninu clv (0,288 mmol) a DIPEA (0,2 ml, 1,152 mmol). Reakčná zmes sa mieša pri teplote okolia cez noc. Reakčná zmes sa potom zriedi pomocou EtOAc (50 ml) a organická fáza sa potom premýva NaHCO₃ a soľným roztokom. Organická fáza sa koncentruje vo vákuu a rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (80 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny clx (113 mg, 89 %).

**Príklad medziproduktu 153****Zlúčenina clxi**

DCM roztok (6 ml) zlúčeniny vii (140 mg, 0,235 mmol) sa spracováva pomocou PyBOP (196 mg, 0,376 mmol) počas 30 minút. Potom sa pridá do vyššie uvedeného roztoku THF roztok (6 ml) zlúčeniny clvii (~ 0,47 mmol) a DIPEA (0,327 ml, 1,88 mmol). Reakčná zmes sa mieša pri teplote okolia cez noc a reakcia sa zastaví vodou (30 minút). Reakčná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc (50 ml). Organická fáza sa premýva NaHCO₃ a soľným roztokom. Skombinované vodné vrstvy sa spätne extrahujú pomocou EtOAc

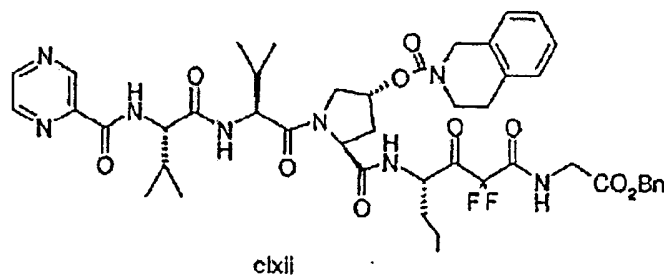
(50 ml). Skombinované organické fázy sa sušia a koncentrujú vo vákuu. Vzniknuté rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (80 - 100 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny clxi (104 mg, 48 %).



Príklad medziproduktu 154

Zlúčenina clxii

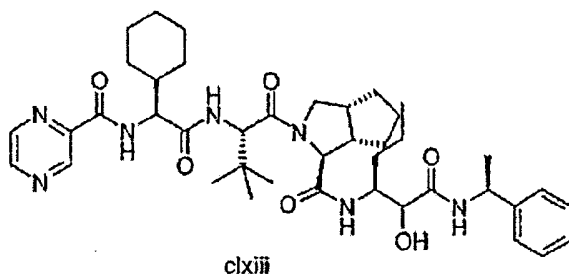
Do DCM roztoku (10 ml) zlúčeniny clxi (280 mg, 0,304 mmol) sa pridá činidlo DMP (193 mg, 0,456 mmol). Reakčná zmes sa mieša pri teplote okolia počas 3 hodín a reakcia sa zastaví pridaním 10 % Na₂SO₃. Organická fáza sa premýva NaHCO₃ a soľným roztokom. Výsledná organická fáza sa suší a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (80 - 100 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny clxii (271 mg, 97 %).



Príklad medziproduktu 155

Zlúčenina clxiii

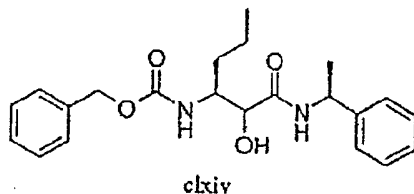
Zlúčenina lxxxiii (220 mg, 0,43 mmol) sa vyberie v DCM (5 ml). Do DCM roztoku sa pridá PyBOP (270 mg, 0,51 mmol) a mieša 5 minút. Do tohto roztoku sa pridá po kvapkách zlúčenina xxxvi' (0,51 mmol) v THF (5,1 ml). DIPEA (0,09 ml, 0,51 mmol) sa pridá do reakčnej zmesi a mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Nasledujúci deň sa reakčná zmes zriedi EtOAc, premýva nasýteným NaHCO₃, premýva solným roztokom. Čistenie gradientom zmesi 70 % až 90 % EtOAc/hexán poskytne zlúčeninu clxiii (180 mg, 56 %).



Príklad medziproduktu 156

Zlúčenina clxiv

Zlúčenina cxxv (2,09 g, 7,4 mmol) sa vyberie v DCM (20 ml). Do tohto roztoku sa pridá PyBOP (4,64 g, 8,9 mmol) a HOBt (1,2 g, 8,9 mmol) a miešajú sa 5 minút. Výsledná zmes sa ochladí na teplotu 0 °C a potom sa pridajú S-(-)- α -metylbenzylamín (1,15 ml, 8,9 mmol) a DIPEA (1,55 ml, 8,9 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc so zahriatím na teplotu okolia. Reakčná zmes sa premýva 0,1 N HCl nasýteným NaHCO₃ a solným roztokom. Čistenie zmesi 30 % EtOAc/hexán poskytne zlúčeninu clxiv (1,6 g, 56,3 %).



Príklad medziproduktu 157

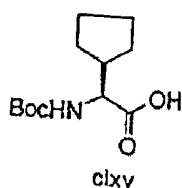
Zlúčenina xxxvi'

Zlúčenina clxiv (1,48 g, 3,8 mmol) sa hydrogenuje použitím 10 % Pd/C (300 mg) v MeOH (50 ml). Reakčná zmes sa mieša cez noc pod vodíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa filtruje cez Celit a koncentruje kvôli získaniu zlúčeniny xxxvi' (895 mg, 94,2 %).

Príklad medziproduktu 158

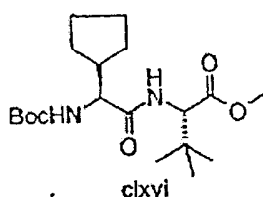
Zlúčenina clxvi

Do DCM roztoku (15 ml) zlúčeniny clxv (2 g, 8,2 mmol) sa



pridá HOAt (1,34 g, 9,84 mmol) a DCC (9,84 ml, 1 M, 9,84 mmol). Po miešaní pri teplote okolia počas 20 minút sa pridá do vyššie uvedeného roztoku THF roztok (9,84 ml) obsahujúci hydrochlorid metylesteru terc-L-leucínu (9,84 mmol) a DIPEA (1,72 ml, 9,84 mmol). Potom sa pridá pri teplote okolia DMAP (1 g, 8,2

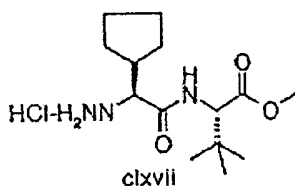
mmol). Reakčná zmes sa mieša pri teplote okolia cez noc. Po štandardnom vodnom spracovaní a chromatografii na silikagéli (20 % EtOAc/hexán) sa získa zlúčenina clxvi (1,75 g, 58 %).



Príklad medziproduktu 159

Zlúčenina clxvii

Do THF roztoku (35 ml) zlúčeniny clxvi (1,75 g, 4,73 mmol) sa pridá 4 N HCl roztok v dioxáne (11,8 ml, 47,3 mmol). Reakčná zmes sa mieša pri teplote okolia cez noc. V tomto okamihu sa rozpúšťadlo odstráni za zníženého tlaku kvôli získaniu surovej zlúčeniny clxvii (~ 100 %), ktorá sa znova rozpustí v DMF a použije priamo v nasledujúcej reakcii.

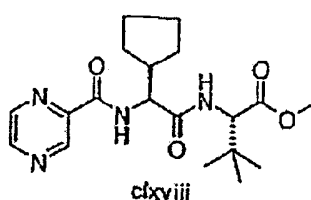


Príklad medziproduktu 160

Zlúčenina clxviii

Do DCM roztoku (15 ml) obsahujúceho kyselinu 2-pyrazínkarboxylovú (447 mg, 3,6 mmol) sa pridá PyBOP (1,87 g, 3,6 mmol) a DMF roztok (15 ml) zlúčeniny clxvii (811 mg, 3 mmol). Do výslednej zmesi sa potom pridá DIPEA

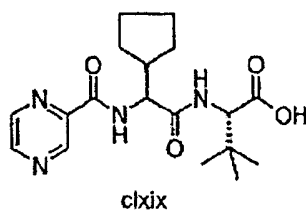
(0,63 ml, 3,6 mmol). Reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote okolia a potom sa reakcia zastaví vodou. Reakčná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Organická vrstva sa premýva soľným roztokom a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli (40 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny clxviii (0,93 g, 82 %).



Príklad medziproduktu 161

Zlúčenina clxix

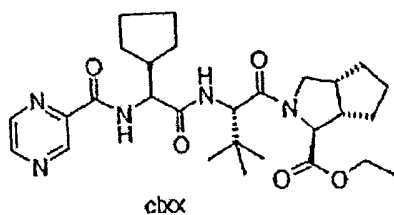
Do MeOH roztoku (10 ml) zlúčeniny clxviii (0,93 g, 2,47 mmol) sa pridá 2 N NaOH (3,71 ml, 7,41 mmol). Reakčná zmes sa mieša pri teplote okolia cez noc. Potom sa reakčná zmes okyslí na pH 3 použitím 1 N HCl. Reakčná zmes sa zriedi EtOAc (75 ml) a premýva vodou a soľným roztokom. Takto získaná organická vrstva sa suší a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu zlúčeniny clxix (~ 100 %).



Príklad medziproduktu 162

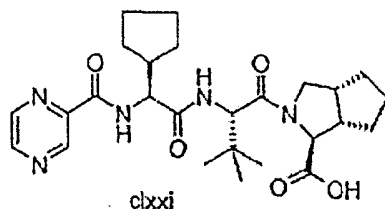
Zlúčenina clxx

DCM roztok (10 ml) zlúčeniny clxix (2,47 mmol) sa spracováva HOAt (436 mg, 3,21 mmol) a DCC (3,2 ml, 1 M, 3,2 mmol). Po miešaní počas 30 minút sa reakčná zmes spracováva THF roztokom (13,6 ml) zlúčeniny v (499 mg, 2,72 mmol). Po miešaní pri teplote okolia cez noc sa biela pevná látka (močovina) odfiltruje. Filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí chromatografiou na silikagéli kvôli získaniu zlúčeniny clxx (0,99 g, 76 %).

**Príklad medziproduktu 163**

Zlúčenina clxxi

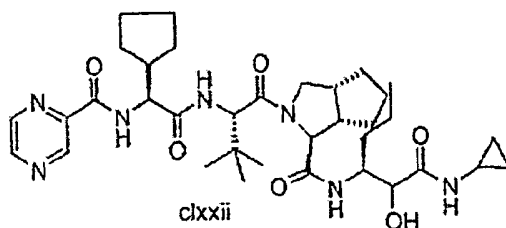
EtOH roztok (20 ml) zlúčeniny clxx (0,99 g, 1,88 mmol) sa spracováva pomocou 2 N NaOH (2,81 ml, 5,63 mmol). Po miešaní pri teplote okolia cez noc sa reakčná zmes okyslí na pH 3 pridaním 1 N HCl. Reakčná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc (75 ml). Organická vrstva sa suší a koncentruje vo vákuu kvôli získaniu zlúčeniny clxxi (772 mg, 82 %).



Príklad medziproduktu 164

Zlúčenina clxxi

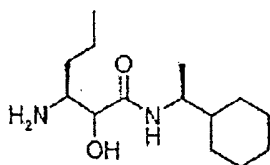
DCM roztok (10 ml) zlúčeniny clxxi (290 mg, 0,58 mmol) sa spracováva pomocou PyBOP (484 mg, 0,93 mmol). Po miešaní pri teplote okolia počas 20 minút sa reakčná zmes spracováva THF roztokom (7,5 ml) zlúčeniny xiii' (140 mg, 0,75 mmol), nasledovaným DIPEA (0,13 ml, 0,75 mmol). Po miešaní cez noc pri teplote okolia sa reakcia zastaví vodou a reakčná zmes sa extrahuje pomocou EtOAc. Výsledná organická vrstva sa premýva soľným roztokom a suší a koncentruje vo vákuu. Výsledné rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (5 % EtOH/EtOAc) kvôli získaniu zlúčeniny clxxii (290 mg, 75 %).



Príklad medziproduktu 165

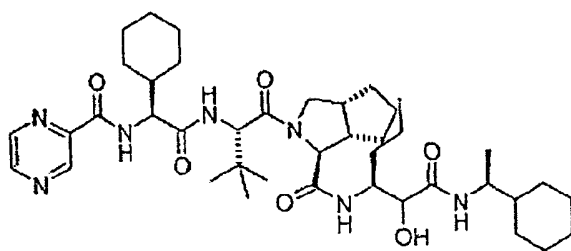
Zlúčenina clxxiv

Zlúčenina lxxxiii (600 mg, 1,17 mmol) sa vyberie v DCM (4 ml). Pridá sa PyBOP (670 mg, 1,3 mmol), mieša sa päť minút a ochladí na teplotu 0 °C.



clxxiii

Do tohto roztoku sa pridá po kvapkách zlúčenina clxxiii (333 mg, 1,3 mmol) v THF (13 ml). DIPEA (0,23 ml, 1,3 mmol) sa pridá do reakčnej zmesi a zmes sa nechá zahriať sa na teplotu okolia za miešania dve noci. Nasledujúci deň sa reakčná zmes koncentruje a čistí sa zmesou 2 % EtOH/EtOAc kvôli získaniu surovej zlúčeniny clxxiv (900 mg, cez 100 %).



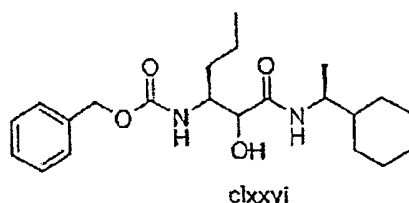
clxxiv

Príklad medziproduktu 166

Zlúčenina clxxxv

Zlúčenina cxxv (3,01 g, 10,7 mmol) sa vyberie v DCM (30 ml) a teplota sa zníži na -78 °C. Do tohto roztoku sa pridajú PyBOP (6,1 g, 11,7 mmol) a HOBT (1,58 g, 11,7 mmol), nasledované (S)-(+)-1-cyklohexyletylamínom, zlúčeninou clxxv (1,74 ml, 11,7 mmol) a DIPEA (2,1 ml, 11,7 mmol). Výsledná zmes sa mieša cez noc pri teplote okolia. Nasledujúci deň sa reakčná zmes

zriedi pomocou EtOAc, premýva sa 0,1 N HCl, nasýteným NaHCO₃ a soľným roztokom. Produkt sa čistí v 40 % EtOAc/hexán kvôli získaniu 2 g (47,8 %) zlúčeniny clxxvi.



Príklad medziproduktu 167

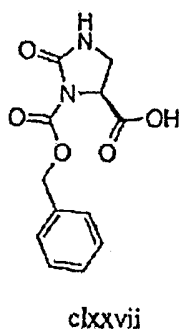
Zlúčenina clxxiii

Zlúčenina clxxvi (2 g, 5,13 mmol) sa hydrogenuje použitím 10 % Pd/C (500 mg) v MeOH (40 ml). Reakčná zmes sa mieša cez noc pod vodíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa filtruje cez Celit a koncentruje kvôli získaniu zlúčeniny clxxiii (1,31 g, 99,8 %).

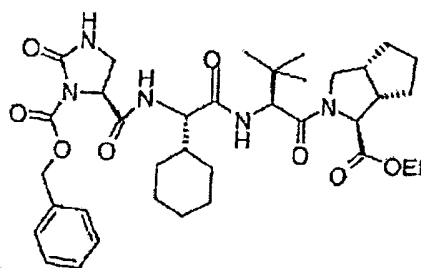
Príklad medziproduktu 168

Zlúčenina clxxix

V guľatej banke sa pod inertnou atmosférou zlúčenina clxxvii



[1-benzylester kyseliny (S)-(-)-2-oxo-1,5-imidazolindikarboxylovej] (290 mg, 1,1 mmol) rozpustí v bezvodom DMF (6 ml). Pridá sa HOAt (151 mg, 1,2 mmol) a reakčná zmes sa mieša pri teplote okolia počas 25 minút. Reakčná zmes sa potom ochladí v ľadovom kúpeli. Potom sa pridá DIC (0,2 ml, 0,16 g, 1,2 mmol) s následnou adíciou zlúčeniny clxxviii (1 mmol, 435 mg) v bezvodom DMF (4 ml). Reakčná teplota sa nechá pomaly narásť na teplotu okolia a zmes sa mieša dva dni. Reakčná zmes sa potom vleje do oddeľovacieho lievika obsahujúceho 120 ml EtOAc a premýva sa dvakrát 1 N HCl (50 ml) a raz soľným roztokom. Organická vrstva sa separuje a suší sa nad MgSO_4 . Rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku a rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (náplň v DCM a vymývanie 30 %, potom 50 % EtOAc/DCM, potom 2 % MeOH/EtOAc) kvôli získaniu produktu clxxix (434 mg, 64 %).



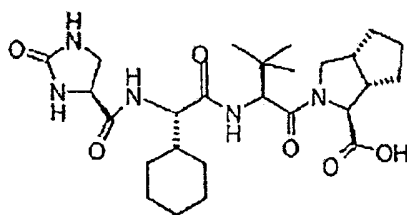
clxxix

Príklad medziproduktu 169

Zlúčenina clxxx

Východiskový materiál clxxix (434 mg, 0,64 mmol) sa rozpustí v dioxáne (6 ml) a 0,5 M vodnom roztoku NaOH (4 ml, 3 ekv.). Reakcia sa nechá prebiehať cez noc. TLC v 100 % EtOAc (použitím PMA škvŕny) ukazuje okrem očakávaného kyslého produktu na začiatku rýchlejší produkt. Reakčná zmes sa okyslí na pH 2 pridaním 1 N HCl a potom sa extrahuje dvakrát pomocou EtOAc.

Do vodného roztoku sa pridá pevný NaCl kvôli uľahčeniu extrakcie. Organické extrakty sa potom skombinujú, sušia sa nad MgSO_4 a odparia za zníženého tlaku. MS indikuje, že CBZ skupina sa odstráni hydrolyzou. Výsledná zlúčenina clxxx (kvantitatívny výťažok) sa použije v ďalšom kroku.

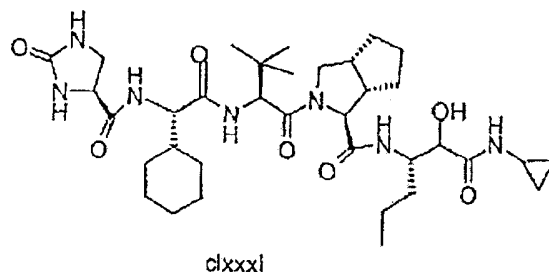


clxxx

Príklad medziproduktu 170

Zlúčenina clxxxi

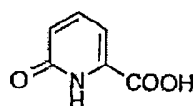
V guľatej banke sa pod inertnou atmosférou zlúčenina clxxx (279 mg, 0,54 mmol) rozpustí v bezvodom DMF (6 ml). Pridá sa HOAt (82 mg, 0,65 mmol) a reakčná zmes sa mieša pri teplote okolia počas 25 minút. Reakčná zmes sa potom ochladí v ľadovom kúpeli. Potom sa pridá DIC (0,11 ml, 0,65 mmol) s následnou adíciou zlúčeniny xiii' (0,7 mmol) v bezvodom DMF (4 ml). Reakčná teplota sa nechá pomaly narásť na teplotu okolia a zmes sa mieša počas 21 hodín. Reakčná zmes sa potom vleje do oddeľovacieho lievika obsahujúceho 120 ml EtOAc a premýva sa dvakrát 1 N HCl (50 ml) a raz soľným roztokom. Organická vrstva sa separuje, suší sa nad MgSO_4 . Rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku a produkt sa čistí chromatografiou na silikagéli (náplň v DCM a vymývanie zmesou 50 % EtOAc/hexán, potom 3 % MeOH/EtOAc, potom 20 % EtOH/EtOAc). Po odstránení rozpúšťadla sa rezíduum znova rozpustí v Dri Solv THF a filtruje kvôli odstráneniu všetkého silikagélu. Odstránenie rozpúšťadla potom poskytne zlúčeninu clxxxi (434 mg, 64 % výťažok).



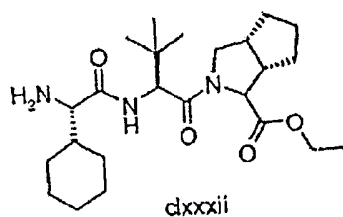
Príklad medziproduktu 171

Zlúčenina clxxxiii

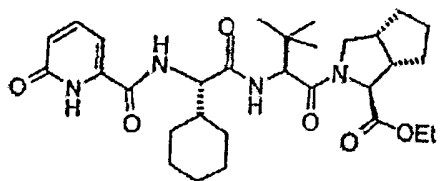
V guľatej banke sa pod inertnou atmosférou rozpustí kyselina 6-hydroxypikolínová



(153 mg, 1,1 mmol) v bezvodom DMF (6 ml). Pridá sa HOAt (151 mg, 1,2 mmol) a potom sa reakčná zmes mieša pri teplote okolia počas 25 minút. Reakčná zmes sa potom ochladí v ľadovom kúpeli. Potom sa pridá DIC (0,2 ml, 0,16 g, 1,2 mmol) s následnou adíciou zlúčeniny clxxxii (1,0 mmol, 435 mg) v bezvodom DMF (4 ml).



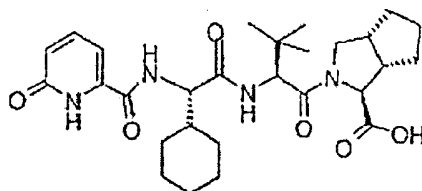
Reakčná teplota sa nechá pomaly narásť na teplotu okolia a zmes sa mieša dva dni. Reakčná zmes sa potom vleje do oddelovacieho lievika obsahujúceho 120 ml EtOAc a premýva sa dvakrát 1 N HCl (50 ml) a raz solným roztokom. Organická vrstva sa separuje a suší sa nad MgSO_4 . Rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku a produkt sa čistí chromatografiou na silikagéli (náplň v DCM, vymývanie 30 %, potom 50 % EtOAc/DCM a potom 2 % MeOH/EtOAc) kvôli získaniu zlúčeniny clxxxiii (314 mg, 56 %).



Príklad medziproduktu 172

Zlúčenina clxxxiv

Východiskový materiál clxxxiii (314 mg, 0,56 mmol) sa rozpustí v dioxáne (5 ml) a 0,5 M NaOH (3,4 ml, 3 ekv.). Reakcia sa nechá prebiehať cez noc. TLC so 100 % EtOAc (použitím UV) ukazuje úplnú premenu na pomalý kyslý produkt na začiatku. Reakčná zmes sa okyslí na pH 2 pridaním 1 N HCl a potom sa extrahuje dvakrát EtOAc. Pridá sa pevný NaCl kvôli uľahčeniu extrakcie. Organické extrakty sa potom skombinujú, sušia sa nad MgSO_4 a potom odparia za zníženého tlaku kvôli získaniu zlúčeniny clxxxiv (0,5 mmol, 89 %), ktorá sa používa bez úpravy v ďalšom kroku.

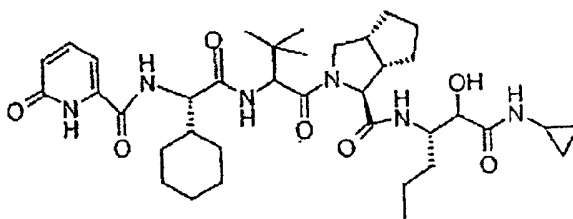


clxxxiv

Príklad medziproduktu 173

Zlúčenina clxxxv

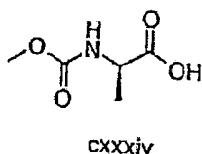
V guľatej banke sa pod inertnou atmosférou rozpustí kyslá zlúčenina clxxxiv (265 mg, 0,5 mmol) v bezvodom DMF (6 ml). Pridá sa HOAt (75,6 mg, 0,6 mmol) a reakčná zmes sa mieša pri teplote okolia počas 25 minút. Reakčná zmes sa potom ochladí v ľadovom kúpeli. Potom sa pridá DIC (0,1 ml, 0,6 mmol) s následnou adíciou zlúčeniny xiii' (0,65 mmol) v bezvodom DMF (4 ml). Reakčná teplota sa nechá pomaly narásť na teplotu okolia a zmes sa mieša počas 21 hodín. Reakčná zmes sa potom vleje do oddeľovacieho lievika obsahujúceho EtOAc (120 ml) a premýva sa dvakrát 1 N HCl (50 ml) a raz soľným roztokom. Organická vrstva sa separuje, suší sa nad MgSO_4 . Rozpúšťadlo sa odparí za zníženého tlaku a produkt sa čistí chromatografiou na silikagéli (náplň v DCM, vymývanie 50 % EtOAc/hexán, potom čistý EtOAc a potom 4 % MeOH/EtOAc) kvôli získaniu produktu, zlúčeniny clxxxv (185 mg, 52 %).



clxxxv

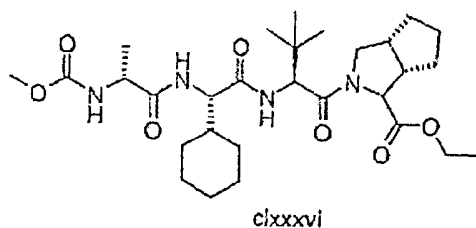
Príklad medziproduktu 174**Zlúčenina cxxxxiv**

Do roztoku D-alanínu (5 g, 56,1 mmol) v 1 N NaOH (152 ml, 152 mmol) sa pri teplote 0 °C pridá roztok MeOC(O)Cl (6,5 ml, 84,2 mmol) v dietylétere (30 ml). Zmes sa mieša v ľadovom kúpeli počas 3 hodín a potom sa pH upraví na 9 pridaním 1 N NaOH. Po miešaní pri teplote okolia 1 hodinu sa zmes premýva éterom (3 x 50 ml), okyslí sa na pH približne 2 pridaním 5 N HCl, extrahuje sa EtOAc (5 x 50 ml). Organické extrakty sa premývajú vodou, soľným roztokom a potom sušia (MgSO₄). Rozpúšťadlo sa odstráni kvôli získaniu zlúčeniny cxxxiv, N-metokyskarbonyl-D-alanínu, vo forme bezfarebného oleja (6,48 g, 79 %).

**Príklad medziproduktu 175****Zlúčenina clxxxvi**

Roztok N-metokyskarbonyl-D-alanínu (0,193 g, 1,31 mmol) a HOAt (0,177 g, 1,31 mmol) v DCM (10 ml), ochladený v ľadovom kúpeli, sa spracováva DCC (1,31 ml, 1,31 mmol). Po miešaní v ľadovom kúpeli počas 0,5 hodiny sa pridá roztok pripravenej zlúčeniny clxxxii (0,88 mol) v THF (8,8 ml). Zmes sa zahrieva na teplotu okolia a mieša cez noc, potom sa ochladí v ľadovom kúpeli a reakcia sa zastaví nasýteným roztokom NaHCO₃. Precipitáty sa filtrujú a filtrát sa vyberie v EtOAc (100 ml). Organická vrstva sa premýva nasýteným roztokom NaHCO₃, soľným roztokom a potom suší (MgSO₄). Po odstránení rozpúšťadla sa rezíduum čistí kolónovou chromatografiou na oxide kremičitom (60 %

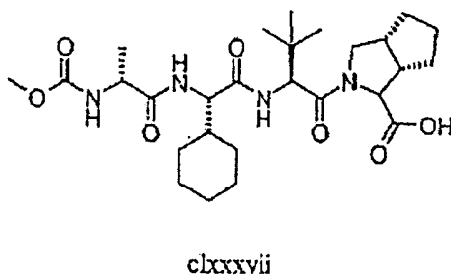
EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny clxxxvi vo forme gumovitej peny (0,321 g, 68 %).



Príklad medziproduktu 176

Zlúčenina clxxxvii

Do roztoku zlúčeniny clxxxvi (0,321 g, 0,597 mmol) v EtOH (5 ml) sa pri teplote 5 °C pridá 2 N NaOH (1,05 ml, 2,1 mmol). Zmes sa mieša pri teplote okolia počas 4 hodín. Roztok sa okyslí na pH ~ 2 pridaním 1 N HCl a EtOH sa odstráni rotačným odparením. Zmes sa extrahuje pomocou EtOAc (3 x 30 ml) a skombinovaný extrakt sa premýva soľným roztokom a potom suší (MgSO₄). Rozpúšťadlo sa odstráni a rezíduum sa suší vo vákuu kvôli získaniu zlúčeniny clxxxvii vo forme gumovitej peny (0,235 g, 77 %).



Príklad medziproduktu 177

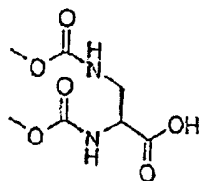
Zlúčenina clxxxviii

Roztok zlúčeniny clxxxvii (0,363 g, 0,712 mmol) v DCM (10 ml) sa ochladí v ľadovom kúpeli a spracováva sa PyBOP (0,594 g, 1,14 mmol). Po miešaní pri teplote okolia počas 0,5 hodiny sa zmes ochladí v ľadovom kúpeli a spracováva roztokom zlúčeniny xiii' (1,1 mmol) v THF (11 ml) a DIPEA (0,249 ml 1,42 mmol). Zmes sa mieša pri teplote okolia cez noc a reakcia sa zastaví pridaním roztoku NH_4Cl . Rozpúšťadlo sa koncentruje a zmes sa vyberie v EtOAc (100 ml). Organická vrstva sa premýva nasýteným roztokom NaHCO_3 , soľným roztokom a potom suší (MgSO_4). Po odstránení rozpúšťadla sa rezíduum čistí kolónovou chromatografiou (5 % EtOH, EtOAc) kvôli získaniu clxxxviii (0,341 g, 71 %).

Príklad medziproduktu 178

Zlúčenina clxxxix

Diaminopropiónová kyselina (3 g, 28,7 mmol) sa vyberie v 1 M NaOH (86,2 ml, 86,2 mmol) a ochladí sa na teplotu 0 °C a potom sa pridá MeOC(O)Cl (5,54 ml, 71,75 mmol) v Et_2O (25 ml). Výsledná zmes sa mieša cez noc za zahriatia na teplotu okolia. pH reakčnej zmesi sa zníži na 2 a vodná vrstva sa extrahuje 3x pomocou EtOAc. Extrakty sa skombinujú a sušia sa nad Na_2SO_4 , filtrujú a koncentrujú kvôli získaniu zlúčeniny clxxxix (3,09 g, 48,9 %).

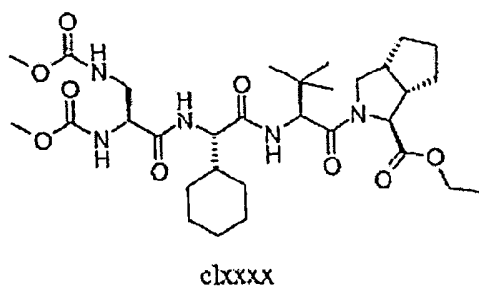


clxxxix

Príklad medziproduktu 179

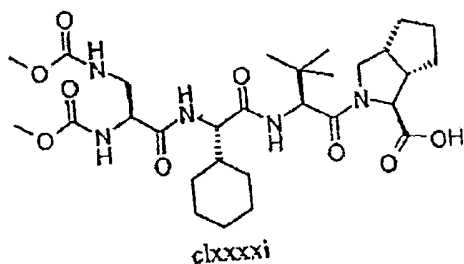
Zlúčenina cc

Zlúčenina clxxxix (340 mg, 1,55 mmol) sa vyberie v DCM (4 ml). Pridajú sa DCC (1,7 mmol) a HOAt (235 mg, 1,7 mmol), nasledované zlúčeninou clxxxii (1,7 mmol) v DCM (3,4 ml). Reakčná zmes sa mieša cez noc. Nasledujúci deň sa reakčná zmes filtruje cez vrstvu oxidu kremičitého a koncentruje. Čistenie sa vykonáva v 75 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny clxxxx (715 mg, 72,4 %).

**Príklad medziproduktu 180**

Zlúčenina clxxxxi

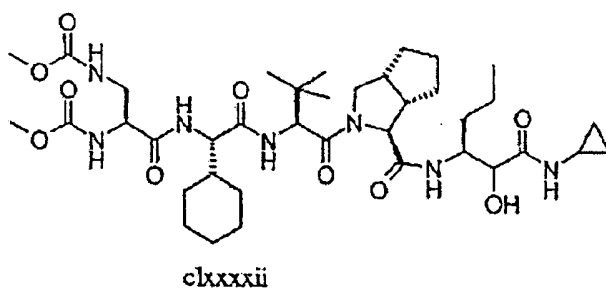
Zlúčenina clxxxx (715 mg, 1,12 mmol) sa hydrolyzuje za štandardných podmienok použitím EtOH (4 ml) a 1 N NaOH (3 ekv.) kvôli získaniu zlúčeniny clxxxxi (600 mg, 88,0 %).



Príklad medziproduktu 181

Zlúčenina clxxxxii

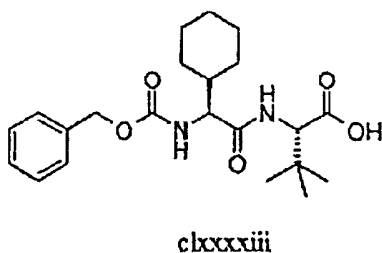
Zlúčenina clxxxxi (550 mg, 0,9 mmol) sa vyberie v DCM (8 ml). Pridá sa PyBOP (675 mg, 1,3 mmol) nasledovaný zlúčeninou xiii' (1,3 mmol) v THF (1,3 ml). Pridá sa DIPEA (0,23 ml, 1,3 mmol) a výsledný roztok sa mieša cez noc. Nasledujúci deň sa reakčná zmes zriedi EtOAc, premýva sa nasýteným NaHCO₃ a potom soľným roztokom pred koncentráciou kvôli získaniu rezídua. Výsledné rezíduum sa čistí pomocou 5 % EtOH/EtOAc kvôli získaniu zlúčeniny clxxxxii (290 mg, 41,5 %).



Príklad medziproduktu 182

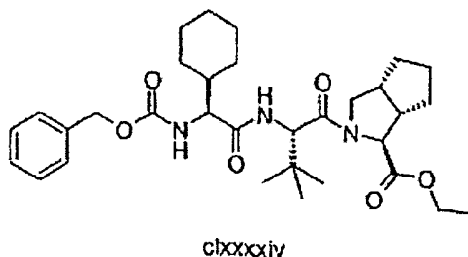
Zlúčenina clxxxxiii

Metylester Cbz-cyklohexylglycín-terc-leucínu (7,36 g, 17,6 mmol) sa hydrolyzuje za štandardných podmienok použitím MeOH (60 ml) a 1 N NaOH (52,8 ml, 3 ekv.) kvôli získaniu medziproduktu clxxxxiii (92 %).



Príklad medziproduktu 183**Zlúčenina clxxxxiv**

Zlúčenina clxxxxiii (3,82 g, 9,46 mmol) sa vyberie v DCM (30 ml). Pridá sa DCC (11,35 mmol) v DCM (11,35 ml) s následnou adíciou HOAt (1,54 g, 11,35 mmol). Výsledná zmes sa mieša päť minút a pridá sa zlúčenina v (9,46 mmol) v THF (40 ml). Výsledná zmes sa mieša cez noc. Nasledujúci deň sa reakčná zmes zriedi pomocou EtOAc, premýva 1 N HCl, nasýteným NaHCO₃ a potom soľným roztokom pred koncentráciou kvôli získaniu rezídua. Vzniknuté rezíduum sa čistí pomocou gradientu 20 % na 30 % na silikagéli kvôli získaniu zlúčeniny clxxxxiv (3,03 g, 56,3 %).

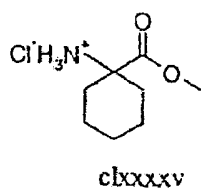
**Príklad medziproduktu 183****Zlúčenina clxxxii**

Zlúčenina clxxxxiv (3,03 g, 5,33 mmol) sa hydrogenuje použitím 10 % Pd/C (500 mg) v MeOH (30 ml) pod vodíkovou atmosférou počas 4 hodín kvôli získaniu zlúčeniny clxxxii (2,3 g, 99 %).

Príklad medziproduktu 184**Zlúčenina clxxxxv**

Do roztoku kyseliny 1-amino-1-cyklohexánkarboxylovej (2,86 g, 20 mmol) v MeOH (40 ml) sa pridá pri teplote 0 °C po kvapkách SOCl₂ (3 ml). Zmes sa

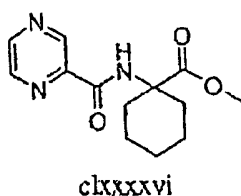
pomaly zahrieva na teplotu okolia a potom sa zahrieva na teplotu spätného toku počas 5 hodín. Potom sa do číreho roztoku pridá Et₂O a precipitát sa izoluje. Pevná látka sa ďalej suší vo vákuu kvôli získaniu zlúčeniny clxxxxv (95 %) vo forme bieleho prášku.



Príklad medziproduktu 185

Zlúčenina clxxxxvi

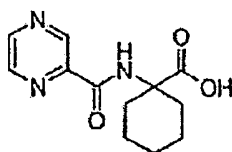
Kyselina 2-pyrazínkarboxylová (1 g, 8 mmol, 1 ekv.) sa rozpustí v DCM (15 ml) s pridaním HOAt (1,1 g, 8 mmol) a DCC (8 ml, 1M) v DCM. Po miešaní pri teplote okolia počas 20 minút sa pridá do aktivovanej zmesi zlúčenina clxxxxv (1,3 g, 8 mmol). Následne sa pridá DIPEA (2 ml, 12 mmol), nasleduje DMAP (1,5 g, 12 mmol). Po miešaní tri dni pri teplote okolia sa reakčná zmes filtruje cez Celit, koncentruje a požadovaný produkt clxxxxvi sa čistí kolónovou chromatografiou (50 % EtOAc/hexán) na žltý olej (2,1 g, 100 %).



Príklad medziproduktu 186

Zlúčenina clxxxxvii

Zlúčenina clxxxxvi (1,06 g, 2,6 mmol) sa rozpustí v MeOH (30 ml) s pridaním 2 N NaOH (vodný) (12 ml, 24 mmol). Roztok sa mieša pri teplote okolia cez noc pred tým, ako TLC (50 % EtOAc/hexán) ukazuje skončenie hydrolýzy. Roztok sa potom okyslí na pH 3 pridaním 5 N HCl a zriedi sa EtOAc a nasleduje extrakcia organickej vrstvy. Organická vrstva sa následne premýva soľným roztokom a suší nad MgSO_4 kvôli získaniu zlúčeniny clxxxxvii (84 %) po koncentrácii.

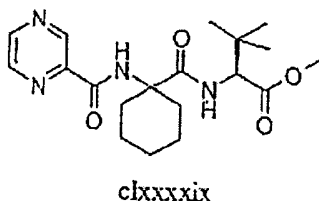


clxxxxvii

Príklad medziproduktu 187

Zlúčenina clxxxxxviii

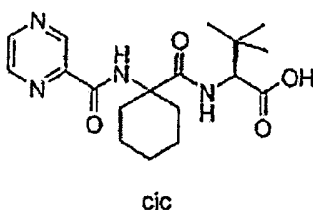
Zlúčenina clxxxvii (1,6 g, 6,4 mmol) sa rozpustí v DCM (18 ml) a potom sa pri teplote okolia pridajú HOAt (0,96 g, 7 mmol) a DCC (7 ml, 1 M v DCM). Po miešaní pri teplote okolia počas 20 minút sa pridá do aktivovanej zmesi hydrochlorid metylesteru L-terc-leucínu (7 ml, 1 M v THF). Následne sa pridá DIPEA (1,2 ml, 7 mmol), nasleduje DMAP (1,2 g, 9,8 mmol). Po miešaní tri dni pri teplote okolia sa reakčná zmes filtruje cez Celit, čistí kolónovou chromatografiou a koncentruje kvôli získaniu zlúčeniny clxxxxxviii (60 % EtOAc/hexán) vo forme bielej pevnej látky (1,74 g, 72 %).



Príklad medziproduktu 188

Zlúčenina cíc

Zlúčenina clxxxxviii (1,74 g, 4,6 mmol) sa rozpustí v MeOH (22 ml) s pridaním 2 N NaOH (vodný) (7 ml, 14 mmol). Roztok sa mieša pri teplote okolia cez noc pred tým, ako TLC (50 % EtOAc/hexán) ukazuje skončenie hydrolýzy. Roztok sa okyslí na pH 3 pridaním 5 N HCl a zriedi pomocou EtOAc a potom sa organická vrstva extrahuje. Organická vrstva sa premýva soľným roztokom a suší sa nad MgSO_4 a potom koncentruje kvôli získaniu zlúčeniny cíc (100 %).

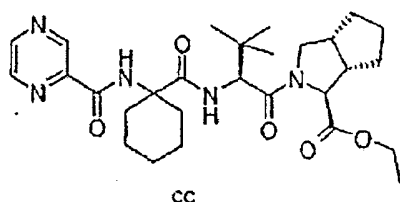


Príklad medziproduktu 189

Zlúčenina cc

Do DCM roztoku (15 ml) zlúčeniny cíc (1,5 g, 4,1 mmol) sa pri teplote okolia pridá HOAt (610 mg, 4,5 mmol), nasledovaný 1 M DCC roztokom v DCM (4,5 ml, 4,5 mmol). Po miešaní počas 30 minút pri teplote okolia sa potom pridá THF roztok (20 ml, 0,2 M) zlúčeniny v (4 mmol). Reakčná zmes sa mieša pri

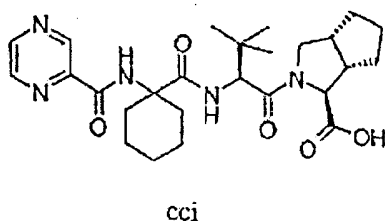
teplote okolia cez noc. Potom sa reakčná zmes filtruje cez Celit. Filtrát sa koncentruje na žltý olej, ktorý sa čistí chromatografiou na silikagéli (50 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu zlúčeniny cci (660 mg, 32 %).



Príklad medziproduktu 190

Zlúčenina cci

Do EtOH roztoku (6 ml) zlúčeniny cc (600 mg, 1,13 mmol) sa pridá 2 N NaOH (1,7 ml, 3,4 mmol). Reakčná zmes sa mieša počas 2 hodín pri teplote okolia, potom sa okyslí na pH 3 pridaním 5 N HCl. Zmes sa potom zriedi pomocou EtOAc, nasleduje extrakcia organickej vrstvy. Následne sa organická vrstva premýva soľným roztokom a potom suší nad MgSO_4 kvôli získaniu zlúčeniny cci (92 %) po koncentrácii.

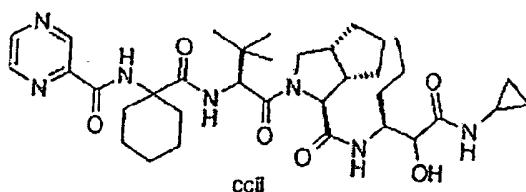


Príklad medziproduktu 191

Zlúčenina ccii

Do DCM roztoku (8 ml) ccii (310 mg, 0,62 mmol) sa pridá PyBOP (420 mg, 0,8 mmol). Roztok sa mieša pri teplote okolia počas 30 minút. Do tohto

roztoku sa potom pridá zlúčenina xiii' (8 ml, 0,1 M) v THF, s následnou adíciou DIPEA (0,23 ml, 1,3 mmol). Reakčná zmes sa mieša pri teplote okolia cez noc a potom sa reakcia zastaví vodou (25 ml) počas 30 minút. Zmes sa potom extrahuje pomocou EtOAc. Výsledná organická vrstva sa premýva soľným roztokom a potom sa suší nad MgSO_4 pred koncentráciou kvôli získaniu žltého oleja. Čistenie chromatografiou na silikagéli (3 % EtOH/EtOAc) poskytne zlúčeninu ccii (140 mg, 33 %).



Príklad medziproduktu 192

Zlúčenina ccxiv

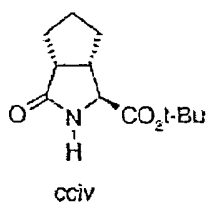
Do roztoku zlúčeniny cciii, terc-butylesteru (N-difenylmetylen)-glycínu (6 g, 0,0206 mmol) a chirálneho PTC (1,08 g, 0,00206 mmol) v bezvodom DCM (48 ml) sa pod dusíkovou atmosférou pri teplote $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ pridá $\text{CsOHC}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (6,9 g, 0,0412 mmol). Do reakčnej zmesi sa pridá po kvapkách metylester 1-karboxy-1-cyklopenténu (5,2 ml, 0,0412 mmol) v 10 ml DCM. Zmes sa mieša počas 4 dní pri teplote $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, potom sa zriedi pridaním 200 ml Et_2O a pridá sa 15 ml nasýteného vodného roztoku NH_4Cl . Fázy sa separujú a organická fáza sa premýva 15 ml vody a 15 ml soľného roztoku. Vodné fázy sa extrahujú 100 ml Et_2O . Organické fázy sa spoja a sušia sa nad Na_2SO_4 . Surový produkt sa získa odstránením rozpúšťadla, rozpustením v 100 ml EtOH a potom sa pridajú NH_2OHHCl (1,43 g, 0,0206 mmol) a NaOAc (1,68 g, 0,0206 mmol). Zmes sa zahrieva na teplotu spätného toku počas 48 hodín. Potom sa rozpúšťadlo odstráni a získané surové rezíduum sa priamo čistí okamžitou chromatografiou

s vymývaním zmesou 30 % - 50 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny cciv (65 %) vo forme bielej pevnej látky.

$C_{12}H_{19}NO_3$ molekulová hmotnosť = 225,29;

MS: m/z ($M^+ + 1$) = 226,5.

Enantiomérny prebytok: 18 % ee, určené chirálnou HPLC.



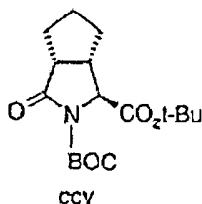
Príklad medziproduktu 193

Zlúčenina ccv

Do roztoku zlúčeniny cciv (2 g, 0,0088 mmol) v 60 ml ACN sa pridá katalytické množstvo DMAP (0,216 g, 0,0017 mmol) a roztok di-terc-butyl-dikarbonátu (2,49 g, 0,011 mmol) v 30 ml ACN. Zmes sa mieša počas 14 hodín pri teplote okolia, potom sa zriedi pridaním 100 ml DCM a premýva nasýteným $NaHCO_3$ (10 ml) a soľným roztokom (10 ml). Organická fáza sa suší nad Na_2SO_4 . Odparenie rozpúšťadla poskytne surový produkt, ktorý sa čistí v silikagélovej kolóne s vymývaním zmesou 15 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny ccv (86 %) vo forme bielej pevnej látky.

$C_{17}H_{27}NO_5$ molekulová hmotnosť = 325,40;

MS: m/z ($M^+ + 1$) = 326,2.



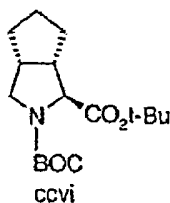
Príklad medziproduktu 194

Zlúčenina ccvi

Do roztoku zlúčeniny ccv (1,7 g, 0,0052 mmol) v 50 ml THF (0,14 M) sa pri teplote -78°C pridá DIBAL-H (7,8 ml, 0,0078 mmol). Zmes sa mieša 1 hodinu, potom sa pridá 10 ml MeOH. Zmes sa zriedi pridaním 25 ml EtOAc a 25 ml nasýteného vodného roztoku vínanu sodného a potom sa mieša pri teplote okolia jednu hodinu. Fázy sa separujú a vodná fáza sa extrahuje raz pomocou 50 ml EtOAc. Organické fázy sa skombinujú a sušia sa nad Na_2SO_4 . Odparenie rozpúšťadla poskytlo surové rezíduum, ktoré sa používa bez akéhokoľvek čistenia. Surová látka sa rozpustí v 25 ml DCM, pridá sa Et_3Si (0,84 ml, 0,0052 mmol) a potom sa zmes ochladí na teplotu -78°C pred pridaním po kvapkách BF_3OEt_2 (0,71 ml, 0,0061 mmol). Po 30 minútach sa pridajú Et_3Si (0,84 ml) a BF_3OEt_2 (0,71 ml) a zmes sa mieša počas 2 hodín pri teplote -78°C . Reakcia sa potom zastaví nasýteným vodným NaHCO_3 (10 ml) a extrahuje sa DCM (dvakrát 20 ml). Organické fázy sa skombinujú a sušia sa nad Na_2SO_4 . Odparenie rozpúšťadla poskytne surové rezíduum, ktoré sa čistí okamžitou chromatografiou s vymývaním zmesou 13 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny ccvi %).

$\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{NO}_4$ molekulová hmotnosť = 311,42;

MS: m/z ($M^+ + 1$) = 312,6.



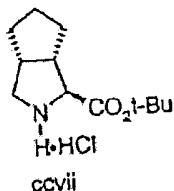
Príklad medziproduktu 195

Zlúčenina ccvii

Zlúčenina ccvi (0,5 g, 0,0016 mmol) sa rozpustí v 8 ml 1 N HCl v EtOAc (pripravený prebublávaním bezvodého HCl do bezvodého EtOAc a potom zriedením na 1 N dodatočným EtOAc). Zmes sa mieša počas 6 hodín pri teplote okolia. Rozpúšťadlo sa odstráni vo vákuu a výsledný precipitát sa rozpustí Et₂O. Po miešaní zmesi počas 15 minút sa rozpúšťadlo odstráni za zníženého tlaku. Výsledná biela pevná látka sa premýva Et₂O a zlúčenina ccvii (0,27 g, 80 % výťažok) sa izoluje filtráciou.

C₁₂H₂₁NO₂ molekulová hmotnosť = 211,15;

MS: m/z (M⁺ + 1) = 212,6.

**Príklad medziproduktu 196**

Zlúčenina v

Do roztoku zlúčeniny ccxvi (0,230 g, 0,74 mmol) v DCM (3,7 ml) sa pridá TFA (2,85 ml). Zmes sa mieša cez noc, potom sa rozpúšťadlo odstráni vo vákuu do sucha a rezíduum sa rozpustí v EtOH (7,5 ml). Zmes sa ochladí na teplotu 0 °C a pridá sa po kvapkách SOCl₂ (0,22 ml, 2,96 mmol) a potom sa zmes zahrieva na teplotu spätného toku počas 2 hodín. EtOH sa odstráni za zníženého tlaku a rezíduum sa rozpustí v DCM (10 ml). Výsledný roztok sa premýva dvakrát nasýteným vodným roztokom NaHCO₃ (5 ml). Fázy sa separujú a organická fáza sa suší nad Na₂SO₄ a rozpúšťadlo sa odstráni vo

vákuu kvôli získaniu zlúčeniny v (80 %) vo forme oleja.

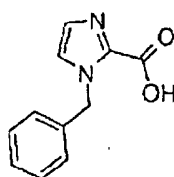
$C_{10}H_{17}NO_2$ molekulová hmotnosť = 183,25;

MS: m/z ($M^+ + 1$) = 184,2.

Príklad medziproduktu 197

Zlúčenina cd

1-benzylimidazol (6 g, 37,9 mmol) sa vyberie v Et_2O (180 ml). Výsledný roztok sa ochladí na $-60\text{ }^{\circ}C$ a spracováva sa $n-BuLi$ (1,6 M, 24 ml). Reakčná zmes sa mieša počas 30 minút a potom sa CO_2 prebubláva zmesou počas 15 minút. Precipitát sa filtruje, preplachuje Et_2O a potom sa vyberie v H_2O . Tento vodný roztok sa okyslí na pH 3 pridaním 5 N HCl. Požadovaný produkt, cd, sa izoluje po lyofilizácii vo forme bielej pevnej látky.



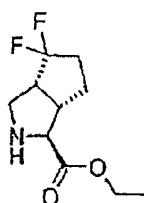
cd

Príklad medziproduktu 198

Zlúčenina cdi

DCM roztok (100 ml) zlúčeniny i (9,25 g, 27,9 mmol) sa spracováva pri teplote $0\text{ }^{\circ}C$ pomocou DAST (9,2 ml, 69,8 mmol). Po miešaní pri teplote okolia cez noc sa reakcia zastaví pomocou ľadu a zmes sa extrahuje DCM (200 ml). Organická vrstva sa premýva solným roztokom a koncentruje vo vákuu. Rezíduum sa čistí chromatografiou na silikagéli (30 % EtOAc/hexán) kvôli získaniu 8,5 g (86 %) požadovaného fluórovaného medziproduktu. Časť tohto

medziproduktu (4,5 g, 14,2 mmol) sa rozpustí v EtOH (75 ml). Tento roztok sa vystaví štandardným hydrogenačným podmienkam použitím $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (2,98 g, 20 % obsah Pd, 4,26 mmol). Po miešaní cez noc pri teplote okolia sa reakčná zmes filtruje cez Celit. Filtráty sa koncentrujú vo vákuu kvôli získaniu zlúčeniny cdi (2,5 g, 96 %).

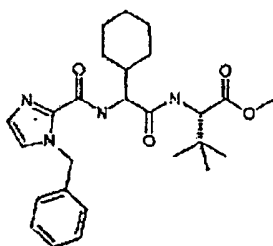


cdi

Príklad medziproduktu 199

Zlúčenina cdii

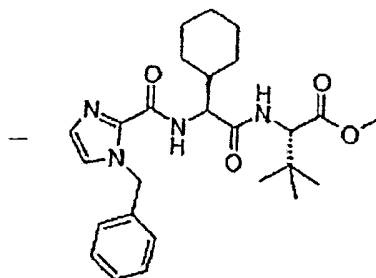
Do roztoku zlúčeniny cd (890 mg, 4,4 mmol) vybranej v DCM (15 ml) sa pridajú HOBt (595 mg, 4,4 mmol) a DCC (4,4 mmol, 1 M v DCM) a zmes sa mieša 20 minút. Do tejto zmesi sa pridá DCM roztok (15 ml) zlúčeniny lxxix' (990 mg, 3,5 mmol). Výsledná zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa zriedi pomocou EtOAc, premýva sa nasýteným NaHCO_3 a soľným roztokom. Organická vrstva sa koncentruje vo vákuu kvôli získaniu rezídua, ktoré sa čistí v zmesi 30 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny cdii (666 mg, 41 %).



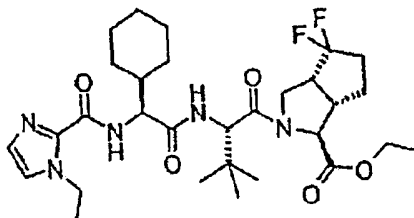
cdii

Príklad medziproduktu 200**Zlúčenina cdiii**

Zlúčenina cdiii sa pripraví zo zlúčeniny cdii za štandardných podmienok hydrolýzy použitím metylaalkoholu (10 ml) a 1 N NaOH (3 ekv.). Získa sa 565 mg zlúčeniny cdiii (88 %).

**cdiii****Príklad medziproduktu 201****Zlúčenina cdiv**

Zlúčenina cdiii (1,24 mmol) sa vyberie v DCM (5 ml). Pridá sa DCC (1,6 mmol, 1 M DCM) nasledovaný HOAT (1,6 mmol).



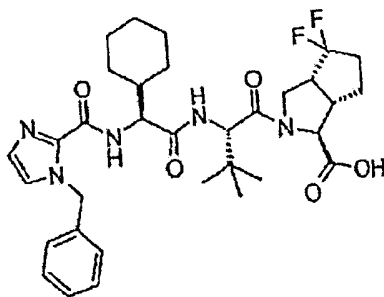
Výsledná zmes sa mieša 20 minút a zlúčenina cdi (1,6 mmol) sa pridá po kvapkách v THF (8 ml). Reakčná zmes sa mieša cez noc. Reakčná zmes sa

filtruje a preplachuje EtOAc. Skombinované organické vrstvy sa premývajú nasýteným NaHCO_3 , soľným roztokom, sušia sa nad MgSO_4 a koncentrujú. Čistenie sa vykonáva v zmesi 30 % EtOAc/hexán kvôli získaniu zlúčeniny cdv (565 mg, 70 %).

cdv

Príklad medziproduktu 202-cdv

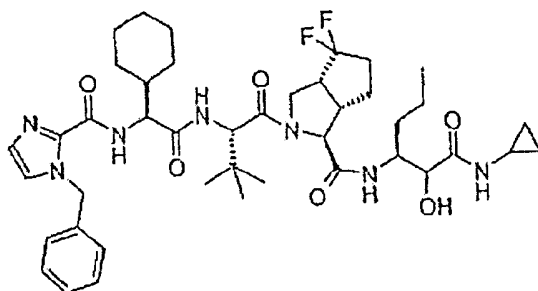
Zlúčenina cdv (565 mg, 0,86 mmol) sa pripraví zo zlúčeniny cdv za štandardných podmienok hydrolýzy použitím etylalkoholu (10 ml) a 1 N NaOH (3 ekv.). Získa sa 490 mg (91 %) zlúčeniny cdv.



cdv

Príklad medziproduktu 203-cdvi

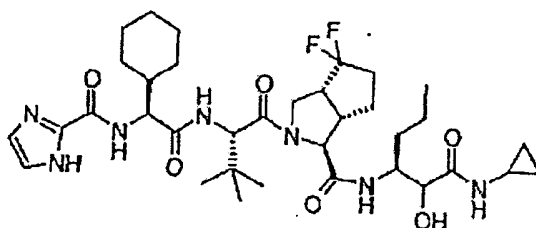
Zlúčenina cdv (490 mg, 0,78 mmol) sa vyberie v DCM (10 ml). Do DCM roztoku sa pridá PyBOP (520 mg, 1 mmol), nasleduje THF roztok (10 ml) xiii (186 mg, 1 mmol). Do reakčnej zmesi sa pridá DIEA (0,18 ml, 1 mmol) a zmes sa mieša cez noc pod dusíkovou atmosférou. Nasledujúci deň sa reakčná zmes zriedi EtOAc, premýva nasýteným NaHCO_3 a soľným roztokom. Čistenie sa vykonáva v 100 % EtOAc kvôli získaniu zlúčeniny cdvi (478 mg, 77 %).



cdvi

Príklad medziproduktu 204-cdvii

Zlúčenina cdvi (478-mg, 0,6 mmol) sa hydrogenuje použitím $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ (20 % bezvodá báza, 100 mg) v MeOH (40 ml). Reakčná zmes sa mieša cez noc pod vodíkovou atmosférou. V tomto okamihu sa reakčná zmes filtruje cez Celit a koncentruje kvôli získaniu zlúčeniny cdvii (417 mg, 98 %).

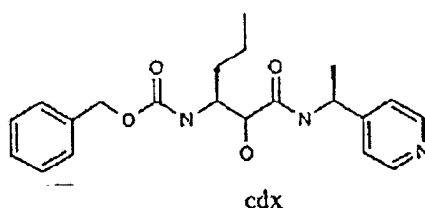


cdvii

Príklad medziproduktu 205-cdx

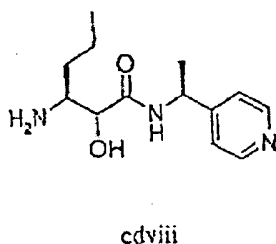
Zlúčenina cxxv (zakúpená od spoločnosti Albany Molecular Research Inc., 1,5 g, 5,2 mmol) sa vyberie v DCM (15 ml). Do tohto roztoku sa pridajú PyBOP (2,7 g, 5,2 mmol) a HOBT (700 mg, 5,2 mmol). THF roztok (15 ml) (-)- α -(4-pyridyl)etylaminu (640 mg, 5,2 mmol) sa pridá do vyššie uvedeného roztoku, nasledovaný DIEA (0,93 ml, 5,2 mmol). [(-)- α -(4-pyridyl)etylamin sa

získa z vínanovej soli (-)- α -(4-pyridyl)etylaminu (Aldrich) miešaním s 1 N NaOH (2 ekv.) 1 hodinu nasledovaným extrakciou pomocou EtOAc (3x) 70 % zisk). Reakčná zmes sa mieša cez noc pri teplote okolia. Reakčná zmes sa premýva nasýteným NaHCO_3 a solným roztokom. Produkt sa čistí v zmesi 5 % EtOH/EtOAc kvôli získaniu 2 g (99 %) medziproduktovej zlúčeniny cdx.



Príklad medziproduktu 206-cdviii

Zlúčenina cdx (2 g, 5,2 mmol) sa hydrogenuje použitím 10 % Pd/C (500 mg) v MeOH (50 ml). Reakčná zmes sa mieša cez noc pod vodíkovou atmosférou. Produkt sa filtruje cez Celit a koncentruje kvôli získaniu zlúčeniny cdviii (1,3 g, 98 %).



Farmakológia

Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sa opísali vyššie ako použiteľné na inhibíciu HCV proteázy, a teda ich možno použiť na inhibíciu HCV replikácie.

V súlade s tým sa predložený vynález týka spôsobu inhibície HCV proteázy, zahrňujúcej kontakt zlúčeniny všeobecného vzorca 1 v množstve umožňujúcom inhibíciu HCV proteázy s kompozíciou obsahujúcou HCV proteázu.

Predložený vynález sa ďalej týka spôsobu inhibície replikácie HCV zahrňujúcej kontakt HCV s účinným množstvom zlúčeniny všeobecného vzorca 1.

Predložený vynález sa okrem toho ďalej týka spôsobu liečby pacienta trpiaceho alebo vystaveného HCV infekcii, ktorý zahrňuje podávanie pacientovi farmaceuticky účinného množstva zlúčeniny všeobecného vzorca 1. Referencie uvedené tu a týkajúce sa liečby HCV infekcie by sa mali chápať tak, že zahrňujú profylaktickú terapiu na prevenciu alebo inhibíciu infekcie rovnako tak ako liečbu vzniknutej akútnej alebo chronickej HCV infekcie alebo fyziologických stavov, súvisiacich s HCV infekciou, na vyliečenie pacienta od infekcie, inhibíciu istého stupňa (množstva) infekcie alebo zlepšenie fyziologických stavov s ňou súvisiacich. "Účinné množstvo" sa chápe ako množstvo zlúčeniny podľa predloženého vynálezu, účinné v rámci rozumnej biologickej úvahy, vhodné na použitie v kontakte s bunkami človeka a ďalších cicavcov bez nepatričnej toxicity, podráždenia, alergickej odozvy a podobne a prináša rozumný pomer priaznivého pôsobenia a rizika pri liečbe HCV infekcie, a tým vytvára požadovaný terapeutický účinok.

Fyziologické stavy uvedené vyššie zahrňujú niektoré, ale nie všetky, možné klinické situácie, v ktorých je žiaduca liečba HCV. Odborníci v tomto odbore sú si dobre vedomí okolností vyžadujúcich liečbu HCV.

Konkrétny aspekt predloženého vynálezu sa týka zlúčenín podľa predloženého vynálezu na podávanie vo forme farmaceutickej kompozície, i keď zlúčenina sa môže podávať samotná. "Farmaceutická kompozícia" znamená kompozíciu obsahujúcu zlúčeninu všeobecného vzorca 1 a aspoň jednu zložku, zvolenú zo súboru, zahrňujúceho farmaceuticky prijateľné nosiče, riedidlá, povlaky, adjuvans, excipienty, alebo vehikulá, ako sú konzervačné činidlá, plnidlá, dezintegračné činidlá, zmäčacie činidlá, emulzifikačné činidlá,

čínidlá na stabilizáciu emulzie, suspenzné čínidlá, izotonické čínidlá, sladidlá, chuťové čínidlá, parfumačné čínidlá, farbivá, antibakteriálne čínidlá, antifungálne čínidlá, ďalšie terapeutické čínidlá, lubrikačné čínidlá, čínidlá spomaľujúce alebo podporujúce adsorpciu a dispenzné čínidlá, v závislosti od spôsobu podávania a dávkových foriem. Kompozície sa môžu používať vo forme tabliet, piluliek, granúl, práškov, vodných roztokov alebo suspenzií, injektovateľných roztokov, elixírov alebo sirupov. Príklady suspenzných činidiel zahŕňujú etoxylované izostearylalkoholy, polyoxyetylén-sorbitol a sorbitanové estery, mikrokryštalickú celulózu, metahydroxid hlinitý, bentonit, agar-agar a tragant alebo zmesi týchto látok. Príklady antibakteriálnych a antifungálnych činidiel na prevenciu pôsobenia mikroorganizmov zahŕňujú parabény, chlórbutanol, fenol, kyselinu sorbovú a podobne. Príklady izotonických činidiel zahŕňujú cukry, chlorid sodný a podobne. Príklady činidiel oneskorujúcich adsorpciu na predĺženie adsorpcie zahŕňujú monostearan hlinitý a želatínu. Príklady činidiel podporujúcich adsorpciu na zosilnenie absorpcie zahŕňujú dimetylsulfoxid a príbuzné analógy. Príklady nosičov, riedidiel, rozpúšťadiel, vehikul, solubilizačných činidiel, emulzifikátorov a emulzných stabilizátorov zahŕňujú vodu, chloroform, sacharózu, etanol, izopropylalkohol, etylkarbonát, etylacetát, benzylalkohol, tetrahydrofurfurylalkohol, benzylbenzoát, polyoly, propylénglykol, 1,3-butylénglykol, glycerol, polyetylénglykoly, dimetylformamid, Tween® 60, Span® 80, ketostearylalkohol, myristylalkohol, glyceryl monostearát a laurylsulfát sodný, estery mastných kyselín, sorbitan, rastlinné oleje (ako je olej z bavlíkových semien, podzemnicový olej, kukuričný olej, olivový olej, ricínový olej a sezamový olej) a injektovateľné organické estery ako je etyleoleát a podobne alebo vhodné zmesi týchto látok.

Príklady excipientov zahŕňujú laktózu, mliečny cukor, citrát sodný, uhličitan vápenatý, fosforečnan vápenatý. Príklady dezintegračných činidiel zahŕňujú škrob, algínové kyseliny a isté komplexné silikáty. Príklady lubrikantov zahŕňujú stearan horečnatý, laurylsulfát sodný, mastenec rovnako ako polyetylénglykoly s vysokou molekulovou hmotnosťou.

Ďalšie terapeutické činidlá, ktoré sa môžu použiť v kombinácii so zlúčeninami podľa predloženého vynálezu, zahrňujú ďalšie činidlá s účinkom proti HCV. Niektoré príklady známych činidiel s účinkom proti HCV zahrňujú imunomodulačné činidlá, ako sú α -, β - alebo γ -interferóny; pegylované derivatizované interferóny- α , ďalšie protivírusové činidlá ako je ribavirín a amantadín; ďalšie inhibítory proteázy hepatitídy C; inhibítory ďalších cieľov životného cyklu HCV vrátane helikázy, polymerázy, metaloproteázy, vnútorné ribozómové vstupy alebo širokospektrálne protivírusové zlúčeniny ako je VX497, inhibitor bunkovej inozín monofosfát dehydrogenázy, IMPDH, ktorého sa týka US patent č. 5,807,876; alebo ich kombinácie. Terapeutické činidlá, ktoré sa používajú v kombinácii so zlúčeninami podľa predloženého vynálezu, sa môžu podávať oddelene, súčasne alebo postupne.

Voľba materiálov vo farmaceutickej kompozícii, iných ako je zlúčenina všeobecného vzorca 1, sa všeobecne určí v súlade s chemickými vlastnosťami účinnej zlúčeniny ako je rozpustnosť, konkrétny spôsob podávania a opatrenia, ktoré sa majú dodržiavať vo farmaceutickej praxi. Napríklad excipienty ako je laktóza, citrát sodný, uhličitan vápenatý, fosforečnan vápenatý a dezintegračné činidlá ako je škrob, alginové kyseliny a isté komplexné silikáty skombinované s lubrikantmi ako je stearan horečnatý, laurylsulfát sodný a mastenec sa môžu použiť na prípravu tabliet.

Farmaceutické kompozície sa môžu používať vo vybraných formách ako sú tablety, pilulky, granuly, prášky, vodné roztoky alebo suspenzie, injektovateľné roztoky, elixíry alebo sirupy.

"Kvapalná dávková forma" znamená dávku účinnej zlúčeniny na podávanie pacientovi, ktorá je v kvapalnej forme, napríklad farmaceuticky prijateľné emulzie, roztoky, suspenzie, sirupy a elixíry. Okrem účinných zlúčenín môže kvapalná dávková forma obsahovať inertné riedidlá bežne používané v odbore, ako rozpúšťadlá, solubilizačné činidlá a emulzifikátory.

Pevné kompozície sa môžu tiež použiť ako náplne v mäkkých a tvrdých želatínových kapsulách s použitím takých excipientov ako je laktóza alebo mliečny cukor rovnako tak ako polyetylén glykoly s vysokou molekulovou

hmotnosťou a podobne.

Pokiaľ sa použijú vodné suspenzie, môžu obsahovať emulzifikačné činidlá alebo činidlá, ktoré uľahčujú vytváranie suspenzie.

Olejovitá fáza emulzie farmaceutickej kompozície môže pozostávať zo známych zložiek známym spôsobom. I keď fáza môže obsahovať len emulzifikátor (inak známy ako emulgátor), je žiaduce, aby obsahovala zmes aspoň jedného emulzifikátora s tukom alebo olejom alebo súčasne s tukom a olejom. Výhodne emulzia obsahuje hydrofilný emulzifikátor spolu s lipofilným emulzifikátorom, ktorý pôsobí ako stabilizátor. Je tiež výhodné zahrnúť súčasne olej a tuk. Emulzifikátor alebo emulzifikátory s alebo bez stabilizátora alebo stabilizátorov vytvárajú emulzifikačný vosk a tie spoločne s olejom a tukom vytvárajú emulzifikačný masťový základ, ktorý tvorí olejovitú dispergovanú fázu krémových prípravkov.

Ak sa to požaduje, vodná fáza krémového základu môže obsahovať napríklad aspoň 30 % hmotn. polyhydričného alkoholu, to znamená alkoholu, ktorý má dve alebo viacero hydroxylových skupín, ako je propylénglykol, bután-1,3-diol, manitol, sorbitol, glycerol a polyetylénglykol (vrátane PEG 400) a ich zmesi. Je žiaduce, aby topické prípravky obsahovali zlúčeninu, ktorá zlepšuje absorpciu alebo penetráciu účinnej zložky pokožkou alebo ďalšími dotknutým oblasťami.

Voľba vhodných olejov alebo tukov pre prípravok je založená na dosiahnutí požadovaných kozmetických vlastností. Krém by preto výhodne nemal byť mastný, nemal by vytvárať škvrny a mal by byť umývateľný s vhodnou konzistenciou kvôli zabráneniu úniku z túb a ďalších obalov.

Môžu sa použiť mono- alebo dibázické alkylestery s priamym alebo rozvetveným reťazcom ako je diizopropyl-myristát, decyl-oleát, izopropyl-palmitát, butyl-stearát, 2-etylhexyl-palmitát alebo zmes esterov s rozvetveným reťazcom známa ako Cromadol CAP. Tieto látky sa môžu použiť samotné alebo v kombinácii v závislosti od požadovaných vlastností. Alternatívne sa môžu použiť lipidy s vysokou teplotou topenia, ako je biely mäkký parafín

a/alebo kvapalný parafín alebo ďalšie minerálne oleje.

V praxi sa môžu zlúčeniny/farmaceutické kompozície podľa predloženého vynálezu podávať vo vhodnom prípravku ľuďom a zvieratám topickým alebo systémovým podávaním, ktoré zahŕňa podávanie orálne, inhalačné, rektálne, nazálne, bukálne, sublinguálne, vaginálne, rektálne, parenterálne (do toho počítajúc podávanie subkutánne, intramuskulárne, intravenózne, intradermálne, intratekálne a epidurálne), intracisternálne a intraperitoneálne. Je zrejmé, že výhodný spôsob podávania sa môže meniť napríklad v závislosti od stavu príjemcu.

"Farmaceuticky prijateľné dávkové formy" označujú dávkové formy zlúčenín podľa predloženého vynálezu a zahŕňujú napríklad tablety, dražé, prášky, elixíry, sirupy, kvapalné prípravky vrátane suspenzií, sprejov, inhalačných tabliet, pastiliek, emulzií, roztokov, granúl, kapsúl a čapíkov, rovnako tak ako kvapalné prípravky pre injekcie, vrátane lipozómových prípravkov. Spôsoby a prípravky všeobecne sa môžu zistiť v Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton PA, posledné vydanie.

"Prípravky vhodné na orálne podávanie" sa môžu podávať ako diskkrétne jednotky ako sú kapsuly, tobolky alebo tablety, každá obsahujúca vopred určené množstvo účinnej zložky; vo forme prášku alebo granúl; ako roztok alebo suspenzia vo vodnej kvapaline alebo bezvodej kvapaline; alebo ako kvapalná emulzia typu olej vo vode alebo kvapalná emulzia typu voda v oleji. Účinná zložka sa môže tiež podať ako bolus alebo pasta.

Tableta sa môže vyrobiť lisovaním alebo odlievaním, prípadne s jednou alebo viacerými dodatočnými zložkami. Lisované tablety sa môžu pripraviť vo vhodnom stroji lisovaním účinnej zložky v sypkej forme, ako je prášok alebo granula, prípadne zmiešanej s väzbovým činidlom, lubrikantom, inertným riedidlom, konzervačným činidlom, povrchovo aktívnym alebo disperzným činidlom. Odlievané tablety sa môžu vyrobiť vo vhodnom stroji odlievaním zmesi práškovej zlúčeniny zvlhčenej inertným kvapalným riedidlom. Tablety sa môžu prípadne potahovať alebo ryhovať a môžu sa upraviť na získanie pomalého alebo riadeného uvoľňovania účinnej zložky.

Pevné kompozície na rektálne podávanie zahrňujú čapíky vyrobené známymi spôsobmi a obsahujúce aspoň jednu zlúčeninu podľa predloženého vynálezu.

Ak sa to požaduje a kvôli účinnejšej distribúcii sa môžu zlúčeniny mikroenkapsulovať do alebo na systémy na pomalé uvoľňovanie alebo cielené podávanie, ako sú biologicky zlučiteľné a biologicky degradovateľné polymerizačné matrice (napríklad poly(d,1-laktid ko-glykolid)), lipozómy a mikrosféry a subkutánne alebo intramuskulárne injektované spôsobom nazývaným subkutánnym alebo intramuskulárnym depot kvôli získaniu kontinuálneho pomalého uvoľňovania zlúčeniny alebo zlúčenín počas dvoch týždňov alebo dlhšie. Zlúčeniny sa môžu sterilizovať, napríklad filtráciou cez filter zadržiavajúci baktérie alebo zabudovaním sterilizačných čidiel vo forme sterilných pevných kompozícií, ktoré sa môžu rozpustiť v sterilnej vode alebo v niektorom inom sterilnom injektovateľnom médiu bezprostredne pred použitím.

"Prípravky vhodné na nazálne alebo inhalačné podávanie" znamenajú prípravky, ktoré sú vo forme vhodnej na podávanie nazálne alebo inhaláciou pacienta. Prípravok môže obsahovať nosič v práškovej forme, ktorý má veľkosť častíc napríklad v rozmedzí od 1 do 500 mikrónov (do toho počítajúc veľkosť častíc v rozmedzí medzi 20 a 500 mikrónmi s prírastkami po 5 mikrónoch, ako je 30 mikrónov, 35 mikrónov a podobne). Vhodné prípravky, v ktorých je nosič kvapalný, na podávanie ako napríklad nazálny sprej alebo nazálne kvapky, zahrňuje vodné alebo olejovité roztoky účinnej zložky. Prípravky vhodné na aerosólové podávanie sa môžu pripraviť bežnými spôsobmi a môžu sa podávať s ďalšími terapeutickými činidlami. Inhalačná terapia sa ľahko podáva inhalačnými prístrojmi s odmeranou dávkou.

"Prípravky vhodné na orálne podávanie" znamenajú prípravky, ktoré sú vo forme vhodnej na podávanie pacientovi orálnou cestou. Prípravky sa môžu vytvoriť ako diskretné jednotky ako sú kapsuly, tobolky alebo tablety, každá obsahujúca vopred určené množstvo účinnej zložky; vo forme práškov alebo granúl; ako roztok alebo suspenzia vo vodnej kvapaline alebo bezvodej

kvapaline; alebo ako kvapalná emulzia typu olej vo vode alebo kvapalná emulzia typu voda v oleji.

"Prípravky vhodné na parenterálne podávanie" znamenajú prípravky, ktoré sú vo forme vhodnej na podávanie pacientovi parenterálne. Prípravky sú sterilné a zahrňujú emulzie, suspenzie, vodné a bezvodé injekčné roztoky, ktoré môžu obsahovať suspenzné činidlá a zahusťujúce činidlá a antioxidanty, pufre, bakteriostatiká a látky, ktoré spôsobia, že prípravok sa stane izotonickým a majú vhodné upravené pH vzhľadom na krv príjemcu.

"Prípravky vhodné na rektálne alebo vaginálne podávanie" znamenajú prípravky, ktoré sú vo forme vhodnej na podávanie pacientovi rektálne alebo vaginálne. Prípravok je výhodne vo forme čapíkov, ktoré sa môžu pripraviť zmiešaním zlúčeniny podľa predloženého vynálezu s vhodnými nedráždivými excipientmi alebo nosičmi ako je kakaové maslo, polyetylén glykol alebo čapíkový vosk, ktoré sú tuhé za bežných teplôt, ale kvapalné pri teplote tela, a preto sa topia v rektálnej alebo vaginálnej dutine a uvoľňujú účinnú zložku.

"Prípravky vhodné na systémové podávanie" znamenajú prípravky, ktoré sú vo forme vhodnej na podávanie pacientovi systémovo. Prípravok sa výhodne podáva injekciou, počítajúc do toho injekciu transmuskulárnu, intravenóznú, intraperitoneálnu a subkutánnu. Na použitie v injekcii sú zlúčeniny podľa predloženého vynálezu v kvapalnom roztoku, výhodne vo fyziologicky zlučiteľných pufroch ako je Hankov roztok alebo Ringerov roztok. Okrem toho zlúčeniny sa môžu pripraviť v pevnej forme a rozpustiť alebo suspendovať tesne pred injekciou. Sú tiež zahrnuté lyofilizované formy. Systémové podávanie sa tiež môže vykonávať transmukozálnym alebo transdermálnym spôsobom alebo sa zlúčeniny môžu podávať orálne. Na transmukozálne alebo transdermálne podávanie sa používajú penetranty zodpovedajúce bariére, ktorá sa má prestúpiť. Takéto penetranty sú všeobecne v odbore známe a zahrňujú napríklad žľčovú soli a deriváty kyseliny fuzidovej na transmukozálne podávanie. Okrem toho sa môžu použiť detergenty kvôli uľahčeniu prestupu. Transmukozálne podávanie sa môže dosiahnuť napríklad použitím nazálnych sprejov alebo čapíkov. Na orálne podávanie sa zlúčeniny upravujú do bežných

foriem na orálne podávanie ako sú kapsuly, tablety a toniká.

"Prípravky vhodné na topické podávanie" znamenajú prípravky, ktoré sú vo forme vhodnej na topické podávanie pacientovi. Prípravok sa môže pripraviť ako topická masť, balzamy, prášky, spreje a inhalanty, gély (na báze vody alebo alkoholu), krémy, ako je v odbore všeobecne známe, alebo sa zabudovať do matricovej bázy na aplikáciu v náplasti, ktorá umožní riadené uvoľňovanie zlúčeniny cez transdermálnu bariéru. Pokiaľ sa pripravujú vo forme masti, účinné zložky sa môžu použiť buď s parafínovým alebo s vodou miešateľným základom masti. V súlade s tým sa účinné zložky môžu pripraviť vo forme krému so základom masti typu olej vo vode. Prípravky vhodné na topické podávanie do oka zahŕňujú očné kvapky, v ktorých sa účinná zložka rozpustí alebo suspenduje vo vhodnom nosiči, obzvlášť vo vodnom rozpúšťadle účinnej zložky. Prípravky vhodné na topické podávanie do úst zahŕňujú pastilky obsahujúce účinnú zložku v ochutenom základe, bežne sa používa sacharóza a akáciová guma alebo tragant; pastilky obsahujúce účinnú zložku v inertnom základe ako je želatína a glycerín alebo sacharóza a akáciová guma; a ústne vody s účinnou zložkou vo vhodnom kvapalnom nosiči.

"Pevná dávková forma" znamená dávkovú formu zlúčeniny podľa predloženého vynálezu, ktorá je v pevnom stave, napríklad kapsuly, tablety, pilulky, prášky, dražé alebo granuly. V takýchto pevných dávkových formách sa zlúčenina podľa predloženého vynálezu zmieša s aspoň jedným inertným bežným excipientom (alebo nosičom) ako je citrát sodný alebo fosforečnan vápenatý alebo (a) plnidlami alebo extendérmami ako je napríklad škrob, laktóza, sacharóza, glukóza, manitol a kyselina kremičitá, (b) väzbové činidlá ako napríklad karboxymetylcelulóza, algináty, želatína, polyvinylpyrolidón, sacharóza a akáciová guma, (c) zvlhčovadlá ako napríklad glycerol, (d) dezintegračné činidlá ako napríklad agar - agar, uhličitan vápenatý, zemiakový alebo maniakový škrob, kyselina alginová, isté komplexné kremičitany a uhličitan sodný, (e) oneskorovače rozpustenia ako je napríklad parafín, (f) urýchľovače absorpcie ako sú napríklad kvartérne amóniové zlúčeniny, (g) zmäčacie činidlá ako je napríklad ketylalkohol a glycerolmonostearát, (h)

adsorbenty ako je napríklad kaolín a bentonit, (i) lubrikanty ako je napríklad mastenec, stearan vápenatý, stearan horečnatý, pevné polyetylénglykoly, lauryl sodný, (j) činidlá spôsobujúce nepriehľadnosť; (k) pufre a činidlá, ktoré spôsobujú uvoľňovanie zlúčeniny alebo zlúčenín podľa predloženého vynálezu v istej časti intestinálneho traktu oneskoreným spôsobom.

Skutočné dávky účinnej zložky alebo zložiek v kompozíciách podľa predloženého vynálezu sa môžu meniť tak, aby sa dosiahlo množstvo účinnej zložky alebo zložiek, ktoré je účinné na získanie požadovanej terapeutickkej odozvy pre konkrétnu kompozíciu a spôsob podávania pacientovi. Zvolená dávková hladina pre konkrétnoho pacienta preto závisí od radu faktorov vrátane požadovaného terapeutického účinku, spôsobu podávania, požadovanej doby trvania liečby, etiológie a závažnosti ochorenia, pacientovho stavu, hmotnosti, pohlavia, diéty a veku, typu a sily každej účinnej zložky, rýchlosti absorpcie, metabolizmu a/alebo vylučovania a ďalších faktorov.

Celková denná dávka zlúčenín podľa predloženého vynálezu podávaná pacientovi naraz alebo v rozdelených dávkach môže byť napríklad v množstve od približne 0,001 do približne 100 mg na jeden kilogram telesnej hmotnosti denne a výhodne 0,01 do 10 mg/kg/deň. Napríklad u dospelého sú dávky všeobecne od približne 0,01 do približne 100, výhodne od približne 0,01 do približne 10 mg na jeden kilogram telesnej hmotnosti denne pri inhalácii, od približne 0,01 do približne 100, výhodne od 0,1 do 70, výhodnejšie od 0,5 do 10 mg na jeden kilogram telesnej hmotnosti denne pri orálnom podávaní a od približne 0,01 do približne 50, výhodne od 0,01 do 10 mg na jeden kilogram telesnej hmotnosti denne pri intravenóznom podávaní. Percento účinnej zložky v kompozícii sa môže meniť, i keď by malo predstavovať takú časť, aby sa dosiahlo vhodné dávkovanie. Dávková jednotka kompozície môže obsahovať také množstvá takých dielov, koľko sa môže použiť v jednej dennej dávke. Je zrejmé, že niekoľko jednotkových dávkových foriem sa môže podávať v približne rovnakú dobu. Dávka sa môže podávať tak často, ako je potrebné na dosiahnutie požadovaného terapeutického účinku. Odozva niektorých pacientov môže byť rýchla na vyššie alebo nižšie dávky a môže sa stať, že

zodpovedajúce sú oveľa slabšie udržiavacie dávky. Pre iných pacientov môže byť nutné pristúpiť k dlhodobej liečbe s podávaním 1 až 4 dávok denne v súlade s fyziologickými požiadavkami každého individuálneho pacienta. Nie je nutné uvádzať, že pre iných pacientov môže byť nutné nepredpisovať viac ako jednu alebo dve dávky denne.

Prípravky sa môžu pripraviť v jednotkovej dávkovej forme ľubovoľným zo spôsobov dobre známych vo farmaceutickom odbore. Takéto spôsoby zahŕňujú krok spojenia účinnej zložky s nosičom, ktorý predstavuje jednu alebo viacero doplnkových zložiek. Všeobecne sa prípravky pripravujú rovnomerným a dôkladným spojením účinnej zložky s kvapalnými nosičmi alebo jemne rozdelenými pevnými nosičmi alebo oboma druhmi nosičov a potom, ak je to potrebné, tvarovanie produktu.

Prípravky sa môžu podávať v balení alebo nádobkách s jednotkovou dávkou alebo viacerými dávkami, napríklad v uzatvorených ampulkách alebo fľaštičkách s elastomérnymi uzávermi a môžu sa uchovávať sušené vymrazovaním (lyofilizované) a vyžadujúce iba prídanie sterilného kvapalného nosiča, napríklad vody pre injekcie, bezprostredne pred použitím. Okamžité injekčné roztoky a suspenzie sa môžu pripraviť zo sterilných práškov, granúl a tabliet vyššie opísaného typu.

Zlúčeniny spadajúce do rozsahu predmetu predloženého vynálezu vykazujú významné farmakologické účinky, ako je možné preukázať testami opísanými v literatúre a testami uvedenými ďalej, pričom sa predpokladá, že výsledky testov korelujú s farmakologickými účinkami u človeka a ďalších cicavcov.

In vitro enzýmový test

Inhibícia HCV NS3 serínovej proteázy

Oblasť HCV NS3 proteázy sa exprimovala a čistila spôsobom už opísaným (Vertex, PCT publikovaná patentová prihláška WO 98/17679; ktorá je tu zahrnutá ako referencia). Chromogénny peptidový substrát, EDVVAbuC-p-nitroanilid, a fragment kofaktoru NS4A (-KKGSWIVGRIVLSGK-) pre NS3 proteázu sa na zákazku syntetizoval spoločnosťou American Peptide Com (CA). Zlúčeniny podľa predloženého vynálezu sa testovali na ich schopnosť inhibície aktivity HCV NS3 proteázy použitím spektrofotometrického testu s EDVVAbuC-p-nitroanilidom ako substrátom. Test sa vykonával v 96-jamkovej mikrotitračnej doštičke použitím čítačky SpectraMax 250 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) s kinetickými možnosťami. Štiepenie EDVVAbuC-p-nitroanilidového (500 μ M) substrátu čistenou HCV NS3 proteázou (0,5 μ M) sa vykonávalo pri teplote 30 °C v pufri obsahujúcom 30 μ M NS4A fragment, 46 mM Hepes, pH 8,0, 92 mM NaCl, 18 % glycerolu, 5 mM DTT a 7,5 % DMSO v neprítomnosti alebo prítomnosti testovanej zlúčeniny. Reakcia sa monitorovala na uvoľňovanie pNA (p-nitroanilín) na vlnovej dĺžke 405 nm.

Určovanie kinetických parametrov vrátane $V_{\max}$, K_m a $V_{\max}/K_m$ sa vykonáva za podmienok opísaných vyššie. Hodnoty K_i sa vypočítajú z grafov pomeru v závislosti od inhibítora pre pevné koncentrácie enzýmu a substrátu nelineárnou metódou najmenších štvorcov na dátach použitím Morrisonovej rovnosti pre kompetitívne inhibície tesnej väzby (J. F. Morrison, Biochim. Biophys. Acta, 185, 269 - 286 (1969)). Pre túto procedúru sa používa program Prism (GraphPad Software, Inc.).

Inhibítory HCV serínových proteáz opísané v tejto prihláške sa môžu použiť v kombinácii s ďalšími molekulami, ktoré priamo vykazujú alebo nepriamo vyvolávajú účinok proti HCV buď profylakticky u pacienta s rizikom vzniku HCV infekcie alebo na liečenie pacientov, ktorí sú už infikovaní. Výraz "účinok proti HCV" označuje schopnosť molekuly, pokiaľ je prítomná, úplne

inhibovať alebo znižovať akumuláciu HCV viriónov v porovnaní s akumuláciou HCV viriónov v neprítomnosti takejto molekuly a/alebo schopnosť molekuly znižovať alebo zlepšovať stavy alebo symptómy súvisiace s HCV infekciou alebo patogenézou u pacienta. Molekuly, ktoré sú účinné proti HCV, zahŕňujú tie, ktoré prerušujú jeden alebo viacero krokov HCV infekcie alebo replikácie, rovnako tak ako molekuly, ktoré vyvolávajú imunomodulačné a antiproliferatívne pôsobenie v hostiteľských bunkách. Molekuly, ktoré sú účinné proti HCV, môžu inhibovať HCV-špecifické replikačné udalosti ako je neobmedzujúcim spôsobom HCV-riadená syntéza nukleových kyselín alebo proteínov. Etapy replikácie HCV, v ktorých molekula s účinkom proti HCV môže pôsobiť, zahŕňujú vstup do bunky (napríklad naviazanie alebo prestup); odhaľovanie a uvoľňovanie genómu HCV; replikáciu genómu HCV (napríklad replikácia ktoréhokoľvek vlákna RNA genómu vírusu; transkripcia mediátorovej RNA vírusu); translácia HCV proteínov; posttranslačné modifikácie HCV proteínov (napríklad proteolytické štiepenie; glykozylácia); vnútrobunkový prenos proteínov vírusu; zostavovanie zložiek viriónu; a uvoľňovanie vírusových častíc (napríklad pučanie).

Triedy molekúl, ktoré majú protivírusovú aktivitu, zahŕňujú neobmedzujúcim spôsobom rozpustné receptor návnady a protilátky proti receptorom; blokátory iónových kanálov, stabilizátory kapsidov a inhibitory fúzaných proteínov; inhibitory vírusových polymeráz, reverzné transkriptázy, helikázy, primázy alebo integrázy; protismerné oligonukleotidy a ribozýmy; imunomodulačné a imunostimulačné činidlá, vrátane cytokínov ako sú interferóny, rovnako tak ako peptidové agonisty, steroidy a klasické látky ako je levamisol; inhibitory regulačných proteínov; inhibitory proteáz; inhibitory zostavovania proteínov; a protilátky proti vírusom a cytotoxické lymfocyty. Výraz "množstvo účinné proti HCV" alebo "farmaceuticky účinné množstvo" znamená množstvo zlúčeniny alebo kombinácie zlúčenín, ako sú tu opísané, účinné na zníženie alebo zlepšenie stavov alebo symptómov súvisiacich s HCV infekciou alebo súvisiacich s patogenézou u pacienta, alebo zníženie hladín vírusov *in vitro* alebo *in vivo*. *In vitro* aplikácie zahŕňujú testovací systém Replicon Assay opísaný ďalej, kde sú takéto množstvá účinné na zníženie akumulácie

replikónovej RNA vírusu HCV a/alebo akumulácie proteínov kódovaných tam obsiahnutými génmi.

Zlúčeniny, ktoré sú účinné proti HCV, uvažované na použitie v kompozíciách a spôsoboch tu opísanej kombináčnej terapie, zahŕňujú neobmedzujúcim spôsobom imunomodulačné molekuly, vrátane imunostimulačných cytokínov, a ďalšie zlúčeniny, o ktorých je známe, že majú HCV protívirusový účinok, ako sú rôzne protívirusové nukleozidy a nukleotidy.

Imunomodulačné molekuly uvažované na použitie v kombinácii s inhibítormi HCV serínových proteáz, opísanými v predloženej prihláške vynálezu, zahŕňujú neobmedzujúcim spôsobom interferón- α 2B (Intron A, Schering Plough); Rebatron (Schering Plough, Interferón- α 2B + Ribavirin); pegylovaný interferón α (Reddy, K. R. a kol., Efficacy and safety of pegylated (40 - kd) interferon α -2a compared with interferon α -2a in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*, 33, 433 - 438 (2001)); konsenzuálny interferón (Kao, J. H., Chen, P. J., Lai, M. Y. a Chen, D. S., Efficacy of consensual interferon in the treatment of chronic hepatitis C. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 15, 1418 - 1423 (2000)); interferón- α 2A (Roferon, A., Roche); lymfoblastoid alebo "prirodzený" interferón; interferón tau (Clayette, P. a kol., IFN-tau, a new interferon type I with antiretroviral activity. *Pathol. Biol. (Paríž)*, 47, 553 - 559 (1999)); interleukín 2 (Davis, G. L., Nelson, D. R. a Reyes, G. R., Future options for the management of hepatitis C. *Seminars in Liver Disease* 19, 103 - 112 (1999)); Interleukín 6 (Davis, G. L., Nelson, D. R. a Reyes, G. R., Future options for the management of hepatitis C. *Seminars in Liver Disease*, 19, 103 - 112 (1999)); Interleukín 12 (Davis, G. L., Nelson, D. R. a Reyes, G. R., Future options for the management of hepatitis C. *Seminars in Liver Disease*, 19, 103 - 112 (1999)); Ribavirin; a zlúčeniny, ktoré posilňujú vznik odozvy "helper" T buniek typu 1 (Davis, G. L., Nelson, D. R. a Reyes, G. R., Future options for the management of hepatitis C. *Seminars in Liver Disease*, 19, 103 - 112 (1999)). Interferóny môžu zlepšovať stav vírusových infekcií priamym protívirusovým pôsobením a/alebo modifikáciou imunitnej odozvy na infekciu. Protívirusové účinky interferónov sa často dosahujú inhibíciou

prestupu alebo odhaľovania vírusov, syntézy RNA vírusu, translácie proteínov vírusu a/alebo zostavovania a uvoľňovania vírusu.

Zlúčeniny, ktoré stimulujú syntézu interferónu v bunkách (Tazulakhova, E. B., Parshina, O. V., Gusev, T. S. a Ershov, F. I., Russian Experience in Screening, Analysis, and Clinical Application of Novel Interferon Induces. *J. Interferon Cytokine Res.*, 21, 65 - 73)) zahrňujú neobmedzujúcim spôsobom dvojvláknovú RNA samotnú alebo v kombinácii s tobramycínom a Imiquimod (3M Pharmaceuticals) (Sauder, D. N., Imunomodulačné a farmakologické vlastnosti imiquimodu. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 43, S6 - 11 (2000)).

Ďalšie zlúčeniny, o ktorých je známe, že majú alebo môžu mať HCV protívírusový účinok pôsobením neimunomodulačného mechanizmu, zahrňujú neobmedzujúcim spôsobom Ribavirin (ICN Pharmaceuticals); inhibítory inozín 5'-monofosfát dehydrogenázy (VX-497, vyvíja spoločnosť Vertex Pharmaceuticals); amantadín a rimantadín (Younossi, A. M. a Perillo, R. P., The roles of amantadin, rimantadin, ursodeoxycholic acid, NSAIDs, alone or in combination with alpha interferons, in the treatment of chronic hepatitis C. *Seminars in Liver Disease* 19, 95 - 102 (1999)); LY217896 (US patent 4,835,168) (Colacino, J. M. a kol., Evaluation of the anti-influenza virus activities of 1,3,4-thiadiazol-2-ylcyanamid (LY217896) and its sodium salt. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 34, 2156 - 2163 (1990)); a metylester kyseliny 9-hydroxyimino-6-metoxi-1,4a-dimetyl-1,2,3,4,4a,9,10,10a-oktahydro-fenantren-1-karboxylovej; hydrochlorid metylesteru kyseliny 6-metoxi-1,4a-dimetyl-9-(4-metyl-piperazín-1-ylimino)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-oktahydro-fenantren-1-karboxylovej; 1-(2-chlór-fenyl)-3-(2,2-difenyl-etyl)-močovinu (US patent 6,127,422).

Prípravky, dávkovanie a spôsoby podávania vyššie uvedených molekúl sa buď opisujú v ďalej uvedených referenciách alebo sú dobre známe v odbore, pozri napríklad F. G. Hayden, v Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9. vyd., Hardman a kol., editori, McGraw-Hill, New York (1996), kapitola 50, str. 1191 - 1223 a tam citované referencie. Alternatívne, ak sa identifikuje zlúčenina, ktorá vykazuje HCV protívírusový

účinnok, farmaceuticky účinné množstvo tejto zlúčeniny sa môže určiť použitím spôsobov, ktoré sú dobre známe odborníkom. Pozri napríklad Benet a kol., v Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9. vyd., Hardman a kol., editori, McGraw-Hill, New York (1996), kapitola 1, str. 3 - 27, a tam citované referencie.

Vhodná forma prípravku, rozmedzie dávky alebo dávok a režimy dávkovania takýchto zlúčenín sa môžu ľahko určiť bežnými spôsobmi.

Kombinácie liečiv podľa predloženého vynálezu sa môžu dopraviť do bunky alebo buniek alebo ľudskému pacientovi buď v oddelených farmaceuticky prijateľných prípravkoch, podávaných súčasne alebo postupne, alebo v prípravkoch obsahujúcich viac ako jedno terapeutické činidlo, alebo v súboroch jednotlivých činidiel a prípravkov s viacnásobnými činidlami. Ak sa však podávajú, tieto kombinácie látok spolu predstavujú množstvo zložiek účinné proti HCV.

V súčasnej dobe je dostupné veľké množstvo ďalších imunomodulátorov a imunostimulátorov, ktoré sa môžu použiť v spôsoboch podľa predloženého vynálezu, tento súbor zahŕňa: AA-2G; adamantylamid dipeptid, adenosín deaminázu, Enzon; adjuvans, Alliance; adjuvans, Ribic; adjuvans, Vaxcel; Adjuvax; agelasfin-11, terapiu proti AIDS, Chiron; algalglukan, SRI; algammulin, Anutech; Anginlyc; protibunkové faktory, Yeda; Anticort; imunogén antigestastrin-17, Ap; antigénové systémy, Vac; antigénový prípravok, IDBC; antiGnRH imunogén, Apton; Antiherpin; Arbidol; azarol; Bay-q-8939; Bay-r-1005; BCH-1393; Betafectin; Biostim; BL-001, BL-009; Broncostat; Cantastim; CDRI-84-246; cefodizim; inhibitory chemokínov, ICOS; CMV peptidy, City of Hope; CN-5888; cytokín uvoľňujúci činidlo, St; DHEAS, Paradigm; DISC TA-HSV; J07B; I01A, IO1Z; ditiokarb sodný; ECA-10-142; ELS-1; endotoxín, Novartis; FCE-20696; CE-24089; FCE-24578; ligand FLT-3, Immunex, FR-900483; FR-900494; FR-901235; FTS-Zn; G-proteíny, Cadus; glutapcin; glutaurin; glykofosfopeptické látky; GM-2; GM-53; GMDP; vakcína rastového faktoru, EntreM; H-BIG, NABI; H-CIG; NABI; HAB-439, vakcíny proti *Helicobacter pylori*; herpes-špecifický imunitný faktor; terapia HIV, United Biomed; HyperGAM+CF;

h-nmumax; Immun BCG; imunitná terapia, Connective; imunomodulátor, Evans; imunomodulátory, Novacell; imreg-1, imreg-2; Indomune; inozín pranobex; interferón, Dong-A ($\alpha 2$); interferón, Genentech (gama); interferón, Novartis (α); interleukín-12, Genetics Ins.; interleukín-15, Immunex; interleukín-16, Research Cor; ISCAR-1, J005X; L-644257; kyselina likomarazmínová; LipoTher; LK-409; LK-410; LP-2307; LT (R1926); LW-50020; MAF, Shionogi; deriváty MDP, Merck; met-enkefalín, TNI; metylfurylbutyrolaktóny; MIMP; mirimostim; zmiešané bakteriálne vakcíny, Tem; MM-1; moniliastat; MPLA, Ribí; MS-705; murabutid; murabutid, Vacsyn; muramyl dipeptidový derivát; muramyl peptidové deriváty myelopid; -563; NACOS-6, NH-765; NISV, Proteus; NPT-16416; NT-002; PA-485; PEFA-814; peptidy, Scios; peptidoglykán, Pliva; Perthon, Advanced Plant ; derivát PGM, Pliva; Pharmaprojects č. 1099; č. 1426; č. 1549; č. 1585; č. 1607; č. 1710; č. 1779; č. 2002; č. 2060; č. 2795; č. 3088; č. 3111; č. 3345; č. 3467; č. 3668; č. 3998; č. 3999; č. 4089; č. 4188; č. 4451; č. 4500; č. 4689; č. 4833; č. 494; č. 5217; č. 530; pidotimod; pimelautid; pinafid; PMD-589; podofylotoxín, Conpharm; POL-509; poly-ICLC; poly-ICLC, Yamasa Shoyu; PolyA-PolyU; Polysaccharide A; protein A, Berlox Bioscience; PS34WO; pseudomonády MAbs, Teijin; Psomaglobin; PTL-78419; Pyrexol; pyriferon; Retrogen; Retropep; RG-003; Rhinostat; rifamaxil; RM-06; Rollin; romurtid; RU-40555; RU-41821; protilátka proti *Rubella*, ResCo; S-27609; SB-73; SDZ-280-636; SDZ-MRL-953; SK and F-107647; SL04; SL05; SM-4333; Solutein; SRI-62-834; SRL-172; ST-570; ST-789; stafágový lyzát; Stimulon; suppressin; T-150R1; T-LCEF; tabilautid; temurtid; Theradigm-HBV; Theradigm-HPV; Theradigm-HSV; THF, Pharm and Upjohn; THF, Yeda; thymalfasin; frakcie hormónu týmusu; thymocartin; thymolymfotropin; thymopentin; analógy thymopentinu; thymopentin, Peptech; tymozínová frakcia 5, Alpha; thymostimulín; thymotrinan; TMD-232; TO-115; transférové faktory, Viragen; tuftsin, Selavo; ubenimex; Ulsastat; ANGG-; CD-4; Collag+; COLSF+; COM+; DA-A+; GAST-; GF-TH+; GP-120-; IF+; IF-A+; IF-A-2+; IF-B+; IF-G+; IF-G-1B+; IL-2+; IL-12+; IL-15+; IM+; LHRH-; LIPCOR+L LYM-B+; LYM-NK+; LYM-T+; OPI+; PEP+; PHG-MA+; RNA-SYN-; SY-CW-; TH-A-1+; TH-5+;

TNF+; UN.

Reprezentatívne nukleozidové a nukleotidové zlúčeniny použiteľné podľa predloženého vynálezu zahŕňujú neobmedzujúcim spôsobom: (+)-cis-5-fluór-1-[2-(hydroxymetyl)-[1,3-oxatiolan-5-yl]cytozín; (-)-2'-deoxy-3'-tiocytidín-5'-trifosfát (3TC); (-)-cis-5-fluór-1-[2-(hydroxymetyl)-[1,3-oxatiolan-5-yl]cytozín (FTC); (-)-2',3'-dideoxy-3'-tiacytidín [(-)-SddC]; 1-(2'-deoxy-2'-fluór-beta-D-arabinofuranozyl)-5-jódcytozín (FIAC); 1-(2'-deoxy-2'-fluór-beta-D-arabinofuranozyl)-5-jódcytozín trifosfát; 1-(2'-deoxy-2'-fluór-beta-D-arabinofuranozyl)-5-metyluracil (FMAU); 1-beta-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazol-3-karboxamid; 2',3'-dideoxy-3'-fluór-5-metyl-dexocytidín; 2',3'-dideoxy-3'-chlór-5-metyl-dexocytidín (ClddMeCyt); 2',3'-dideoxy-3'-amino-5-metyl-dexocytidín; 2',3'-dideoxy-3'-fluór-5-metyl-cytidín (FddMeCyt); 2',3'-dideoxy-3'-chlór-5-metyl-cytidín (ClldMeCyt); 2',3'-dideoxy-3'-amino-5-metyl-cytidín (AddMeCyt); 2',3'-dideoxy-3'-fluórtymidín (FddThd); 2',3'-dideoxy-beta-L-5-fluórcytidín (beta-L-FddC); 2',3'-dideoxy-beta-L-5-tiacytidín; 2',3'-dideoxy-beta-L-5-cytidín (beta-L-ddC); 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymetyl)guanín; 2'-deoxy-3'-tia-5-fluórcytozín; 3'-amino-5-metyl-dexocytidín (AddMeCyt); 2-amino-1,9-[(2-hydroxymetyl-1-(hydroxymetyl)etoxy)metyl]-6H-purín-6-ón (gancyklovírus); 2-[2-(2-amino-9H-purín-9-yl)etyl]-1,3-propándil diacetát; 2-amino-1,9-dihydro-9-[(2-hydroxy-etoxy)metyl]-6H-purín-6-ón (acyklovírus); 9-(4-hydroxy-3-hydroxymetyl-but-1-yl) guanín (penciclovírus); 9-(4-hydroxy-3-hydroxymetyl-but-1-yl)-6-deoxy-guanín diacetát (famciclovírus); 3'-azido-3'-deoxytymidín (AZT); 3'-chlór-5-metyl-dexocytidín (ClldMeCyt); 9-(2-fosfonyl-metoxyetyl)-2',6'-diaminopurín-2',3'-dideoxyribozid; 9-(2-fosfonyl-metoxyetyl)adenín (PMEA); acyklovírus trifosfát; D-karbocyklický-2'-deoxyguanozín (CdG); dideoxycytidín; dideoxycytozín; dideoxyguanín (ddG); dideoxyinozín (ddl); E-5-(2-brómvinyl)-2'-deoxyuridín trifosfát; fluór-arabinofuranozyl-jóduracil; 1-(2'-deoxy-2'-fluór-1-beta-D-arabinofuranozyl)-5-jód-uracil (FIAU); stavudín; 9-beta-D-arabinofuranozyl-9H-purín-6-amín monohydrát; 9-beta-D-arabinofuranozyl-9H-pyrín-6-amín-5'-monofosfát monohydrát (Ara-AMP); 2-deoxy-3'-tia-5-fluórcytidín; 2',3'-dideoxy-guanín; a 2',3'-dideoxyguanozín.

Spôsoby syntézy na prípravu nukleozidov a nukleotidov použiteľných podľa predloženého vynálezu sú v odbore dobre známe a sú opísané napríklad v Acta Biochim. Pol., 43, 25 - 36 (1996); Swed. Nucleosides Nucleotides, 15, 361 - 378 (1996); Synthesis, 12, 1465 - 1479 (1995); Carbohydr. Chem., 27, 242 - 276 (1995); Chem. Nucleosides Nucleotides, 3, 421 - 535 (1994); Ann. Reports in Med. Chem., Academic Press; a Exp. Opin. Invest. Drugs, 4, 95 - 115 (1995).

Chemické reakcie opísané v referenciách uvedených vyššie sú všeobecne opísané ako najvšeobecnejšia aplikácia prípravy zlúčenín podľa predloženého vynálezu.

V niektorých prípadoch reakcia nemusí byť aplikovateľná spôsobom, ktorý bol opísaný, na každú zlúčeninu spadajúcu do rozmedzia zlúčenín podľa predloženého vynálezu. Zlúčeniny, ktorých sa to týka, odborníci v odbore ľahko spoznajú. Vo všetkých takýchto prípadoch sa reakcie môžu úspešne vykonávať bežnými modifikáciami známymi odborníkom v odbore, napríklad vhodnou ochranou interferujúcich skupín, voľbou iných bežných reakčných činidiel, rutinnou modifikáciou reakčných podmienok a podobne alebo sa môžu použiť ďalšie reakcie tu opísané alebo iné bežné postupy na prípravu zodpovedajúcich zlúčenín podľa predloženého vynálezu. Vo všetkých preparatívnych spôsoboch sú východiskové materiály známe alebo ľahko dostupné zo známych východiskových materiálov.

Zatiaľ čo nukleozidové analógy sa všeobecne používajú ako protivírusové činidlá bez modifikácií, nukleotidy (fosfáty nukleozidov) sa niekedy musia premeniť na nukleozidy kvôli uľahčeniu ich prenosu bunkovou membránou. Príkladom chemicky modifikovaného nukleotidu schopného vstupu do bunky je S-1-3-hydroxy-2-fosfonylmetoxypropyl cytozín (HPMPC, Gilead Sciences). Nukleozidové a nukleotidové zlúčeniny podľa predloženého vynálezu, ktoré sú kyselinami, môžu vytvárať soli. Príklady zahŕňujú soli s alkalickými kovmi alebo kovmi alkalických zemín ako sú soli sodné, draselné, vápenaté alebo horečnaté alebo s organickými bázami alebo bázické kvartérne amónne soli.

Imunomodulátory a imunostimulátory použiteľné v kombinačnej terapii podľa predloženého vynálezu sa môžu podávať v množstvách nižších ako je v odbore bežné. Napríklad interferón α sa typicky podáva ľudskému pacientovi na liečbu HCV infekcií v množstve od približne 1×10^6 jednotiek/osoba trikrát týždenne do približne 10×10^6 jednotiek/osoba trikrát týždenne (Simon a kol., *Hepatology*, 25, 445 - 448 (1997)). V spôsoboch a kompozíciách podľa predloženého vynálezu táto dávka môže byť v rozmedzí od približne $0,1 \times 10^6$ jednotiek/osoba trikrát týždenne do približne $7,5 \times 10^6$ jednotiek/osoba trikrát týždenne; výhodnejšie od približne $0,5 \times 10^6$ jednotiek/osoba trikrát týždenne do približne 5×10^6 jednotiek/osoba trikrát týždenne; najvýhodnejšie od približne 1×10^6 jednotiek/osoba trikrát týždenne do približne 3×10^6 jednotiek/osoba trikrát týždenne. V dôsledku zlepšenej účinnosti proti vírusu hepatitídy C u imunomodulátorov a imunostimulátorov v prítomnosti inhibítorov HCV serínových proteáz podľa predloženého vynálezu sa môžu v spôsoboch a kompozíciách podľa vynálezu používať znížené množstvá týchto imunomodulátorov/imunostimulátorov. Podobne v dôsledku zlepšenej účinnosti proti vírusu hepatitídy C u imunomodulátorov a imunostimulátorov v prítomnosti inhibítorov HCV serínových proteáz podľa predloženého vynálezu sa môžu v spôsoboch a kompozíciách podľa vynálezu používať znížené množstvá inhibítorov HCV serínových proteáz. Takéto znížené množstvá sa môžu určiť rutinným monitorovaním titra vírusu hepatitídy C u infikovaných pacientov podstupujúcich terapiu. To sa môže vykonávať napríklad monitorovaním HCV RNA v sére pacientov spôsobmi slot-blot, dot-blot alebo RT-PCR alebo meraním povrchu HCV alebo ďalších antigénov. Pacienti sa môžu tiež monitorovať v priebehu kombinačnej terapie používajúcej tu opísané inhibítory HCV serínových proteáz a ďalšie zlúčeniny, ktoré majú účinok proti HCV, napríklad nukleozidových a/alebo nukleotidových protívirusových činidiel kvôli určeniu najnižších účinných dávok látok použitých v kombinácii.

V spôsoboch kombinačnej terapie podľa predloženého vynálezu sa môžu nukleozidové alebo nukleotidové protívirusové zlúčeniny alebo ich zmesi podávať ľuďom v množstve v rozmedzí od približne 0,1 mg/osoba/deň do približne 500 mg/osoba/deň; výhodne od približne 10 mg/osoba/deň do

približne 300 mg/osoba/deň; výhodnejšie od približne 25 mg/osoba/deň do približne 200 mg/osoba/deň; ešte výhodnejšie od približne 50 mg/osoba/deň do približne 150 mg/osoba/deň; a najvýhodnejšie v rozmedzí od približne 1 mg/osoba/deň do približne 50 mg/osoba/deň.

Dávky zlúčenín sa môžu podávať pacientovi v jedinej dávke alebo v proporcionálnych viacnásobných čiastočných dávkach. V takom prípade dávková jednotka kompozícií môže obsahovať také množstvo čiastočných dávok, ktoré spolu dávajú dennú dávku. Viacnásobné denné dávky môžu tiež zvyšovať celkovú dennú dávku, ak sa to požaduje osobou predpisujúcou látku.

Režim liečby pacienta trpiaceho na infekciu HCV zlúčeninami a/alebo kompozíciami podľa predloženého vynálezu sa volí v súlade s radom faktorov zahrňujúcich vek, hmotnosť, pohlavie, diétu a lekársky stav pacienta, závažnosť infekcie, spôsob podávania, farmakologické hľadiská ako je pôsobenie, účinnosť, farmakokinetický a toxikologický profil konkrétnej použitej zlúčeniny a otázka, či sa používa systém na podávanie lieku. Podávanie kombinácie liečiv podľa vynálezu by malo všeobecne prebiehať počas niekoľkých týždňov až niekoľkých mesiacov alebo rok, dokiaľ titrácia vírusu nedosiahne prijateľné hladiny, čo indikuje, že infekcia sa zvládla alebo zmizla. Pacienti podstupujúci liečenie kombináciami liekov podľa vynálezu sa môžu rutinne monitorovať meraním RNA vírusu hepatitídy v pacientovom sére technikami slot-blot, dot-blot alebo RT-PCR alebo meraním antigénov vírusov hepatitídy C, ako sú povrchové antigény, v sére na určenie účinnosti terapie. Kontinuálna analýza dát získaných týmito spôsobmi dovoľuje modifikáciu režimu liečby počas terapie tak, aby sa mohlo určiť optimálne množstvo každej zložky v podávanej kombinácii a môže sa tým tiež určiť doba trvania terapie.

Rozvrh režimu a dávkovania pri terapii týmto spôsobom sa môže racionálne modifikovať v priebehu terapie tak, aby sa podávalo najmenšie vhodné množstvo každej jednotlivej protivírusovej zlúčeniny, používanej v kombinácii, ktorá vykazuje uspokojivú účinnosť proti vírusu hepatitídy C a aby podávanie takýchto protivírusových zlúčenín v kombinácii pokračovalo len tak dlho, ako je nutné na úspešné zvládnutie infekcie.

Predložený vynález tiež zahrňuje použitie inhibítorov HCV serínových proteáz v rôznych kombináciách so zlúčeninami uvedenými vyššie s podobnými typmi zlúčenín, ktoré sú účinné proti HCV, na liečbu alebo prevenciu infekcií HCV u pacienta. Napríklad jeden alebo viacero inhibítorov HCV serínových proteáz sa môže použiť v kombinácii s: jedným alebo viacerými interferónmi alebo interferónovými derivátmi, účinnými proti HCV; jednou alebo viacerými neinterferónovými zlúčeninami, účinnými proti HCV; alebo jedným alebo viacerými interferónmi alebo interferónovými derivátmi, účinnými proti HCV a jednou alebo viacerými neinterferónovými zlúčeninami, účinnými proti HCV. Pokiaľ sa použijú v kombinácii na liečenie alebo prevenciu infekcie HCV u ľudského pacienta, ľubovoľný z opísaných inhibítorov HCV serínových proteáz a vyššie opísaných zlúčenín, účinných proti HCV môžu byť prítomné vo farmaceuticky alebo anti-HCV účinnom množstve. V dôsledku ich aditívnych alebo synergických účinkov, pokiaľ sa použijú vo vyššie opísaných kombináciách, môže byť každá látka prítomná v množstve nižšom ako klinické farmaceuticky účinné množstvo alebo množstvo účinné proti HCV, to znamená v množstve, ktoré, pokiaľ by sa použilo samotné, by spôsobilo pokles farmaceutickej účinnosti pre úplnú inhibíciu alebo zníženie akumulácie HCV viriónov a/alebo zníženie alebo zlepšenie stavov alebo symptómov súvisiacich s infekciou HCV alebo patogenézou u pacienta v porovnaní s inhibítormi HCV serínových proteáz a zlúčeninami, účinnými proti HCV, ak sa použijú vo farmaceuticky účinných množstvách. Okrem toho predložený vynález zahrňuje použitie kombinácií inhibítorov HCV serínových proteáz a zlúčenín, účinných proti HCV a opísaných vyššie, na liečbu alebo prevenciu infekcií HCV, kde jeden alebo viacero týchto inhibítorov alebo zlúčenín je prítomných vo farmaceuticky účinnom množstve a ďalšie je alebo sú prítomné v množstve nižšom ako je klinické farmaceuticky účinné množstvo alebo množstvo účinné proti HCV v dôsledku ich aditívneho alebo synergického účinku. Ako sa tu používa, výraz "aditívny účinok" opisuje kombinovaný účinok dvoch (alebo viacerých) farmaceuticky účinných činidiel, ktorý sa rovná súčtu účinkov jednotlivých činidiel použitých samostatne. Synergický účinok je účinok kombinácie dvoch (alebo viacerých) farmaceuticky účinných činidiel, ktorý je

väčší ako súčet účinkov jednotlivých činidiel použitých samostatne.

Príklad 42

Súčasná štandardná terapia infekcie vírusom hepatitídy C (HCV) je liečenie imunomodulátorom označeným ako α -interferón (Chronic Hepatitis C: Current Disease Management, U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, 1999). Táto terapia je neúčinná u väčšiny HCV pacientov, ktorí buď nevykazujú žiadnu odozvu alebo dokonca vykazujú relaps po dlhodobej terapii interferónom. Okrem toho dochádza k závažným vedľajším účinkom súvisiacim s interferónovou terapiou.

V dôsledku naliehavej potreby nových a účinnejších protívirusových liečiv na liečbu pacientov s infekciou HCV prihlasovatelia vyvinuli rad zlúčenín, ktoré inhibujú serínové proteázy HCV (komplex proteínov NS3 a NS4A vírusu HCV). Tieto zlúčeniny sa môžu používať samotné, spolu s jednou ďalšou triedou zlúčenín alebo v kombinácii s ďalšími triedami zlúčenín na liečbu alebo prevenciu infekcie HCV. Tento príklad opisuje testovanie troch reprezentatívnych inhibítorov HCV serínových proteáz, to znamená zlúčeniny CU, zlúčeniny EP a zlúčeniny EC, samotnej a v kombinácii s jednotlivými členmi súboru interferónov (interferón α -2B (Schering Plough), interferón α -2A (PBL Biomedical Laboratories, New Brunswick, NJ, USA), interferón beta (Research Diagnostics Inc., Flanders, NJ, USA) a ovčí interferón tau (Research Diagnostics Inc., Flanders, NJ, USA)) HCV v subgenómovom RNA replikónovom teste (Replicon Assay) kvôli určeniu, či dve zlúčeniny spolupôsobia na obmedzenie akumulácie HCV RNA. Test Replicon Assay meria množstvo HCV subgenómovej RNA (replikónová RNA) zostávajúce v replikónových bunkách (Lohmann a kol., Science, 285, 110 - 113 (1999)) po dvoch dňoch liečby látkou v porovnaní s množstvom replikónovej RNA v neošetrených bunkách. V tomto teste je schopnosť zlúčenín pôsobiť ako liečivo proti vírusu HCV priamo úmerná úrovni inhibície akumulácie replikónovej RNA.

Dva lieky sa testujú v kombináciách v *in vitro* systéme testu Replicon Assay kvôli určeniu, či, ak sa použijú spoločne, vykazujú aditívny alebo synergický účinok proti vírusu HCV.

Test Replicon Assay sa používa ako náhradný model *in vitro* HCV infekcie na zhodnotenie kombinovaných účinkov imunomodulátora, napríklad interferónu - α 2B ((Intron A); Schering Plough) a inhibítora HCV serínových proteáz, napríklad zlúčeniny CU. Ako sa ukazuje ďalej, výsledky preukazujú, že u týchto dvoch typov látok dochádza k zjavnému synergickému účinku proti vírusu HCV, ako sa zmeria použitím formálneho matematického určovania synergie ich schopnosti znižovať hladinu HCV RNA v teste Replicon Assay.

Test Replicon Assay

Replikónový test označovaný ďalej ako Replicon Assay, používajúci bunkovú líniu obsahujúcu samoreplikujúcu subgenómovú RNA vírusu HCV (replikón), je opísaný v Lohmann a kol., Science, 285, 110 - 113 (1999)). Prístupové číslo v Genbank pre sekvenciu replikónu použitého v tu opísaných experimentoch je uvedené v tejto referencii ako AJ242654. Tento článok opisuje spôsoby pre *in vitro* transkripciu RNA z replikónovej cDNA, transfekciu replikónovej RNA do buniek Huh7 elektroporáciou a voľbu buniek obsahujúcich replikónovú RNA použitím antibiotika G418.

Huh7 je bunková línia hepatómu získaná od Dr. Williama Masona, Fox Chase Cancer Research Center (Philadelphia, USA). Tieto bunky sú verejne dostupné z laboratória Fox Chase a podrobne boli opísané vo vedeckej literatúre (Nakabayashi a kol., Cancer Res., 42, 3858 - 3863 (1982)). V experimentoch, ktoré sú tu opísané, sa všetka templátová DNA odstráni z *in vitro* transkribovanej replikónovej RNA pred vykonaním elektroporácie tejto RNA do buniek Huh7 opakovaným spracovaním DNázou (tri po sebe nasledujúce spracovania).

Test Replicon Assay sa vykonáva ako je detailne opísané ďalej. Stručne možno uviesť, že replikónové bunky sa uložia do jamiek 96-jamkovej doštičky

s hustotou 10 000 buniek na jamku a inkubujú sa pri teplote 37 °C. Bunky sa inkubujú v DMEM (Dulbeccovo Minimálne Esenciálne Médium) doplnenom 10 % fetálnym hovädzím sérom, glutamínom, neesenciálnymi aminokyselinami a antibiotikom G418 (0,25 mg/ml). Po inkubácii cez noc sa médium nahradí médiom DMEM obsahujúcim 2 % fetálne hovädzie sérum a rôzne koncentrácie inhibítorov serínových proteáz, ako je zlúčenina CU a/alebo interferóny ako je interferón- α 2B (Intron A, Schering Plough). Každá zlúčenina sa testuje v šiestich až ôsmich rôznych koncentráciách. Na jedno extrémne rozmedzie koncentrácií sa zvolia vysoké koncentrácie zlúčenín, ktoré vedú k takmer úplnej inhibícii akumulácie replikónovej RNA po dvoch dňoch ošetrovania. Z týchto východiskových koncentrácií sa vytvárajú postupné riedenia tak, aby rozmedzie koncentrácií testovaných v teste Replicon Assay zahrňovali koncentrácie, pri ktorých sú zlúčeniny vysoko účinné rovnako tak ako koncentrácie, u ktorých nedochádza k významnejšiemu účinku. Každá koncentrácia inhibítora HCV serínových proteáz sa testuje bez akéhokoľvek pridaného interferónu, rovnako tak ako s pridaním šiestich až ôsmich rôznych dávok interferónu.

Podobne sa interferón testuje bez akéhokoľvek pridaného inhibítora HCV serínových proteáz. Po 48 hodinách inkubácie so zlúčeninami sa médium odstráni z doštičiek a všetka bunková RNA sa extrahuje z buniek použitím súpravy RNeasy-96, ktorú vyrába spoločnosť Qiagen Inc. (Valencia, CA, USA). Táto RNA sa potom analyzuje kvantitatívnou RT-PCR alebo pomocou TaqMan® (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Cieľom TaqMan® RT-PCR je na neomycín rezistentný gén v replikóne RNA.

Doštičky sú usporiadané tak, že každá vzorka testovanej látky sa použije päťkrát a ďalej sa použije 16 opakovaní neošetrených vzoriek. To umožní dosiahnutie väčšej štatistickej spoľahlivosti dát kvantitatívnej RT-PCR.

Analýza dát získaných v teste Replicon Assay poskytuje dve hodnoty, ktoré sú užitočné na hodnotenie sily potenciálnych činidiel proti vírusu HCV. Pre každú testovanú koncentráciu zlúčeniny sa určí inhibícia akumulácie replikónovej RNA, spôsobená zlúčeninou za dva dni ošetrovania vzhľadom k množstvu replikónovej RNA v neošetrených bunkách. Tento pomer sa uvádza

ako percento inhibície. Pokiaľ sa získa rad dátových bodov, vytvorených ošetrovaním buniek v rozmedzí rôznych koncentrácií, vytvoria sa hodnoty IC_{50} , ktoré znamenajú koncentráciu zlúčeniny, pri ktorej sa akumulácia replikónovej RNA vírusu HCV zníži o 50 % pôsobením zlúčeniny. Opakovaním testov inhibítorov HCV serínových proteáz v teste Replicon Assay sa určí, že IC_{50} má percentuálnu odchýlku (% odchýlky alebo $100 \% \times \text{štandardná odchýlka } IC_{50} / \text{stredné } IC_{50}$) približne 20 %. IC_{50} je hodnota používaná na určenie poradia jednotlivých zlúčenín testovaných v tomto teste na základe ich schopnosti pôsobiť ako činidlá proti vírusu HCV. Jednoduché určovanie IC_{50} nie je adekvátne na hodnotenie užitočnosti zlúčenín použitých v kombinácii. Najúčinnnejšia analýza poľa dát získaných použitím všetkých kombinácií rôznych interferónov a inhibítorov serínových proteáz vyžaduje určenie percenta inhibície, ako je ukázané v tabuľke 7, použitím matematických spôsobov opísaných ďalej, ktoré sa navrhli kvôli zisteniu, či kombinačné liečenie je agonistické, aditívne alebo synergické.

Detaily testu Replicon Assay sú nasledujúce:

Procedúra pre kvantitatívnu analýzu replikónovej RNA vírusu HCV v teste HCV Replicon Assay používajúca TaqMan® RT-PCR

Test Replicon Assay sa používa na zmeranie schopnosti potenciálnych HCV protivírusových zlúčenín inhibovať akumuláciu HCV subgenómových RNA replikónových molekúl v bunkovej línii Huh7 (Lohmann a kol., Replication of Subgenomic Hepatitis C Virus RNAs in a Hepatoma Cell Line. Science, 285, 110 - 113 (1999)). Tento test zahŕňa tri operačné zložky:

- 1) Pestovanie replikónových buniek, príprava testovacej doštičky a aplikácia zlúčeniny;
- 2) Extrakcia všetkej bunkovej RNA z replikónových buniek; a
- 3) RT-PCR v reálnom čase (TaqMan®) na zmeranie množstva replikónovej RNA v každej vzorke.

Test Replicon Assay vyžaduje k svojmu uskutočneniu aspoň 4 dni; proces sa ale môže prerušiť a vzorky zmraziť medzi jednotlivými krokmi. Každá časť testu je opísaná ďalej.

1. Pestovanie replikónových buniek, príprava testovacej doštičky a aplikácia zliúčeniny

1.1. Pestovanie replikónových buniek

Bunková línia použitá v teste Replicon Assay sa vytvorila ako je opísané v Lohmann a kol. (Replication of Subgenomic Hepatitis C Virus RNAs in a Hepatoma Cell Line. Science, 285, 110 - 113 (1999)). Po inkubácii replikónových buniek v bankách na bunkové kultúry s objemom 150 cm² (Costar) pri teplote 37 °C a s 5 % CO₂, a keď sa vrstva buniek stala súvislá, sa bunky zriedia 1 : 10 objemovo do čerstvých buniek na bunkové kultúry s objemom 150 cm². Médium je DMEM obsahujúce 10 % fetálne hovädzie sérum (FBS), 1X neesenciálnej aminokyseliny (NEAA), 1X Glutamín (Glu) a 0,25 mg/ml G418. Vykonajú sa tri postupné etapy, zakaždým sa bunky nechajú narásť do súvislej vrstvy, nasleduje zriedenie buniek do čerstvých buniek na bunkové kultúry s objemom 150 cm². Tieto bunky, označené ako "pôvodné bunky", sa potom alikvotujú a uchovávajú na budúce použitie v teste Replicon Assay. Analýza s pomocou TaqMan® sa vykonáva kvôli určeniu počtu HCV replikónových genómov na jednu bunku, čo odhalí prítomnosť približne 150 kópií replikónov v jednej bunke. Tento počet je založený na počte kópií replikónovej RNA k dvojnásobku kópií ľudského genómu apoB (počet haploidných genómov).

1.1.1. Pôvodné bunky sa uchovávajú v kvapalnom N₂. Bunky použité v teste Replicon Assay dvadsaťkrát za sebou sa vyhodia a ožijú sa čerstvá dávka zo zásoby v kvapalnom N₂.

1.2. Vkládanie buniek do 96-jamkových doštičiek pre test Replicon Assay

1.2.1. Na prípravu 96-jamkových doštičiek sa na 75 % súvislá kultúra v banke s objemom 75 cm² obsahujúca replikónové bunky trypsinizuje a resuspenduje v 10 ml Média A. Trypsinizácia sa vykonáva odoberaním média, pridávaním 1 ml

zmesi trypsín-EDTA 0,25 %, hmotn./obj. a potom odobratím zmesi trypsín-EDTA. Po 5 - 10 minútach sa bunky vyberú z banky a resuspendujú sa v médiu.

1.2.2. Bunky sa počítajú použitím hemacytometra a bunková koncentrácia sa upraví na 10^5 buniek/ml.

1.2.3. Každá jamka sa naočkuje 100 μ l bunkovej suspenzie použitím viackanálovej pipety Impact2 (Matrix), pričom sa nikdy neosadzujú viac ako štyri 96-jamkové doštičky z jedinej bunkovej suspenzie.

1.2.4. 96-jamkové doštičky sa inkubujú pri teplote 37 °C cez noc.

1.3. Riedenie zlúčeniny a aplikácia na doštičky s replikónovými bunkami

1.3.1. Zlúčeniny inhibujúce HCV serínové proteázy sa rozpustia v dimetylsulfoxide (DMSO) na konečnú koncentráciu 20 mM. Interferóny sa suspendujú vo fosfátom pufovanom soľnom roztoku, obsahujúcom 0,1 % hmotn./obj. albumínu z hovädzieho séra.

1.3.2. 20 mM roztok zlúčeniny sa zriedi na 1 mM pomocou DMSO.

1.3.3. 50 μ l zlúčeniny rozpustenej v DMSO sa pridá do 10 ml Média B (koncentrácia zlúčeniny je 5 mM a koncentrácia DMSO je teraz 0,5 %) alebo 20 μ l 1 mM zlúčeniny a 30 μ l DMSO sa pridá do 10 ml Média B (koncentrácia zlúčeniny je 2 μ M.)

1.3.4. Riedenie zlúčeniny na konečnú koncentráciu sa skončí zmiešaním roztoku zlúčenina/Médium B s Médium C (obsahuje 0,5 % DMSO). Postupné riedenia zlúčeniny v pomere jedna k piatim sa vykonávajú Médium C v 2 ml polypropylénovom 96-jamkovom bloku kvôli dosiahnutiu požadovaných konečných koncentrácií zlúčeniny.

1.3.5. Doštička s bunkami sa vyberie z inkubátora zahrievaného na teplotu 37 °C a označí v hornom pravom rohu veka a na pravej strane základne. Médium sa vyleje z 96-jamkových doštičiek.

1.3.6. 100 μ l roztokov zlúčenina/médium z každej jamky 96-jamkového riediaceho bloku sa pridá do 96-jamkových doštičiek s bunkami použitím pipety

Impact2.

1.3.7. 100 μ l Média C sa pridá do všetkých neošetrených jamôk podľa tabuľky 3 na testovanie zlúčenín v 1, 3 alebo 6 rôznych koncentráciách: "Neoš" označuje predstierané ošetrené bunky (DMSO pridané v rovnakej koncentrácii ako u ošetrených buniek); "Kon." znamená koncentráciu zlúčeniny.

Tabuľka 3

2 zlúčeniny, 6 koncentrácií, 5 opakovaní

Zlúčenina 1

Zlúčenina 2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	
B		kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	
C		kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	
D		kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	
E		kon. 4	kon. 4	kon. 4	kon. 4	kon. 4	kon. 4	kon. 4	kon. 4	kon. 4	kon. 4	
F		kon. 5	kon. 5	kon. 5	kon. 5	kon. 5	kon. 5	kon. 5	kon. 5	kon. 5	kon. 5	
G		kon. 6	kon. 6	kon. 6	kon. 6	kon. 6	kon. 6	kon. 6	kon. 6	kon. 6	kon. 6	
H		neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	

4 zlúčeniny, 3 koncentrácie, 5 opakovaní

Zlúčenina 1

Zlúčenina 2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	
B		kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	
C		kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	
D		kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	
E		kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	kon. 1	
F		kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	kon. 2	
G		kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	kon. 3	
H		neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	

Zlúčenina 3

Zlúčenina 4

16 zlúčenín, 1 koncentrácia, 4 opakovania

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		neoš.	zl. 1	zl. 2	zl. 3	zl. 4	zl. 5	zl. 6	zl. 7	zl. 8	neoš.	
B		neoš.	zl. 1	zl. 2	zl. 3	zl. 4	zl. 5	zl. 6	zl. 7	zl. 8	neoš.	
C		neoš.	zl. 1	zl. 2	zl. 3	zl. 4	zl. 5	zl. 6	zl. 7	zl. 8	neoš.	
D		neoš.	zl. 1	zl. 2	zl. 3	zl. 4	zl. 5	zl. 6	zl. 7	zl. 8	neoš.	
E		neoš.	zl. 9	zl. 10	zl. 11	zl. 12	zl. 13	zl. 14	zl. 15	zl. 16	neoš.	
F		neoš.	zl. 9	zl. 10	zl. 11	zl. 12	zl. 13	zl. 14	zl. 15	zl. 16	neoš.	
G		neoš.	zl. 9	zl. 10	zl. 11	zl. 12	zl. 13	zl. 14	zl. 15	zl. 16	neoš.	
H		neoš.	zl. 9	zl. 10	zl. 11	zl. 12	zl. 13	zl. 14	zl. 15	zl. 16	neoš.	

12 zlúčenín, 1 koncentrácia, 5 opakovaní

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	
B		zl. 1	zl. 1	zl. 1	zl. 1	zl. 1	zl. 7	zl. 7	zl. 7	zl. 7	zl. 7	
C		zl. 2	zl. 2	zl. 2	zl. 2	zl. 2	zl. 8	zl. 8	zl. 8	zl. 8	zl. 8	
D		zl. 3	zl. 3	zl. 3	zl. 3	zl. 3	zl. 9	zl. 9	zl. 9	zl. 9	zl. 9	
E		zl. 4	zl. 4	zl. 4	zl. 4	zl. 4	zl. 10	zl. 10	zl. 10	zl. 10	zl. 10	
F		zl. 5	zl. 5	zl. 5	zl. 5	zl. 5	zl. 11	zl. 11	zl. 11	zl. 11	zl. 11	
G		zl. 6	zl. 6	zl. 6	zl. 6	zl. 6	zl. 12	zl. 12	zl. 12	zl. 12	zl. 12	
H		neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	neoš.	

1,4. Doštičky sa inkubujú po dobu 48 hodín pri teplote 37 °C a potom sa vystavia extrakcii RNA.

Tabuľka 4 - Prehľad vybavenia a materiálov použitých na pestovanie kultúr a aplikáciu zlúčeniny

8-kanálová pipeta Impact2, 1250 µl	kat.č. 2004	Matrix
2 ml polypropylénový hlbokojamkový blok, 96-jamkový, sterilný	kat. č. 4222	Matrix
25 ml zásobník činidiel, sterilný	kat. č. 8096	Matrix
1250 µl extra dlhé pipetové špičky	kat. č. 8255	Matrix
96-jamková doštička	kat. č. 3595	Costar
Hemocytometer	Bright line, zlepšený Neubauer 0,1 mm hlboký	Reichert

DMEM	kat. č. 51444-79P	JRH
L-glutamín (Glu)	kat. č. 12403-010	GIBCO-BRL
Neesenciálne aminokyseliny (NEAA)	kat. č. 11140-050	GIBCO-BRL
Fetálne hovädzie sérum (FBS)	kat. č. 16250-078	GIBCO-BRL
G418	kat. č. 55-0273	Invitrogen
DMSO	kat. č. D-2650	Sigma

Médium A	DMEM, 10 % FBS, 1x NEAA, 1x Glu, 0,25 mg/ml G 418
Médium B	DMEM, 2 % FBS, 1x NEAA, 1x Glu
Médium C	DMEM, 2 % FBS, 1x NEAA, 1x Glu, 0,5 % DMSO
Trypsín - EDTAO, 25 %	GIBCO-BRL

2. Extrakcia všetkej bunkovej RNA z replikónových buniek

2.1 Úvod

Cieľom procedúry je extrakcia RNA zo vzoriek *in vitro* tkanivových kultúr tak, aby vírusová alebo bunková RNA sa kvantitatívne izolovala a aby bola dostatočne čistá na analýzu kvantitatívnym HCV RT-PCR testom.

Kvôli umožneniu detekcie odchýlok účinnosti extrakcie RNA sa do každej bunkovej vzorky pridá pred extrakciou RNA štandardné množstvo vírusu vírusovej hovädzej hnačky (bovine viral diarrhea virus - BVDV), čo je RNA vírus s istou podobnosťou s HCV. Potom by úroveň BVDV RNA detekovaná v záverečnej multiplexnej reakcii RT-PCR mala byť konzistentná pre všetky jamky s medzami variability, zodpovedajúcimi testu Replicon Assay. O tejto vnútornej kontrole účinnosti extrakcie RNA sa diskutuje ďalej v kapitole TaqMan® uvedenej ďalej.

K extrakcii RNA sa použil spôsob RNeasy-96 spoločnosti Qiagen Inc. (Valencia, CA, USA). Tento spôsob používa 96 mini-kolón s oxidom kremičitým, ktoré sú rozmiestnené v poli zodpovedajúcom 96-jamkovým doštičkám na operácie s tkanivovými kultúrami. Technológia extrakcie RNA je modifikáciou Boomovho spôsobu, v ktorom sa všetky bunkové proteíny a nukleové kyseliny, vrátane nukleáz, najprv denaturujú silnou chaotropnou soľou (guanidínium tiokyanát). V tomto prostredí majú nukleové kyseliny silnú afinitu k oxidu kremičitému, čo je materiál v mini-kolónach; ale proteíny a ďalšie kontaminujúce látky sa neviažu na oxid kremičitý a prechádzajú kolónami.

Po premývaní kolón roztokmi chaotropná soľ/etanol sa vzorky čiastočne sušia a nukleové kyseliny sa potom uvoľňujú z kolón malým objemom vody.

Kvôli zníženiu odchýlok pri izolácii HCV RNA sa venuje pozornosť podmienkam premývania kolóny a čiastočnému sušeniu. Prítomnosť malého množstva etanolu v kolóne by kontaminovala výslednú RNA a interferovala s RT-PCR detekčným systémom. Vo všetkých fázach tejto procedúry je potrebná pozornosť, pretože východiskové vzorky môžu byť biologicky

nebezpečné, chaotropná soľ je silne alkalická a navyše ako tiokyanát môže vytvárať jedovatý plynny kyanid, ak príde do kontaktu s kyslým prostredím.

Tabuľka 5 - Prehľad vybavenia a materiálov potrebných pre procedúru extrakcie HCV RNA

Súprava RNeasy 96 (24)	kat. č. 74183	Qiagen
Pole QIAvac 96	kat. č. 19504	Qiagen
Centrifúga 4-15C pre 2 x 96 doštičiek, 6000 x g	kat. č. 81010	Qiagen
Doštičkový rotor pre 2 x 96 doštičiek, 200 Proof Ethylalkohol	kat. č. 81031	Qiagen
8-kanálová pipeta Impact2 Pipette, 250 µl	kat. č. 2002	Matrix
8-kanálová pipeta Impact2 Pipette, 1250 µl	kat. č. 2004	Matrix
2 ml polypropylénový hlbokojamkový blok, 96-jamkový, sterilný	kat. č. 4222	Matrix
25 ml zásobník činidiel, sterilný	kat. č. 8096	Matrix
1250 µl extra dlhé pipetové špičky	kat. č. 8255	Matrix
200 µl pipetové špičky	kat. č. 7275	Matrix
MEM médium bez séra	kat. č. 11095-80	GIBCO-BRL

2.2. Procedúra

2.2.1. Lýza buniek

2.2.1.1. Príprava lýzového pufru: Do jednej 96-jamkovej doštičky sa pridá 150 µl beta-merkaptóetanolu (beta-ME) a 1 µl BVDV zásobného roztoku (virívé miešanie roztoku pred pridaním) na 15 ml RLT pufru (zložka súpravy RNeasy, Qiagen). Tento zásobný roztok sa pripraví infekciou MDBK buniek (hovädzie ľadvinové bunky #CCL-22, dodáva American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA) vírusom BVDV a odobratím kultúry v okamihu špičkového cytopatologického účinku (peak cytopathic effect - CPE). Tento zásobný roztok

má infekčný titer približne 1×10^7 pfu/ml. Z toho vyplýva prahový cyklus (Ct) pre BVDV približne 22 v teste TaqMan®. Zásobný roztok BVDV sa uchováva v mrazničke pri teplote -80°C .

2.2.1.2. Bunky sa premývajú 150 μl MEM média bez séra (program 4 8-kanálovej elektronickej pipety P1250: Fill 1250, Disp 150 x 8). Do každej jamky sa pridá 150 μl lýzového pufra (ten istý program).

2.2.1.3. RNA sa extrahuje okamžite alebo sa bunky zmrazia pri teplote -80°C .

2.2.2. Príprava činidiel a materiálov na extrakciu RNA.

2.2.2.1. Zápis čísla dávky RPE a RNeasy 96 git.

2.2.2.2. RPE: 720 ml 100 % etanolu sa pridá do jednej fľaše RPE (Qiagen) a dobre premieša; RPE fľaše sa vždy dobre pretrepávajú pred použitím.

2.2.2.3. 70 % etanol: 150 ml dietylpYROKARBONÁT (DEPC) s vodou sa pridá do 350 ml 100 % etanolu a dobre premieša.

2.2.3. Príprava RNA pomocou súpravy RNeasy 96

2.2.3.1. Zmrazené vzorky sa rozmrazia pri teplote okolia v priebehu 40 minút. Súčasne sa rozmrazí jedna kolóna extrakčnej kontroly pre každú doštičku (Extrakčné kontroly súpravy RNeasy je súbor 8 navzájom spojených trubíc. Vo vnútri každej trubice je 170 μl bunkového lyzátu s istým pomerom HCV pozitívnych a negatívnych buniek. Odhora nadol je po dvoch s nízkym, stredným, vysokým a nulovým počtom kontrol. (Pozri kapitola 2.3 protokolu uvedená ďalej).

2.2.3.2. Vzorky sa zmiešajú pipetovaním 100 μl päťkrát tam a naspäť. Celá vzorka sa preniesie do kolón 1 - 10 v 2 ml Matrix bloku so štvorcovými jamkami (program 1 na P250: Mix 100 x 5, Fill 170, Purge).

2.2.3.3. 150 μl replikónového štandardu sa preniesie do kolóny 11 (žiadne vzorky v kolóne 12).

2.2.3.4. 150 μl 70 % etanolu (EtOH) sa pridá ku každej vzorke (program 4 na P1250: Fill 1250, Disp 150).

2.2.3.5. Doštičky RNeasy 96 označené zodpovedajúcim číslom doštičky sa vložia do vákuového poľa. Zmes lyzát/EtOH sa zamieša a prenesie na RNeasy 96 doštičky (program 1 na P1250: Mix 200, Times 5, Fill 330 and Purge). Nepoužité jamky sa prelepia priehľadnou páskou (dodáva spoločnosť Qiagen), zvyčajne kolóna 12.

2.2.3.6. Vzorky sa nanesú na mini-kolóny použitím vákua (približne 800 mbarov).

2.2.3.7. Doštičky RNeasy-96 sa premývajú 1 000 µl pufru RW1 (Qiagen) na jamku (program 2 na P1250: Fill 1000, Disp 1000).

2.2.3.8. Pufr RW1 sa vákuovo prefiltruje a priechod sa uvoľní.

2.2.3.9. RNeasy-96 doštička sa premýva 1 000 µl RPE pufru/jamka (program 2 na P1250).

2.2.3.10. Pufr RPE sa vákuovo prefiltruje.

2.2.3.11. Krok 2.2.3.9 sa opakuje.

2.2.3.12. Pufr RPE sa vákuovo prefiltruje, vákuum sa udržiava po dobu 3 minúty.

2.2.3.13. Doštičky RNeasy 96 sa sušia. Doštičky RNeasy-96 sa vložia do mikroskúmavkového zásobníka (dodávaný spoločnosťou Qiagen), zakryjú sa dodanou páskou AirPore a jednotka sa centrifuguje po dobu 10 minút pri 6 000 g (centrifúga Qiagen Sigma; 4 - 15 °C).

2.2.3.15. Vymývanie RNA z RNeasy 96-jamkových doštičiek: Doštičky RNeasy-96 sa vložia na nový mikroskúmavkový zásobník. Do stredu každej jamky sa pridá 70 µl vody bez RNázy (program 3 na P1250: Fill 850, Disp 70).

2.2.3.16. Inkubácia 1 minútu pri teplote okolia a potom zakrytie doštičky novou páskou AirPore.

2.2.3.17. Jednotka sa potom centrifuguje po dobu 4 minúty pri 6 000 g v centrifúge Sigma 4 - 15C. Veľkosť vymytého objemu je medzi 28 µl a 50 µl.

2.2.3.18. Doštičky RNeasy-96 sa odstránia a skúmavkový zásobník sa uzatvorí

klobúčikmi dodávanými spoločnosťou Qiagen (8 na jeden rad).

2.2.3.19. Vymytá RNA sa uchováva pri teplote $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ alebo sa okamžite analyzuje testom TaqMan[®].

2.3. Príprava extrakčnej kontroly

Deň 1

2.3.1.1. Vložiť $2,5 \times 10^7$ replikón produkujúcich buniek do banky na tkanivové kultúry s objemom 150 cm^3 (T-150).

2.3.1.2. Vložiť $2,0 \times 10^6$ Huh7 buniek do banky na tkanivové kultúry s objemom 75 cm^3 (T-75).

2.3.1.3. Inkubovať cez noc pri teplote $37\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Deň 2

2.3.1.4. Lýzovať bunky lýzovacím pufrom.

2.3.1.5. Odobratie supernatantu buniek Huh7 a replikón produkujúcich buniek a premývanie jednoduchej vrstvy 10 ml média bez séra (MEM).

2.3.1.6. Pridať 30 ml lýzovacieho pufru (s $1\text{ }\mu\text{l}$ zásobného roztoku s BVDV na 15 ml lýzovacieho pufru) k bunkám Huh7, miešať opakovaným pipetovaním a vložiť bunkový lyzát do 50 ml centrifugačnej skúmavky na tkanivové kultúry s kónickým dnom.

2.3.1.7. Pridať 10,5 ml lýzovacieho pufru k replikón produkujúcim bunkám, miešať opakovaným pipetovaním a vložiť bunkový lyzát do 15 ml centrifugačnej skúmavky na tkanivové kultúry s kónickým dnom.

2.3.2. Pre vysoký (HIGH) extrakčný štandard: Alikvótovať $170\text{ }\mu\text{l}$ lyzátu replikón produkujúcich buniek do radov 5 a 6 dvoch Matrix $0,75\text{ ml}$ skúmavkových zásobníkov.

2.3.3. Pre stredný (MEDIUM) extrakčný štandard: Pridať $1,0\text{ ml}$ lyzátu replikón

produkujúcich buniek do 9 ml lyzátu buniek Huh7 a dobre premiešať. Alikvótovať 170 μ l tejto zmesi do radov 3 a 4 dvoch Matrix 0,75 ml skúmavkových zásobníkov.

2.3.4. Pre nízky (LOW) extrakčný štandard: Pridať 50 μ l lyzátu replikón produkujúcich buniek do 10 ml lyzátu buniek Huh7 a dobre premiešať. Alikvótovať 170 μ l tejto zmesi do radov 1 a 2 dvoch Matrix 0,75 ml skúmavkových zásobníkov.

2.3.5. Nulová (ZERO) extrakčná kontrola: Alikvótovať 170 μ l lyzátu buniek Huh7 do radov 7 a 8 dvoch Matrix 0,75 ml skúmavkových zásobníkov.

2.3.6. Uchovávať kontroly pri teplote -80 °C.

3. TaqMan® RT-PCR a analýza dát

3.1 Úvod

Kvantitatívny RT-PCR v reálnom čase sa používa na meranie množstva HCV replikónovej RNA v každej vzorke. Táto technológia sa často označuje ako na PCR založený 5'-nukleázový test a TaqMan®. Analytické zariadenie je detekčný systém Applied Biosystems 7700 Prism Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Toto zariadenie je v zásade časovo multiplexovaný spektrograf laserovo indukovanej fluorescence spojený s teplotným cyklovačom. Prístroj monitoruje akumuláciu PCR amplikónu v každej jamke 96-jamkovej dosky so vzorkami v priebehu PCR procesu.

3.2. Použitie vnútornej kontroly BVDV

Ako bolo uvedené v predchádzajúcej kapitole, do každej vzorky sa vloží vnútorná pozitívna kontrola. Tá slúži ako meradlo účinnosti extrakcie RNA a ukazuje, či vzorka obsahuje kontaminanty, ktoré inhibujú TaqMan® PCR. BVDV sa zmieša s chaotropným bunkovým lýzovacím pufrom pred aplikáciou lýzového pufru na bunky. Hoci pozitívna kontrola je v každej vzorke, test BVDV vnútornej pozitívnej kontroly sa vykonáva iba vtedy, keď testové dáta v HCV teste replikónovej RNA padnú mimo očakávané rozmedzie, čo naznačuje, že by mohol nastať problém so vzorkami. Prístroj 7700 je schopný súčasne

monitorovať akumuláciu dvoch rôznych PCR amplikónov v skúmavke použitím detekčných sond označených dvoma rôznymi fluorescenčnými reportujúcimi farbivami („multiplex“). Špecifické kritériá, ktoré vyvolávajú TaqMan® analýzu BVDV vnútornej pozitívnej kontroly vzorky doštičky, sú opísané v kapitole o analýze dát (3.6).

3.3. SONDY A PRIMÉRY PRE TEST TaqMan® HCV REPLIKÓNOVEJ RNA

V dôsledku očakávanej genetickej stability a všeobecnej neprítomnosti sekundárnej štruktúry RNA génu rezistencie na neomycín (neo) zakódovaného v replikóne sa použili priméry a sonda, ktoré sa viažu na túto oblasť. Tento segment replikónovej RNA sa nachádza medzi bázami 342 - 1193 replikónu s 8001 párami báz (SEQ ID NO:1):

```

301 gtgcttgcca gtgccccggg aggtctcgta gaccgtgcac catgagcacg aatcctaaac
361 ctcaaagaaa aaccaaacgt aacaccaacg ggcgcgccat gattgaacaa gatggattgc
421 acgcagggtc tccggccgct tgggtggaga ggctattcgg ctatgactgg gcacaacaga
481 caatcggtcg ctctgatgcc gccgtgttcc ggctgtcagc gcagggggcg ccggttcttt
541 ttgtcaagac cgacctgtcc ggtgccttga atgaactgca ggacgaggca gcgcggctat
601 cgtggctggc cagcagggc gttccttggc cagctgtgct cgacgttgtc actgaagcgg
661 gaagggactg gctgctattg ggogaagtgc cggggcagga tctcctgtca tctcaccttg
721 ctctgcgca gaaagtatcc atcatggctg atgcaatgcg gcggtgcat acgcttgatc
781 cggtacctg cccattcgac caccaagcga aacatcgcat cgagcgagca cgtactcgga
841 tgggaagcgg tcttgtcgat caggatgate tggacgaaga gcatcagggg ctgcgcagc
901 ccgaactgtt cgccaggctc aaggcgcgca tgcccgacg cgaggatctc gtcgtgaccc
961 atggcgatgc ctgcttgccg aatatcatgg tggaaaatgg CCGCTTTTCT GGATTCATCG
                                     dopredný primér
1021 aCTGTGGCCG GCTGGGTGTG Gcggaccgct atcaggacat agcgttggct acccgtgata
      TaqMan® sonda
1081 ttgctgaaga gcTTGGCGGC GAATGGGctg accgcttcct cgtgctttac ggtatcgccg
      spätný primér
1141 ctcccgatcc gcagcgcacg gccttctatc gccttcttga cgagttcttc tgagtttaaa

```

3.4. Procedúry

3.4.1. Spôsob prípravy 1x hlavných zmesí pre NEO a BVDV RT-PCR

Tabuľka 6 - Prehľad vybavení a materiálov na prípravu RT-PCR 10-doštičkovú hlavnú zmes

Vybavenie a materiály	Objednávacie číslo	Dodávateľ
0,5 - 10 µl pipeta	22 47 005-1 2000 Series	Eppendorf
2 - 20 µl pipeta	2 47 015-9 2000 Series	Eppendorf
10 - 100 µl pipeta	22 47 020-5 2000 Series	Eppendorf
50 - 200 µl pipeta	22 47 025-6 2000 Series	Eppendorf
100 - 1 000 µl pipeta	22 47 030-2 2000 Series	Eppendorf
1250 µl Matrix špičky	kat. č. 8255	Matrix
200 µl Matrix špičky	kat. č. 7275	Matrix
10 µl ART špičky	kat.č. 2140	Molecular Bioproducts
20 µl ART špičky	kat. č. 2149P	Molecular Bioproducts
100 µl ART špičky	kat. č. 2065E	
200 µl ART špičky	kat. č. 2069	Molecular Bioproducts
1000 µl ART špičky	kat. č. 2079E	Molecular Bioproducts
Elektronická pipeta, Impact2	kat. č. 2001	Matrix
1,5 ml mikrofugačné skúmavky bez Rnázy	kat. č. 12450	Ambion
14 ml polypropylénové skúmavky	kat. č. 352059	Falcon
25 ml zásobník činidiel	kat. č. 8096	Matrix
96-jamková reakčná doštička	kat. č. N801-0560	Applied Biosystems
Pásky optických uzáverov	kat. č. N801-0935	Applied Biosystems

Sterilné rukavice na jedno použitie	kat. č. 9515-E	Baxter
Reagenty	Objednávka č.	Dodávateľ
Kyselina	0.1N HCl	Fischer
RNAse Zap	kat. č. 9780	Ambion
RNAse away	kat. č. 7005	Molecular Bioproducts
10-násob. EZ RP-PCR súprava základných činidiel, 5x reakčný pufor, 25 mM octan horečnatý, deoxy NTP	kat. č. 403028	Applied Biosystems
VIC NEO sonda, 2 μ M (= 10x), 550 μ l na alikvót	kat. č. 450003, zákaznícky, 5'-VIC-CTG TGG CCG GCT GGG TGT GG-TAMRA-3' (SEQ ID NO: 2)	Applied Biosystems
Reagenty	Objednávka č.	Dodávateľ
VIC BVDV sonda, 2 μ M (= 10x), 550 μ l na alikvót (Vertex)	kat. č. 450003, zákaznícky, 5'-VIC-CCC TCG TCC ACG TGG CAT CTC GA-TAMRA-3' (SEQ ID NO: 3)	Applied Biosystems
NEO dopredný primér, 3 μ M (= 10x) zmes dopredný/spätný primér, 550 μ l na alikvót	kat. č. 4304972 zákaznícky, 5'-CCG CTT TTC TGG ATT AT CG-3' (SEQ ID NO: 4)	Applied Biosystems
NEO spätný primér, 3 μ M (= 10x) zmes dopredný/spätný primér, 550 μ l na alikvót	kat. č. 4304972 zákaznícky, 5'-CCC ATT CGC CGC CAA-3' (SEQ ID NO: 5)	Applied Biosystems
BVDV dopredný primér, 3 μ M (= 10x) zmes dopredný/spätný primér, 550 μ l na alikvót	zákaznícky, 5'-CAG GGT AGT CGT CAG TGG TTC G-3' (SEQ ID NO: 6), 1,0 μ M bez gélového čistenia	Oligos etc

BVDV spätný primér, 3 μ M (= 10x) zmes dopredný/ spätný primér, 550 μ l na alikvót	zákaznícky, 5'-GGC CTC TGC AGC ACC CTA TC-3' (SEQ ID NO: 7), 1,0 μ M bez gélového čistenia	Oligos etc
NEO RNA štandardy	<i>In vitro</i> transkribovaná RNA z plazmidu obsahujúceho neo génovú časť HCV replikónovej RNA použitím T7 RNA polymerázy. <i>In vitro</i> transkribovaná RNA sa kvantitatívne vzťahuje k známej molekulovej hmotnosti i transkriptov a UV-absorbencie čisteného transkribovaného roztoku. Táto RNA sa zriedi, alikvótuje a uchováva pri teplote 80 °C. Jednotlivé alikvóty sa rozmrazia pre každý TaqMan® 3 test.	
RNA vzorky na testovanie sa izolujú z HCV replikónových buniek (kapitola 2 tohto Protokolu), 10 μ l/96-jamkových doštičiek		
Voda bez nukleázy (nespracovaná pomocou DEPC)	kat. č. 9930	Ambion

3.4.2. Príprava činidiel hlavnej zmesi

3.4.2.1. Umyť stôl v nasledujúcich dvoch krokoch a prepláchnuť pipetu

pomocou RNase Away.

RNase Zap (Ambion, Austin, TX, USA)

RNase Away (Molecular Bioproducts, San Diego, CA, USA)

3.4.2.2. Otvoriť hlavný EZ RT-PCR činidla (Applied Biosystems) a vložiť 5x pufor na ľad, rozmrazovať zmrazené činidlá pri teplote okolia približne 15 minút a potom ich položiť na ľad. Jedna súprava EZ RT-PCR činidiel sa môže použiť pre dve 96-jamkové RNA extrakcie.

3.4.2.3. Vziať jednu tubu 2 μ M VIC sondy (NEO alebo BVDV, 550 μ l v tube) z -20 °C a položiť na ľad.

3.4.2.4. Vziať jednu tubu 3 μ M zmesi dopredný/spätný primér (NEO alebo BVDV, 550 μ l v tube) z -20 °C a položiť na ľad.

3.4.2.5. Vziať jednu tubu (30 μ l) štandardných RNA transkriptov (10^8 kópii/10 μ l) z -80 °C a položiť na ľad.

3.4.2.6. Vziať jednu tubu Ambion vody s teplotou okolia.

3.4.3. Zostavenie hlavnej zmesi na jednu 96-jamkovú reakčnú doštičku.

3.4.3.1. Použiť 1 ml pipetu na prenesenie 5x puffra (Applied Biosystems) do 14 ml tuby; celkový pridaný objem je 1 100 μ l.

3.4.3.2. Použiť 1 ml pipetu na prídanie 25 mM Mn (OAc)₂ (Applied Biosystems) do 14 ml tuby; celkový pridaný objem je 660 μ l.

3.4.3.3. Použiť 200 μ l pipetu na prídanie 165 μ l 10 mM dATP do 14 ml tuby. Vykonať to isté pre 10 mM dCTP, 20 mM dUTP a 10 mM dGTP.

3.4.3.4. Použiť 1 ml pipetu na prídanie 550 μ l 10x 3 M zmesi dopredný spätný primér.

3.4.3.5. Použiť 1 ml pipetu na prídanie 550 μ l 10x 2 μ M sondy.

3.4.3.6. Použiť 1 ml pipetu na prídanie 220 μ l IrTth DNA polymerázy (Applied Biosystems).

3.4.3.7. Použiť 100 μ l pipetu na prídanie 55 μ l AmpErase UNG (Applied

Biosystems).

3.4.3.8. Použiť 1 ml pipetu na pridanie 605 μl Ambion H_2O do 14 ml tuby; konečný objem je celkovo 4 400 μl .

3.4.3.9. Preniesť 4 400 μl hlavnej zmesi do 25 ml zásobníka činidiel.

3.4.3.10. Rozdeliť 40 μl na jamku do všetkých 96 jamiek použitím 8-kanálovej pipety.

3.4.3.11. Preniesť 10 μl extrahovaných neznámych vzoriek do jamiek reakčnej doštičky použitím 8-kanálovej pipety, stĺpec po stĺpci, stĺpec 1 až stĺpec 11. Uzatvoriť stĺpce po prenose.

3.4.3.12. Pridať 270 μl Ambion H_2O do 30 μl 10^8 kópií/10 μl RNA transkriptu na použitie v štandardnej krivke a premiešať. Teraz je 10^7 kópií HCV replikónovej kvantizačne štandardnej RNA/10 μl .

3.4.4. Nastavenie ABI 7700 pre každý beh

3.4.4.1. Pred každým behom reštartovať počítač pre ABI 7700 a prestavať desktop.

3.4.4.2. Uzatvoriť a odstrániť každý nadbytočný program z pevného disku; spracované dáta do koša.

3.4.4.3. Otvoriť program Sequence Detector vl. 7 (SDS software).

3.4.4.5. Otvoriť zložku „Replicon Assay Runs„.

3.4.4.6. Otvoriť „Replicon Assay„ dialóg šablóny. Podmienky tepelného cyklovača sa naprogramujú do šablóny nasledujúcim spôsobom:

Etapa 1: 50 °C počas 2 minút.

Etapa 2: 60 °C počas 30 minút.

Etapa 3: 95 °C počas 5 minút.

Etapa 4: 95 °C počas 15 sekúnd.

Etapa 5: 60 °C počas 60 sekúnd.

Počet opakovaní cyklu etáp 4 - 5: 40.

Ďalšie nastavenie:

Template instrument: diagnosis: advanced options:

Select views: display mse.

Select views: display best fit.

Select miscellaneous: reference dye ROX.

3.4.4.7. Uložiť („Save,,, nie „save as,“) súbor do zložky „Replicon Assay Runs,,“.

3.4.4.8. Nastavenie zobrazenia: stlačiť RUN.

3.5. Príprava ABI 7700 dát po behu použitím SDS software.

3.5.1. Testovacie doštičky sa vyberú z ABI 7700 a vyhodí sa bez toho, aby sa otvorili. To veľmi znižuje laboratórne problémy s PCR krížovou kontamináciou.

3.5.2. Dáta sa analyzujú použitím software Sequence Detector System v1.7.

3.5.3. Prahové hodnoty sa na začiatku nastaví použitím základného nastavenia.

3.5.4. Kritérium odmietnutia dát: Dátové body alebo rady pre celú doštičku sa môžu odmietnuť. Ak dôjde k významnej odchýlke od protokolu, zlyhaniu činidla alebo nehode alebo chybe pri behu ABI 7700, dáta sa môžu vymazať. Kvôli odmietnutiu ľubovoľného dátového bodu pochádzajúceho zo zjavne normálneho behu sa musí splniť jedno alebo viacero nasledujúcich kritérií.

3.5.4.1. Prahové výpočty cyklu. Normálne sa používajú základné hodnoty SDS software. Ak Ct vzoriek väčšiny koncentrácií je menšie ako 15, potom sa zmení prahová hodnota stop limitu, ak je potrebné k nižšej hodnote, aby Ct vzorky najvyššej koncentrácie bolo väčšie ako stop hodnota. Aktualizovať výpočty po vykonaní tejto zmeny.

3.5.3.2. Uvažovať vyradenie celkom abnormálneho behu TaqMan® indikovaného odchýlkou od stredných hodnôt sklonu a priesečníky s y-ovou osou pri priamke generovanej analýzou neo RNA štandardy. Prijateľné rozmedzia pre tieto hodnoty sú:

sklon medzi 3,0 a 3,6

priesečník s osou y medzi 36 a 41 cyklami.

3.5.4.3. Nenormálne jednotlivé TaqMan® jamky, ako sa indikuje extrémnym $R_n/\Delta R_n$, sa môžu vypustiť pred vykonávaním analýzy dát tak, aby neovplyvnili výpočty SDS software.

3.5.4.4. Preskúmať a zaznamenať netemplátové kontrolné Ct hodnoty a potvrdiť, že sú väčšie ako 7,0 Ct ($> 100x$) vyššie ako Ct pre ľubovoľnú vzorku ošetrovanú zlúčeninou.

3.5.5. HCV RNA štandardné Ct hodnoty sa porovnajú s predchádzajúcimi výsledkami.

3.5.6. HCV RNA štandardné krivky sa porovnajú s predchádzajúcimi výsledkami.

3.5.7. Ak je pre jednotlivé jamky zjavná nenormálna amplifikácia, tieto jamky sa identifikujú a poznamenávajú.

3.5.8. Súbor „výsledky„ sa exportuje a prenesie z počítača 7700 do iného počítača na analýzu použitím Microsoft Excel.

3.5.9. Ľubovoľné nasledujúce zmeny prípravy použitých činidiel alebo riedenia sa oznámia.

Nová syntéza sondy alebo priméru od dodávateľa.

Nové riedenia a alikvóty sondy alebo priméru.

Nové štandardy prípravy RNA transkriptu.

Nové štandardy riedenia a alikvótov RNA transkriptu.

Nová príprava BVDV vírusu.

Nová príprava štandardov kolóny 11.

3.6. TaqMan® analýza dát.

3.6.1. Skopírovať a vložiť TaqMan® HCV Ct hodnotu a skopírovať hodnotu z výsledkového súboru TaqMan® do zodpovedajúceho poľa makra Microsoft Excel kvôli analýze dát testu Replicon Assay vyhotovenia tohto makra.

3.6.2. Skopírovať tabuľku výsledkov TaqMan® z listu makra na iný list, vložiť poradové číslo a číslo šarže zlúčeniny.

3.6.3. Z uvedeného listu Microsoft Excel sa určí stredná hodnota, štandardná odchýlka a percento CV inhibičnej aktivity zlúčeniny, rovnako tak ako HCV hodnota, HCV Ct hodnota a BVDV Ct hodnota (ak je známa) všetkých bodov riedenia pre 5 opakovaní a kontrolu bez zlúčeniny.

3.6.4. Kritériá pre odmietnutie dát a implementáciu BVDV kontroly v teste TaqMan®. Skontrolovať všetky výpočty. Dátové body alebo údaje pre celé dosťičky sa môžu odmietnuť. Ak dôjde k významnej odchýlke od protokolu, zlyhaniu činidla alebo nehode alebo zlyhaniu ABI 7700, dáta sa môžu vylúčiť. Kvôli odmietnutiu ľubovoľného dátového bodu zo zjavne normálneho behu sa musí splniť jedno alebo viacero nasledujúcich kritérií. Štandardná odchýlka percenta inhibície by mala byť menšia ako 30 % u aktívnych zlúčenín. Percento CV pre HCV hodnotu by malo byť menšie ako 30 %. Štandardná odchýlka HCV Ct všetkých vzoriek by mala byť menšia ako 0,5; zvyčajne je približne 0,1 až 0,3 u väčšiny vzoriek. Ak HCV Ct štandardná odchýlka je väčšia ako 0,5, potom treba ísť späť do tabuľky nespracovaných dát a prekontrolovať hodnoty Ct pre 5 opakovaní. Ak hodnota Ct pre ľubovoľnú jamku je o 2 Ct odlišná od strednej hodnoty Ct pre 5 opakovaní, potom by sa táto jamka mala vylúčiť z analýzy. Ak viac ako 3 jamky (nie v rovnakom stĺpci) majú nezvyčajné hodnoty Ct, potom by sa mal vykonať BVDV TaqMan® vnútorný kontrolný test. Ak BVDV dáta vykazujú iregularitu, potom by sa zlúčenina mala testovať znova.

3.6.5. Výpočet IC_{50} : Skopírovať a vložiť dáta strednej inhibície a štandardnej odchýlky do kalkulatéra sigmoidálnej dávkovej odozvy s premenným sklonom, ktorý používa metódy nelineárnej regresie. Použitím tohto nástroja sa vypočítajú hodnoty IC_{50} použitím nasledujúcich dvoch metód: len zafixovanie stropu na 100 % inhibície alebo zafixovanie stropu na 100 % inhibície a dna na 0 % inhibície. Spôsob, ktorý poskytne jasnejšiu hodnotu, sa potom uvádza pre každú zlúčeninu. Najspoľahlivejší IC_{50} vychádza z výpočtov, ktoré majú najnižšiu štandardnú chybu. Ak hodnoty IC_{50} vypočítané z týchto dvoch kriviek vykazujú viac ako jednonásobnú odchýlku alebo ak štandardná odchýlka IC_{50} je

väčšia ako IC_{50} , zlúčenina by sa mala testovať znova kvôli upraveným koncentráciám.

Výpočet účinku inhibítorov HCV serínových proteáz v kombinácii s interferónmi

Účinok inhibítorov HCV serínových proteáz (HSPI) a interferónov v kombinácii sa môže zhodnotiť v teste Replicon Assay vytvorením krivky dávkovej odozvy pre HSPI v prítomnosti rôznych hladín interferónu alebo určovaním krivky dávkovej odozvy pre interferón v prítomnosti rôznych hladín HSPI. Cieľom je určiť, či dochádza k väčšej alebo menšej inhibícii akumulácie vírusovej RNA, ako by sa očakávalo, pokiaľ by uvedené dve látky prinášali aditívny účinok na RNA. Presnejšie, použila sa definícia aditivity podľa Lowe ((1928) Die Quantitation Probleme der Pharmakologic, Ergebn. Physio., 27, 47 - 187). Tá sa definuje nasledujúcim spôsobom. Nech $D_{E,INF}$ je koncentrácia interferónu, ktorá vedie k účinku E a nech $D_{E,HSPI}$ je koncentrácia inhibítora proteáz, ktorá vedie k účinku E.

$$1 = \frac{D_1}{D_{E,INF}} + \frac{D_2}{D_{E,HSPI}} \quad (1)$$

Potom nulová interakcia alebo Loweova aditivita sa definuje nasledujúcim vzťahom, kde kombinácia koncentrácií D_1 pre INF a D_2 pre HSPI prináša účinok E.

Stupeň synergie alebo antagonizmu sa vyjadrí ako krivky rovnakého účinku alebo izoboly. Kombinácia (D_1 , D_2) je bod grafu, kde osi sú koncentrácie interferónu a HSPI (obr. 2). Všetky takéto kombinácie, ktoré vyvolávajú hladinu účinku E, vytvárajú izobol účinku E. Body ($D_{E,INF}$, 0) a (0, $D_{E,HSPI}$) sú body na izobole. Izoboly sú priamky spájajúce body ($D_{E,INF}$, 0) a (0, $D_{E,HSPI}$), pokiaľ sa splnil vzťah (1).

Konkávne nahor obrátené izoboly označujú synergiu a konkávne dole obrátené izoboly označujú antagonizmus. Na základe pokynov z prác Berenbaum, M. C. ((1985) The expected effect of a combination of agents: the general solution. J. Theor. Biol., 114, 413 - 431) a Greco, Park a Rustom

((1990) Application of a New Approach for the Quantitation of Drug Synergism to the Combination of cis-Diamminedichloroplatinum and 1-beta-D-Arabinofuranosylcytosine, *Cancer Research*, 50, 5318 - 5327) (1), opisuje synergiu alebo antagonizmus. Rovnica definuje povrch zodpovedajúci odozvám, ktorý sa môže preložiť hodnotami kontroly pre všetky kombinácie ošetrovania. Grafy obrysov z tohto povrchu zodpovedajúceho odozvám predstavujú izoboly.

Model povrchov odozvy predpokladá sigmoidálnu dávkovú odozvu pre každú zlúčeninu, definovanú vzťahom (2).

$$E = \frac{E_{\max}}{1 + \left(\frac{[Drug]}{IC50} \right)^m} + B \quad (2)$$

Koncentrácie, ktoré poskytujú špecifikovanú hodnotu samotnej aktivity E, sú dané vzťahom (3):

$$D_{E,INF} = IC50_{INF} \left(\frac{E - B}{E_{\max} - E + B} \right)^{1/m_{INF}} \quad D_{E,HSP1} = IC50_{HSP1} \left(\frac{E - B}{E_{\max} - E + B} \right)^{1/m_{HSP1}} \quad (3)$$

Po splnení modelu podľa Greco a kol. (1990) potom musí skombinované pôsobenie látok spĺňať rovnicu (4) pre každú kombináciu látok, ktorá poskytuje úroveň odozvy E.

$$1 = \frac{[INF]}{IC50_{INF} \left(\frac{E - B}{E_{\max} - E + B} \right)^{1/m_{INF}}} + \frac{[HSP1]}{IC50_{HSP1} \left(\frac{E - B}{E_{\max} - E + B} \right)^{1/m_{HSP1}}} + \frac{\alpha[INF][HSP1]}{IC50_{INF} IC50_{HSP1} \left(\frac{E - B}{E_{\max} - E + B} \right)^{1/2m_{INF}} \left(\frac{E - B}{E_{\max} - E + B} \right)^{1/2m_{HSP1}}} \quad (4)$$

Parameter α meria veľkosť interakcie. Hodnota nula pre α znamená nulovú interakciu alebo aditivitu, pretože rovnica sa redukuje na (1), pokiaľ $\alpha = 0$. Ak sú dané IC_{50} , Hillov sklon (m), maximálna hodnota (E_{max}) a minimálna hodnota (B), táto rovnica sa môže vyriešiť kvôli získaniu účinku, ktorý vznikne pre ľubovoľnú kombináciu ošetrovania (INF) a (HSPI). Preto táto rovnica definuje povrch určujúcej odozvy. Ak je daný experiment, v ktorom sa hodnoty (INF) a (HSPI) menia, parametre sa môžu zvoliť použitím nelineárnej váženej regresie s najmenšími štvorcami. Parameter α sa môže vzťahovať k miere synergie S (Hewlett, P. S. (1969) Measurement of potencies of drug mixtures. *Biometrics*, 25, 477 - 487), ktorá sa zobrala priamo z izoboly pre 50 % účinkov. S je pomer vzdialenosti od začiatku k izobole definujúcej aditivitu k vzdialenosti od začiatku k izobole prekládajúcej dáta pozdĺž priamky s uhlom 45° s osami ($S = ON/OM$, pozri obr. 3). Vzťah je $\alpha = 4 (S^2 - S)$.

Spôsob, o ktorom sa diskutuje v práci Greco a kol. (1990), uvedenej vyššie pre nájdenie plochy odoziev a určenia parametra synergie α s jeho mierou významnosti nasleduje určenie stupňa synergie v rade experimentov testujúcich HSPI v kombinácii s niekoľkými rôznymi interferónmi.

Je však potrebné prikladať pozorovaniam s nižšími počtami menšiu váhu ako pozorovaniam s vyššími počtami. Počty sa vzťahujú priamo k percentu kontroly, ktorou je účinok E . Použitím spôsobu, ktorý je opísaný v monografii Carroll, R. J. a Rupert, D. ((1988) *Transformation and Weighting in Regression*, Chapman and Hall, New York), sa môže na variabilitu medzi jamkami pozerieť ako na nárast štvorcov strednej hodnoty percenta kontroly. Preto sa pozorovania vážia proti štvorcu hodnoty percenta kontroly (E). Odchýlky a váženie používané pri analýze týchto experimentov sú v súlade so vzťahmi variability, pozorovanými výskumníkmi skúmajúcimi spôsoby analýzy rádioligandových testov (Finney, D. J., (1976), *Radioligand Test*, *Biometrics*, 32, 721 - 740 a Dudley, R. A., Edwards, P., Ekins, R. P., McKinzie, I. G., M., Raab,

G. M., Rodbard, D. a Rodgers, R. P. C. (1985), Guidelines for Immunoassay Data Processing, Clinical Chemistry, 31/8, 1264 - 1271).

Výsledky

V začiatkových experimentoch sa inhibitor HCV serinových proteáz, ktorým je zlúčenina CU, testuje kvôli koncentrácii v rozmedzí od 3 μM do 0,0123 μM , to znamená v 244-násobnom rozmedzí. Koncentrácia interferónu- α 2B sa mení v rozmedzí od 30 jednotiek na vzorku do 0,0096 jednotiek na vzorku, to znamená v 3125-násobnom rozmedzí. Ako je ukázané v tabuľke 7, ak sa použije ako jediná látka na ošetrovanie, zlúčenina CU vykazuje IC_{50} 0,48 μM a hodnota IC_{50} pre interferón jej 2,19 U. V rámci presnosti testu Replicon Assay, ktorá je približne 20 %, pridanie interferónu- α 2B vedie k nárastu inhibície akumulácie replikónovej RNA dávkovo závislým spôsobom. Napríklad ošetrovanie buniek 0,333 μM zlúčeniny CU vedie k 28 % inhibícii akumulácie replikónovej RNA. Ošetrovanie kombináciou 0,333 μM zlúčeniny CU, ktorá je 71 % IC_{50} dávky (0,469 μM) a 0,24 U interferónu- α 2B, ktorá je 11 % IC_{50} pre interferón- α 2B (2,05 μM) vedie k 49 % inhibícii akumulácie replikónovej RNA. To znamená, že 71 % jednej IC_{50} dávky v kombinácii s 11 % inej IC_{50} dávky vedie k 49 % inhibícii akumulácie replikónovej RNA. Použitím intuitívneho prístupu k určovaniu, či je kombinačná liečba synergická alebo aditívna alebo antagonistická, by bolo možné predpovedať, že pokiaľ by bol účinok kombinačnej liečby len aditívny, potom skombinované frakcie dvoch IC_{50} dávok, nutných na dosiahnutie 49 % inhibície akumulácie replikónovej RNA by predstavovali 98 %. Dosiahnuté experimentálne výsledky ukazujú, že hodnota inhibície akumulácie replikónovej RNA sa dosiahne použitím 71 % plus 11 %, to znamená 82 % dávky IC_{50} namiesto 98 %, ako by bolo možné očakávať pre aditívne účinky kombinačnej liečby. Preto pre tieto koncentrácie zlúčenín dochádza k synergickému účinku, pretože menšie čiastočné dávky IC_{50} dávky každej zlúčeniny sa použijú na dosiahnutie 49 % inhibície HCV replikónovej RNA, ako by sa požadovalo pre ktorúkoľvek zlúčeninu samotnú, kedy by bolo treba 89 % dávky IC_{50} . Výsledky tohto kombinačného ošetrovania sú uvedené

v tabuľke 8 a graficky na obr. 1.

Tabuľka 7 - Inhibícia akumulácie replikónovej RNA po 48 hodinách od ošetrenia zlúčeninou CU a interferónom-alfa 2B, individuálne alebo v kombinácii

Zlúčenina CU (konc.)	Interferón- α 2B (jednotky)						
	30 U	6 U	1,2 U	0,24 U	0,048 U	0,0096 U	0 U
3 μ M	99 %	99 %	99 %	99 %	98 %	98 %	98 %
1 μ M	99 %	98 %	96 %	95 %	92 %	93 %	88 %
0,333 μ M	94 %	87 %	66 %	49 %	33 %	27 %	28 %
0,1111 μ M	93 %	79 %	46 %	29 %	12 %	15 %	11 %
0,0370 μ M	92 %	78 %	44 %	21 %	2 %	7 %	8 %
0,0123 μ M	92 %	78 %	44 %	20 %	19 %	19 %	5 %
0 μ M	89 %	73 %	38 %	16 %	8 %	12 %	0 %

Tieto počiatočné výsledky, odvodené ako bolo uvedené vyššie, z použitia *in vitro* testu Replicon Assay a jednoduchšej analýzy aditivity dát vytvorených týmto testom, preukazujú, že kombinačné ošetrenie replikónových buniek inhibítorom HCV serínových proteáz a interferónom poskytuje aspoň aditívny protívirusový účinok a pravdepodobne synergický protívirusový účinok.

Predchádzajúce dáta sa znova analyzovali použitím formálnych matematických nástrojov opísaných vyššie kvôli určeniu, či vzťah medzi inhibítorom HCV serínových proteáz CU a interferónom α -2B je synergický, aditívny alebo antagonistický. Znova analyzované dáta sú znázornené numericky v tabuľke 8 a graficky na obr. 4.

Tabuľka 8 prehľadne uvádza ďalšie výsledky získané v teste Replicon Assay po ošetrení replikón obsahujúcich buniek po dobu 48 hodín s rôznymi inhibítormi HCV serínových proteáz podľa predloženého vynálezu a niekoľkými

rôznymi interferónmi, individuálne alebo v kombinácii. Podotýkame, že štandardná odchýlka hodnôt zmeraných na inhibíciu HCV replikónovej RNA v teste Replicon Assay je okolo 20 %. Zlúčeniny sa testujú na širokom rozmedzí koncentrácií a s nižšími koncentráciami zlúčenín takými, že nespôsobujú významnú inhibíciu koncentrácie HCV replikónovej RNA. V dôsledku 20 % štandardnej odchýlky testu niektoré dátové body generujú záporné čísla. Záporná hodnota inhibície indikuje u konkrétneho experimentu, že v priemere je vo vzorkách spracovaných zlúčeninou viacero molekúl HCV replikónovej RNA ako vo vzorkách spracovaných bez zlúčeniny.

Tabuľka 8 - Inhibícia akumulácie replikónovej RNA po 48 hodinách pôsobenia inhibítora HCV serínových proteáz a s rôznymi interferónmi, individuálne alebo v kombinácii

Experiment 1

Zlúčenina CU (μM)	IFN alfa-2B (jednotky)						
	30,00	6,00	1,20	0,24	0,048	0,0096	0,000
0,000	89 %	73 %	38 %	16 %	8 %	12 %	0 %
0,012	92 %	78 %	44 %	20 %	19 %	19 %	5 %
0,037	92 %	78 %	44 %	21 %	2 %	7 %	8 %
0,111	93 %	79 %	46 %	29 %	12 %	15 %	11 %
0,333	94 %	87 %	66 %	49 %	33 %	27 %	28 %
1,000	99 %	98 %	96 %	95 %	92 %	93 %	88 %
3,000	99 %	99 %	99 %	99 %	98 %	98 %	98 %

Experiment 2

Zlúčenina CU (μM)	IFN alfa-2A (jednotky)						
	30	6	1,2	0,24	0,048	0,0096	0
0	86 %	61 %	27 %	4 %	- 7 %	5 %	0 %
0,0123	87 %	6 %	17 %	- 23 %	8 %	8 %	10 %
0,37	85 %	62 %	13 %	- 2 %	0 %	- 1 %	1 %
0,111	87 %	68 %	37 %	20 %	- 6 %	12 %	10 %
0,333	92 %	77 %	58 %	41 %	26 %	25 %	44 %
1	98 %	96 %	90 %	86 %	84 %	83 %	85 %
3	99 %	99 %	98 %	98 %	98 %	98 %	98 %

Experiment 3

Interferón alfa-2B (jednotky)	Zlúčenina CU (μM)								
	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0
0	98 %	93 %	62 %	23 %	12 %	-2 %	-4 %	-2 %	0 %
0,049	98 %	95 %	70 %	39 %	12 %	2 %	6 %	9 %	3 %
0,123	98 %	95 %	70 %	43 %	15 %	7 %	2 %	5 %	2 %
0,307	98 %	95 %	73 %	46 %	16 %	14 %	7 %	19 %	-3 %
0,768	98 %	95 %	82 %	56 %	43 %	34 %	28 %	32 %	28 %
1,920	98 %	98 %	87 %	71 %	51 %	54 %	49 %	52 %	45 %
4,8	99 %	98 %	92 %	82 %	74 %	71 %	69 %	71 %	59 %
12,0	99 %	98 %	96 %	89 %	87 %	85 %	85 %	85 %	80 %
30,0	99 %	99 %	98 %	95 %	93 %	92 %	92 %	93 %	89 %

Experiment 4

Interferón alfa-2A (jednotky)	Zlúčenina CU (μM)								
	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,023 4	0
0	98 %	94 %	74 %	38 %	17 %	3 %	-1 %	6 %	0 %
0,049	98 %	93 %	60 %	22 %	29 %	21 %	-9 %	-6 %	6 %
0,123	98 %	93 %	67 %	29 %	21 %	12 %	3 %	2 %	-8 %
0,307	98 %	93 %	66 %	29 %	22 %	4 %	-3 %	-4 %	10 %
0,768	98 %	95 %	67 %	46 %	24 %	21 %	20 %	9 %	15 %
1,920	98 %	96 %	73 %	48 %	43 %	44 %	27 %	33 %	29 %
4,8	98 %	97 %	82 %	61 %	61 %	59 %	52 %	55 %	43 %
12,0	99 %	98 %	91 %	75 %	76 %	72 %	71 %	74 %	73 %
30,0	99 %	98 %	96 %	89 %	86 %	85 %	84 %	84 %	83 %

Experiment 5

Ovčí interferón tau (jednotky)	Zlúčenina CU (μM)								
	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0
0	98 %	95 %	65 %	24 %	- 1 %	-14 %	- 14 %	- 12 %	0 %
0,9375	97 %	95 %	72 %	41 %	17 %	11 %	12 %	6 %	17 %
1,875	97 %	95 %	71 %	40 %	31 %	18 %	18 %	11 %	4 %
3,75	98 %	96 %	75 %	44 %	38 %	25 %	34 %	18 %	17 %
7,5	98 %	96 %	82 %	61 %	42 %	37 %	25 %	26 %	36 %
15	98 %	97 %	84 %	64 %	59 %	61 %	56 %	51 %	53 %
30	98 %	98 %	90 %	79 %	72 %	68 %	65 %	68 %	68 %
60	98 %	98 %	93 %	87 %	80 %	80 %	74 %	77 %	82 %
120	98 %	98 %	95 %	92 %	86 %	87 %	86 %	86 %	87 %

Experiment 6

Interferón alfa-2B (jednotky)	Zlúčenina EC (μM)								
	3	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0
0	96 %	93 %	81 %	56 %	29 %	23 %	19 %	1 %	0
0,0492	96 %	92 %	80 %	60 %	31 %	15 %	19 %	29 %	6 %
0,1229	96 %	94 %	78 %	58 %	32 %	13 %	20 %	20 %	4 %
0,3072	97 %	95 %	82 %	60 %	38 %	32 %	34 %	42 %	23 %
0,768	97 %	95 %	87 %	66 %	43 %	41 %	46 %	43 %	25 %
1,92	98 %	97 %	90 %	73 %	62 %	51 %	54 %	58 %	47 %
4,8	98 %	97 %	94 %	87 %	76 %	73 %	78 %	76 %	69 %
12,0	98 %	98 %	96 %	92 %	86 %	86 %	86 %	85 %	84 %
30,0	98 %	98 %	96 %	96 %	93 %	92 %	92 %	95 %	91 %

Experiment 7

Interferón alfa-2A (jednotky)	Zlúčenina EC (μM)								
	3,0	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,0234	0
0	96 %	92 %	81 %	47 %	28 %	17 %	- 1 %	- 8 %	0
0,0492	96 %	93 %	78 %	58 %	21 %	8 %	- 12 %	10 %	- 17 %
0,1229	95 %	93 %	79 %	64 %	14 %	5 %	14 %	7 %	22 %
0,3072	95 %	91 %	80 %	64 %	22 %	15 %	5 %	2 %	- 5 %
0,768	96 %	95 %	81 %	64 %	34 %	21 %	19 %	20 %	4 %
1,92	96 %	95 %	88 %	78 %	44 %	41 %	19 %	33 %	21 %
4,8	97 %	95 %	91 %	85 %	60 %	58 %	60 %	53 %	49 %
12,0	97 %	97 %	95 %	91 %	77 %	72 %	76 %	70 %	71 %
30,0	98 %	98 %	97 %	94 %	91 %	86 %	85 %	85 %	84 %

Experiment 8

Interferón beta (jednotky)	Zlúčenina CU (μM)								
	3,0	1,5	0,75	0,375	0,1875	0,0938	0,0469	0,02344	0
0	97 %	95 %	77 %	34 %	16 %	6 %	- 7 %	0 %	0
0,2344	98 %	97 %	83 %	49 %	31 %	19 %	- 21 %	- 7 %	1 %
0,4688	98 %	96 %	84 %	56 %	39 %	27 %	10 %	- 3 %	21 %
0,9375	98 %	97 %	91 %	73 %	54 %	42 %	31 %	15 %	30 %
1,875	98 %	98 %	95 %	80 %	65 %	58 %	65 %	60 %	60 %
3,75	98 %	98 %	97 %	92 %	86 %	81 %	77 %	73 %	79 %
7,5	99 %	98 %	98 %	96 %	93 %	93 %	93 %	90 %	92 %
15,0	99 %	99 %	99 %	97 %	97 %	96 %	97 %	95 %	96 %
30,0	99 %	99 %	99 %	99 %	98 %	99 %	98 %	98 %	97 %

Experiment 9

Interferón alfa-2B (jednotky)	Zlúčenina EP (μM)								
	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,0625	0
0	94 %	96 %	96 %	92 %	64 %	36 %	23 %	8 %	0
0,0492	95 %	96 %	96 %	91 %	67 %	25 %	28 %	8 %	3 %
0,1229	95 %	97 %	96 %	91 %	65 %	44 %	4 %	11 %	4 %
0,3072	95 %	97 %	96 %	91 %	71 %	46 %	20 %	8 %	20 %
0,7680	96 %	97 %	97 %	93 %	75 %	49 %	36 %	24 %	24 %
1,92	96 %	97 %	97 %	94 %	82 %	67 %	49 %	52 %	54 %
4,8	96 %	98 %	97 %	96 %	90 %	79 %	75 %	75 %	70 %
12	97 %	98 %	98 %	97 %	94 %	89 %	89 %	87 %	83 %
30	97 %	98 %	98 %	98 %	96 %	94 %	94 %	95 %	92 %

Experiment 10

Interferón alfa-2B (jednotky)	Ribavirín (μM)								
	200	80	32	12,8	5,12	2,048	0,8192	0,3277	0
0	85 %	62 %	43 %	3 %	-8 %	-17 %	-22 %	-6 %	0
0,0492	87 %	66 %	48 %	44 %	11 %	-4 %	-10 %	11 %	-7 %
0,1229	84 %	64 %	53 %	40 %	26 %	-12 %	-5 %	11 %	-9 %
0,3072	86 %	70 %	62 %	44 %	28 %	1 %	6 %	14 %	7 %
0,7680	90 %	80 %	72 %	65 %	38 %	30 %	28 %	44 %	29 %
1,92	93 %	85 %	77 %	76 %	61 %	57 %	58 %	50 %	46 %
4,8	96 %	92 %	87 %	83 %	82 %	74 %	71 %	77 %	72 %
12	97 %	95 %	93 %	91 %	90 %	89 %	90 %	89 %	85 %
30	98 %	97 %	96 %	95 %	94 %	94 %	93 %	95 %	94 %

Ako je znázornené na obr. 4 - 13, ktoré graficky znázorňujú dáta v tabuľke 8, vypočítané použitím vyššie opísaného matematického spôsobu merania synergie, krivky izobol pre všetky kombinácie testovaných inhibítorov HCV serínových proteáz a interferónov sú konkávne obrátené nahor, čo indikuje, že protívirusový účinok ošetrenia v teste Replicon Assay je synergický. Tieto výsledky sú tabulované v tabuľke 9, ktorá ukazuje relatívne úrovne synergie pre kombinačné ošetrenie a hodnoty IC_{50} protívirusovej zlúčeniny použitej individuálne. Kľúčovým prvkom v tabuľke 9 sú hodnoty α a hodnoty p . Hodnota α je miera maximálnej inflexie izobol pre každé kombinačné ošetrenie. Hodnota nula označuje aditivitu, negatívna hodnota označuje antagonizmus a, ako je to v prípade kombinačných ošetrení s inhibítormi HCV serínových proteáz a interferónmi, znázornenom vyššie, hodnota väčšia ako jedna označuje synergiu. O čo väčší je parameter α , o to väčšia je synergia. Ako je znázornené v tabuľke 9 pre kombinácie inhibítorov HCV serínových proteáz a interferóny, dokonca pri ignorovaní úrovni významnosti v každom experimente t test založený na 9 experimentoch pre strednú hodnotu alfa rovnajúcu sa 0 (bez interakcie) má hodnotu p rovnajúcu sa 0,00014, čo indikuje, že výsledky sú vysoko významné.

Výpočet synergie, založený na metóde Greco Rustom ((1990) Application of a New Approach for the Quantitation of Drug Synergism to the Combination of cis-Diaminedichlorplatinum a 1- β -D-Arabinofuranosylcytosine, Cancer Research, 50, 5318 - 5327, použitý v tejto analýze, je ideálnym nástrojom na ohodnotenie druhu experimentálnych dát, ktoré sa môžu generovať použitím testu HCV Replicon Assay. Existujú iné metódy, ktoré sa aplikujú na štúdium protívirusových zlúčenín, ako je Pritchard a Shipman (Pritchard, M. N. a Shipman, C. Jr., (1990) „A three-dimensional model to analyze drug-drug interactions (review)“, Antiviral Res., 14, 181 - 206). Aplikácie ich spôsobu výpočtu synergie na dáta uvedené v tabuľke 8 tiež naznačujú, že kombinačné ošetrenie replikónových buniek inhibítorom HCV serínových proteáz a interferónom vedie k synergickej inhibícii akumulácie HCV replikónovej RNA (dáta nie sú uvedené).

Tabuľka 9 - Relatívne hodnoty synergie pre kombinačné ošetrovanie a hodnoty IC_{50} pre protivírusové zlúčeniny použité individuálne

	Inhibitor HCV serínovej proteázy	Interferón	IC_{50} INF (jednotky)	IC_{50} HSPi (μ M)	alfa (SE) ¹	Hodnota $P \alpha > 0$
Experiment 1	Zlúčenina CU	IFN alfa-2B	2,05	0,469	0,477 (0,09)	< 0,0001
Experiment 2	Zlúčenina CU	IFN alfa-2A	3,72	0,446	0,770 (0,12)	< 0,0001
Experiment 3	Zlúčenina CU	IFN alfa-2B	2,36	0,587	0,730 (0,08)	< 0,0001
Experiment 4	Zlúčenina CU	IFN alfa-2A	5,67	0,633	0,438 (0,08)	< 0,0001
Experiment 5	Zlúčenina CU	IFN tau	13,22	0,605	0,328 (0,07)	< 0,0001
Experiment 6	Zlúčenina EC	IFN alfa-2B	2,53	0,384	0,516 (0,10)	< 0,0001
Experiment 7	Zlúčenina EC	IFN alfa-2A	5,50	0,312	1,24 (0,20)	< 0,0001
Experiment 8	Zlúčenina CU	IFN beta	1,82	0,466	0,551 (0,09)	< 0,0001
Experiment 9	Zlúčenina EP	IFN alfa-2B	3,06	0,426	0,490 (0,12)	< 0,0001
Experiment 10	Ribavirín	IFN alfa-2B	1,22	145	- 0,24 (0,067)	0,0004

¹ (SE) štandardná odchýlka

Ďalšou mierou zhodnotenia synergiekej povahy liečenia látkami proti HCV použitím inhibítorov HCV serínových proteáz podľa predloženého vynálezu a interferónov je použitie rovnakej metódy aká bola opísaná pre zhodnotenie doterajšej štandardnej kombinačnej terapie pre HCV, to znamená, interferón alfa-2B v kombinácii s Ribavirínom, v teste Replicon Assay. Posledný

riadok tabuľky 9 ukazuje, že parameter α pre zmes interferónu alfa-2B a Ribavirín je záporné číslo, čo ukazuje, že je malý antagonizmus medzi týmito dvoma látkami. To ďalej zdôrazňuje význam kombinačných ošetrení tu opísaných, používajúcich inhibítory HCV serínových proteáz podľa predloženého vynálezu v kombinácii s interferónmi, spočívajúci v tom, že toto liečenie jasne produkuje synergiu, zatiaľ čo štandardná kombinačná terapia pre HCV (interferón alfa-2B v kombinácii s Ribavirínom) nie je synergický v teste Replicon Assay.

Vyššie uvedené porovnanie kombinačných ošetrení, používajúcich inhibítory HCV serínových proteáz plus interferóny oproti ošetreniu Ribavirínom plus interferónom v teste Replicon Assay jasne ukazuje, že prvé z nich je synergické, zatiaľ čo druhé nie je. Experimentálne výsledky, získané použitím testu Replicon Assay ukazujú, že oveľa nižšia dávka interferónu môže byť účinná, pokiaľ sa interferón použije v kombinácii s inhibítorom HCV serínových proteáz, ako je nutné, pokiaľ sa interferón alfa-2B použije v kombinácii s Ribavirínom. Test Replicon Assay je užitočný modelový systém testovania potenciálnych zlúčenín proti HCV a v súčasnej dobe sa na neho spolieha ako na účinný prostriedok predikcie účinnosti zlúčenín proti HCV. Pozri napríklad Blight a kol. (2000) Efficient Initiation of HCV RNA Replication in Cell Culture, *Science* 8, 290, 1972 - 1974, a Chung a kol. (2001) Hepatitis C virus replication is directly inhibited by IFN-alfa in a full - length binary expression system. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 98, 17, 9847 - 9852. Ribavirín samotný je len okrajovo účinný na znižovanie akumulácie HCV replikónovej RNA v teste Replicon Assay (tabuľka 8, experiment 10 a posledný riadok tabuľky 9). Tento výsledok je v zjavnom rozpore s *in vivo* štúdiami, kde, ak sa používa samotný, Ribavirín nemá významnú terapeutickú hodnotu na liečenie HCV. Na rozdiel od toho v teste Replicon Assay, po korekcii cytotoxicity, ako je uvedené ďalej, sa Ribavirín IC_{50} rovná 145 μM . Tento výsledok sa môže vysvetliť tým, že test Replicon Assay dovoľuje hodnotenie vysokých koncentrácií Ribavirínu, ktoré by nebolo možné použiť u človeka v dôsledku *in vivo* cytotoxicity (Chutaputti, A. (2000), Adverse effects and other safety aspects of the hepatitis C antivirals.

Journal of Gastroenterology and Hepatology. 15 Suppl., E156 - 163).

Toto hodnotenie nutne vyžaduje zhodnotenie cytotoxicity Ribavirínu. K takejto toxicite dochádza u pacienta a v bunkových testoch (Shiffman, M. L., Verbeke, S. B., Kimball, P. M: (2000), Alpha interferon combined with ribavirin potentiates proliferative suppression but not cytokine production in mitogenically stimulated human lymphocytes. *Antiviral Research*, 48, 2, 91 - 99). V experimentoch tu opísaných sa cytotoxicita Ribavirínu v teste Replicon Assay pozorovala a zmerala v dvoch smeroch. Ako v XTT metabolickom teste kvôli určení životaschopnosti replikónových buniek (Roehm, N. W., Rodgers, G. H., Hatfield, S. M., Glasebrook, A. L. (1991), An improved colorimetric test for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT. *Journal of Immunol. Methods*, 142, 2, 257 - 265) a v TaqMan® kvantitatívnom RT-PCR teste, ktorý meria glyceraldehyd-3-fosfát dehydrogenázové (GAPDH) hodnoty mRNA u ošetrovaných versus neošetrovaných buniek v teste Replicon Assay (Brink, N., Szamel, M., Young, A. R., Wittern, K. P., Bergemann, J. (2000), Comparative quantification of IL-1 beta, IL-10, IL-10r, TNF-alpha and IL-7 mRNA levels in UV-irradiated human skin *in vivo*. *Inflammation Research*, 49, 6, 290-296), sa pozorovala významná Ribavirínom indukovaná cytotoxicita, ale korigovala sa nasledujúcim spôsobom. Predpokladá sa, že úroveň GAPDH mRNA, ktorá je konštitučne exprimovaná hlavným génom, je rovnaká vo všetkých životaschopných bunkách. Je známe z meraní hodnôt GAPDH mRNA v bunkách ošetrovaných inhibítorom transkripcie aktinomycínom D, že počas života GAPDH mRNA je len niekoľko hodín (dáta neznázornené). Preto sa postupuje, ako to bolo vykonané inými bádateľmi používajúcimi technológiu TaqMan® na určenie úrovne konkrétnych mRNAs v ľudských bunkách, že úrovne GAPDH mRNA sú priamo úmerné počtom životaschopných buniek (životaschopný cell numbers - VCN) v ľubovoľnej danej vzorke, so vzťahom $VCN = 2^{(40 - Ct_{GAPDH \text{ mRNA}})}$. VCN sa vypočíta pre každú jamku so vzorom v teste Replicon Assay a potom sa vydelením počtu kópií HCV replikónovej RNA pre špecifickú jamku hodnotou VCN pre túto jamku. Ako sa vypočíta, použije sa tento pomer namiesto počtu kópií HCV na výpočet inhibície („Str. Inh použitím

pomeru,,, obr. 14.A). Bez korekcie dát testu Replicon Assay na túto cytotoxicitu sa takáto cytotoxicita prejavuje ako falošná pozitívna inhibícia akumulácie HCV replikónovej RNA.

V teste Replicon Assay sa predpokladá, že zmeraná inhibícia akumulácie HCV replikónovej RNA je súčet skutočnej inhibície akumulácie HCV replikónovej RNA a zjavnej inhibície akumulácie HCV replikónovej RNA v dôsledku cytotoxicity. Ďalej sa predpokladá, v dôsledku úzkej korelácie XTT a TaqMan® GAPDH mRNA mier cytotoxicity, že inhibícia akumulácie GAPDH mRNA spôsobená zlúčeninami testovanými v teste Replicon Assay je spoľahlivou mierou zjavnej inhibície akumulácie HCV replikónovej RNA v dôsledku cytotoxicity. Skutočný účinok zlúčeniny proti HCV v teste Replicon Assay, korigovaný na všeobecnú cytotoxicitu, sa môže odhadnúť delením počtu HCV replikónových RNA molekúl, zmeraných v každej vzorke hodnotou VCN, čo normalizuje počet životaschopných buniek v každej vzorke. Použitím tohto spôsobu obr. 14.A ukazuje odhad skutočného účinku Ribavirínu proti HCV v teste Replicon Test („Str. Inh použitím pomeru,,). Odhad IC_{50} pre Ribavirín sa najlepšie vypočíta použitím tohto spôsobu. Na obr. 14.A „Str. Inh orig.,“ ukazuje nekorigovanú IC_{50} pre Ribavirín, ktorá je približne 80 μM , zatiaľ čo korigovaná hodnota IC_{50} vypočítaná z krivky „Str. Inh použitím pomeru,, je približne 145 μM . Je dobré si všimnúť, že rozdiel medzi korigovanou a zmeranou inhibíciou akumulácie HCV replikónovej RNA ako výsledku ošetrovania interferónom alfa-2B (obr. 14.B) je nevýznamný vzhľadom k ~ 20 % CV v teste Replicon Assay. Rovnako ako interferón alfa-2B, inhibítory HCV serínových proteáz testované v uvádzanom príklade nevykazujú významnú cytotoxicitu v použitých koncentráciách. To sa určí použitím XTT testov, v ktorých hodnoty TC_{50} pre rôzne zlúčeniny sú: CU = 64,7 μM , EP > 10 μM a EC > 50 μM . Tieto hodnoty TC_{50} sú 20 - 140-krát väčšie ako IC_{50} hodnoty ukázané v tabuľke 9. Cytotoxicita týchto zlúčenín teda nemá žiaden významný účinok na akumuláciu HCV RNA v teste Replicon Assay v rámci presnosti testu, pretože takáto cytotoxicita nastáva len u koncentrácií inhibítora HCV serínových proteáz, ktoré sú významne vyššie ako boli testované v Replicon Assay.

Závery týkajúce sa účinnosti inhibítorov HCV serínových proteáz a interferónov, individuálne a v kombinácii

Účinok proti HCV u inhibítorov HCV serínových proteáz podľa vynálezu a rôznych interferónov, ak sa používajú samotné v HCV Replicon Assay, sú ukázané v stĺpcoch a riadkoch jednotlivých testov, uvedených v tabuľke 8, ktorá používa iba jediné protívirusové činidlo. Tabuľka 9 udáva hodnoty IC_{50} zmerané pre každú protívirusovú zlúčeninu, ak sa testuje samotná. Vyššie uvedené výsledky, získané z *in vitro* Replicon Assay, tiež ukazujú, že kombinačné ošetrovanie replikónových buniek inhibítormi HCV serínových proteáz podľa predloženého vynálezu a rôznymi interferónmi poskytuje synergické protívirusové účinky. Plne sa očakáva, že tieto účinky sa prenesú i do účinnosti *in vivo*.

Kombinačná terapia používajúca inhibítory HCV serínových proteáz podľa predloženého vynálezu má niekoľko veľkých výhod proti terapii s použitím jedného lieku. Predovšetkým tým, že umožňuje liečbu pomocou nižších dávok jednotlivých liekov, ako keby sa použili samostatne, možno očakávať zníženie toxicity a vedľajších účinkov súvisiacich s liečením. To je obzvlášť dôležité v prípade interferónovej terapie, kde vedľajšie účinky sú závažné a ukázalo sa, že sú úmerné dávkam podávaným pacientom. Vyššie uvedené dáta indikujú, že dávka inhibítora HCV serínových proteáz ako je zlúčenina CU v množstve zodpovedajúcom IC_{95} , sa môže skombinovať s dávkou interferónu alfa, napríklad v množstve zodpovedajúcom IC_{50} a výsledkom bude oveľa účinnejšia terapia, ako ktorú by bolo možné dosiahnuť inhibítorom HCV serínových proteáz samotným bez nepriaznivých vedľajších účinkov, spôsobených vysokými dávkami interferónu alfa. Druhý významný priaznivý účinok kombinačnej terapie je, že hoci oba lieky pôsobia nezávisle, je menšia pravdepodobnosť vývoja mutovaných kmeňov HCV, ktoré liečbe odolávajú. Vývoj rezistencie je hlavným problémom u RNA vírusov ako je HCV. Vzhľadom k veľkému množstvu mutácií sa môžu tieto vírusy rýchlo adaptovať na stres spôsobený okolitým prostredím. Treťou výhodou kombinačnej terapie

môže byť znížená cena v dôsledku potreby menšieho množstva terapeutických činidiel potrebných na účinnú liečbu.

V spôsoboch tu opisovaných sa môžu použiť ďalšie imunomodulátory, napríklad alfa interferón 2A, konsenzuálny interferón, interferón tau, interferón + Ribavirín (Rebatron), pegylovaný interferón a promótor expresie génu interferónu. Plne sa predpokladá, že účinok týchto zlúčenín proti HCV sa zlepší, ak budú použité v kombinácii s inhibítormi HCV serínových proteáz, aké sú tu opísané. Pretože interferóny sú známe svojím účinkom *in vivo* a v teste Replicon Assay, očakáva sa, že opísané inhibítory HCV serínových proteáz budú tiež účinné *in vivo* a že budú schopné vyvolať synergický účinok, ak sa použijú v kombinácii s interferónmi, ich stimulátormi imunitného systému alebo ďalšími zlúčeninami, ktoré majú protivírusový účinok proti HCV a pôsobia iným mechanizmom ako je inhibícia HCV serínových proteáz.

Najlepšia súčasná terapia HCV používa interferón alfa a nukleozidový analóg Ribavirín. Toto liečenie je len okrajovo účinné a vedie k významným vedľajším účinkom, ktoré znižujú pacientovu kompliance (Chronic Hepatitis C: Current Disease Management, US Department of Health and Human Service, National Institutes of Health, 1999). Okrem toho u pacientov s transplantáciami nie je jasné, či kombinácia Ribavirín - interferón účinkuje a v skutočnosti môže byť horšia ako samotný interferón (Chronic Hepatitis C: Current Disease Management, US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, 1999).

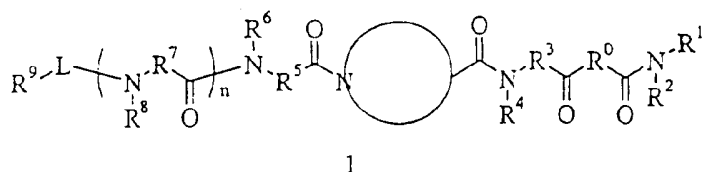
Vyššie uvedené výsledky demonštrujú synergický kombinačný účinok, pokiaľ sa interferóny použili s novou triedou zlúčenín proti vírusu HCV, inhibítormi serínových proteáz podľa predloženého vynálezu. Plne sa očakáva, že *in vitro* výsledky tu uvedené povedú k účinnejšiemu liečeniu HCV pacientov, ako je v súčasnej dobe možné použitím samotného interferónu. Subterapeutické dávky interferónu môžu mobilizovať pacientov imunitný systém na lepší boj s vírusom a inhibitor serínových proteáz môže atakovať vírus priamo, takže na vírus sa pôsobí dvoma rôznymi mechanizmami pôsobenia. Táto liečba HCV infekcie sa môže dosiahnuť s nižšou cenou pre pacienta ako v

zmysle znížených vedľajších účinkov, tak i nižších platieb za nutné farmaceutické činidlá, lebo na účinnú liečbu HCV bude potrebné menej oboch liekov.

Predložený vynález sa môže vykonávať inými špecifickými spôsobmi, bez toho, aby došlo k odchýleniu sa od zmyslu vynálezu alebo jeho podstatných znakov.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Zlúčenina všeobecného vzorca 1:



v ktorom:

R^0 je väzba alebo difluórmetylén;

R^1 je atóm vodíka, prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina;

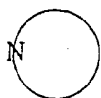
R^2 a R^9 sú každý nezávisle prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina;

R^3 , R^5 a R^7 sú každý nezávisle:

prípadne substituovaný (1,1- alebo 1,2-) cykloalkylén; alebo prípadne substituovaný (1,1- alebo 1,2-) heterocyklylén; alebo

metylén alebo etylén, substituovaný jedným substituentom zvoleným zo súboru, zahrňujúceho prípadne substituovanú alifatickú skupinu, prípadne substituovanú cyklickú skupinu alebo prípadne substituovanú aromatickú skupinu a kde metylén alebo etylén je ďalej prípadne substituovaný alifatickým substituentom; alebo

R^4 , R^6 , R^8 a R^{10} sú každý nezávisle atóm vodíka alebo prípadne substituovaná alifatická skupina;



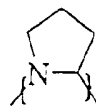
je substituovaný monocyklický azaheterocyklyl alebo prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl alebo prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklenyl, v ktorom nenasýtenosť je v kruhu vzdialenom od kruhu nesúceho skupinu $R^9-L-(N(R^8)-R^7-C(O)-)_nN(R^6)-R^5-C(O)-N$ a ku ktorému je skupina $-C(O)-N(R^4)-R^3-C(O)C(O)NR^2R^1$ viazaná;

L je $-C(O)-$, $-OC(O)-$, $-NR^{10}C(O)-$, $-S(O)_2-$ alebo $-NR^{10}S(O)_2-$;

a

n je 0 alebo 1,

alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ alebo prekursor alebo solvát takejto zlúčeniny, jej soli alebo jej prekursora,



s podmienkou, že pokiaľ je substituovaný ,potom L je $-OC(O)-$ a R^9 je prípadne substituovaný alifatický substituent; alebo aspoň jeden z R^3 , R^5 a R^7 je etylén, substituovaný jedným substituentom zvoleným zo súboru, zahrňujúceho prípadne substituovanú alifatickú skupinu, prípadne substituovanú cyklickú skupinu alebo prípadne substituovanú aromatickú skupinu a kde etylén je ďalej prípadne substituovaný alifatickým substituentom; alebo R^4 je prípadne substituovaná alifatická skupina.

2. Zlúčenina podľa nároku 1, kde R^0 je väzba.

3. Zlúčenina podľa nároku 1 alebo 2, kde

prípadne substituované alifatické skupiny sú alkyl, alkenyl alebo alkynyl, prípadne substituované jedným alebo viacerými substituentmi alifatickej

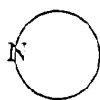
skupiny;

prípadne substituované cyklické skupiny sú skupiny cykloalkyl, cykloalkenyl, heterocyklyl alebo heterocyklenyl, prípadne substituované jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

prípadne substituované aromatické skupiny sú arylové alebo heteroarylové skupiny prípadne substituované jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

prípadne substituované (1,1- alebo 1,2-) cykloalkylénové skupiny sú (1,1- alebo 1,2-) cykloalkylénové skupiny prípadne substituované jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

prípadne substituované (1,1- alebo 1,2-) heterocyklylénové skupiny sú (1,1- alebo 1,2-) heterocyklylénové skupiny prípadne substituované jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;



ako substituovaný monocyklický azaheterocyklyl je monocyklická azaheterocyklylová skupina, substituovaná priamo alebo cez väzbový člen aspoň jedným substituentom zvoleným zo súboru zahrňujúceho skupiny aryl, heteroaryl, aryloxy, heteroaryloxy, aroyl alebo jeho tio analóg, heteroaryl alebo jeho tioxo analóg, aroyloxy, heteroaroyloxy, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, aryltio, heteroaryltio, aryldiazo, heteroaryldiazo, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, kde aspoň jeden zo substituentov Y^1 a Y^2 je aryl alebo heteroaryl, kde uvedená väzbová skupina je zvolená zo súboru zahrňujúceho $-C(O)-$, $-OC(O)-$, nižší alkyl, nižší alkoxy, nižší alkenyl, $-O-$, $-S-$, $-C(O)C(O)-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-NR^{80}-$, kde R^{80} je atóm vodíka, skupiny alkyl, cykloalkyl, aryl, aralkyl, heterocyklyl alebo heteroaryl;

prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl je multicyklická azaheterocyklylová skupina prípadne substituovaná jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl je multicyklická azaheterocyklylová skupina prípadne substituovaná jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

substituenty alifatických skupín sú skupiny aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$), tioxo ($S=$), Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$, $Y^1Y^2NSO_2-$ alebo $Y^3SO_2NY^1-$, kde R^2 je ako tu bolo definované, Y^1 a Y^2 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl a Y^3 je alkyl, cykloalkyl aryl alebo heteroaryl alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$ alebo Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka, ku ktorému sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklyl;

substituenty skupiny kruhov znamenajú aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén,

nitro, kyano, karboxy (kyselina), kyslý bioster, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, kde Y^1 , Y^2 a Y^3 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl, alebo pokiaľ systém kruhov je nasýtený alebo čiastočne nasýtený, "substituenty skupiny kruhov" ďalej zahrňujú skupiny metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$) a tioxo ($S=$);

aryl znamená aromatický monocyklický alebo multicyklický systém kruhov so 6 až 14 atómami uhlíka;

cykloalkyl znamená nearomatický mono- alebo multicyklický systém kruhov s 3 až 10 atómami uhlíka;

cykloalkenyl znamená nearomatický mono- alebo multicyklický systém kruhov s 3 až 10 atómami uhlíka, ktorý obsahuje aspoň jednu dvojitú väzbu uhlík-uhlík;

cyklyl znamená cykloalkyl, cykloalkenyl, heterocyklyl alebo heterocyklenyl;

heterocyklyl znamená nearomatický nasýtený monocyklický alebo multicyklický systém kruhov od približne 3 do približne 10 atómov uhlíka, v ktorom jeden alebo viacero atómov v kruhovom systéme je/sú heteroatóm iný ako uhlík;

heterocyklenyl znamená nearomatický monocyklický alebo multicyklický uhľovodíkový systém kruhov obsahujúci od približne 3 do približne 10 atómov

uhlíka, v ktorom jeden alebo viacero atómov v kruhovom systéme je/sú heteroatómy iné ako uhlík, a ktorý obsahuje aspoň jednu dvojitú väzbu uhlík-uhlík alebo dvojitú väzbu uhlík-dusík; a

heteroaryl znamená aromatický monocyklický alebo multicyklický systém kruhov obsahujúci od približne 5 do približne 14 atómov uhlíka, kde jeden alebo viacero atómov v kruhovom systéme je/sú heteroatómy iné ako uhlík.

4. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 3, kde R^0 je difluórmetylén.

5. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 4, kde R^1 je atóm vodíka alebo prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina.

6. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 5, kde R^1 je atóm vodíka alebo nižší alkyl.

7. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 6, kde R^1 je atóm vodíka.

8. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 7, kde R^2 je prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina alebo prípadne substituovaná monocyklická skupina.

9. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 8, kde R^2 je prípadne substituovaný nižší alkyl, prípadne substituovaný nižší alkenyl alebo prípadne substituovaný monocyklický cykloalkyl.

10. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 9, kde R^2 je karboxymetyl, 1-karboxy-2-fenyletyl, cyklopropyl, cyklobutyl, 1-cyklohexyletyl, 1-fenyletyl, but-2-yl, 1-pyrid-4-yletyl, propén-3-yl alebo 3-metylbut-2-yl.

11. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 10, kde R^3 je prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina metylén.

12. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 11, kde R^3 je prípadne atómom halogénu substituovaný nižší (alkyl alebo alkenyl)metylén.

13. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 12, kde R^3 je propylmetylén, 2,2-difluóretylmetylén, 2,2,2-trifluórmetylén alebo propén-3-ylmetylén.

14. Zlúčenina podľa nároku 13, kde R^3 je propylmetylén alebo 2,2-difluóretylmetylén.

15. Zlúčenina podľa nároku 14, kde R^3 je propylmetylén.

16. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 15, kde R^4 je atóm vodíka alebo prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina.

17. Zlúčenina podľa nároku 16, kde R^4 je atóm vodíka.

18. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 17, kde R^5 je prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina metylén.

19. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 18, kde R^5 je prípadne (fenyľ, karboxy, karboxamido alebo alkoxykarbonyl) substituovaný nižší (alkyl alebo alkenyl) metylén.

20. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 19, kde R^5 je metylmetylén, izopropylmetylén, terc-butylmetylén, but-2-ylmetylén, butylmetylén, benzylmetylén, 3-metylbutylmetylén, 2-metylpropylmetylén, karboxymetylmetylén, karboxamidometylmetylén, benzyloxykarbonylmetylmetylén, benzyloxykarbonylpropylmetylén alebo fenyľpropén-3-ylmetylén.

21. Zlúčenina podľa nároku 20, kde R^5 je izopropylmetylén alebo terc-butylmetylén.

22. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 21, kde R^6 je atóm vodíka alebo prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina.

23. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 22, kde R^6 je atóm vodíka alebo nižší alkyl.

24. Zlúčenina podľa nároku 23, kde R^6 je atóm vodíka.

25. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 24, kde R^7 je prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina metylén, prípadne substituovaná nižšia cyklická skupina metylén alebo prípadne substituovaný monocyklický (aryl alebo heteroaryl) metylén.

26. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 25, kde R^7 je prípadne substituovaný nižší alkylmetylén, prípadne substituovaný nižší cykloalkylmetylén alebo prípadne substituovaný fenylmetylén.

27. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 26, kde R^7 je metylmetylén, izopropylmetylén, n-propylmetylén, fenylmetylén, cyklohexylmetylén, cyklopentylmetylén, terc-butylmetylén, s-butylmetylén, cyklohexylmetylmetylén alebo fenylmetylmetylén.

28. Zlúčenina podľa nároku 27, kde R^7 je izopropylmetylén, cyklohexylmetylén, cyklopentylmetylén, terc-butylmetylén alebo s-butylmetylén.

29. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 28, kde každý z R^3 , R^5 a R^7 je monosubstituovaný metylén.

30. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 29, kde R^3 je monosubstituovaný metylén a má (S) konfiguráciu na atóme uhlíka, viazanom ku skupine $-C(O)-R^0-C(O)-NR^1R^2$.

31. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 30, kde R^8 je atóm vodíka alebo prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina.

32. Zlúčenina podľa nároku 31, kde R^8 je atóm vodíka alebo nižší alkyl.

33. Zlúčenina podľa nároku 32, kde R^8 je atóm vodíka.

34. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 33, kde R^9 je prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina alebo prípadne substituovaná monocyklická aromatická skupina.

35. Zlúčenina podľa nároku 34, kde R^9 je prípadne substituovaný nižší alkyl alebo prípadne substituovaný monocyklický heteroaryl.

36. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 34, kde R^9 je prípadne (karboxy, (nižší alkyl)SO₂NH-, (nižší alkyl)HNCO-, hydroxy, fenylyl, heteroaryl alebo (nižší alkyl)OC(O)_nH-) substituovaný nižší alkyl alebo prípadne substituovaný monocyklický heteroaryl.

37. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 33, kde R^9 je nižší alkyl substituovaný skupinou (mono- alebo di-) MeOC(O)NH.

38. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 33, kde R^9 je (karboxy, (nižší alkyl)HNCO- alebo tetrazolyl) substituovaný nižší alkyl.

39. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 33, kde R^9 je 3-karboxypropyl, 2-tetrazol-5-ylpropyl, 3-(N-metylkarboxamido)propyl alebo 3-karboxy-2,2-dimetylpropyl.

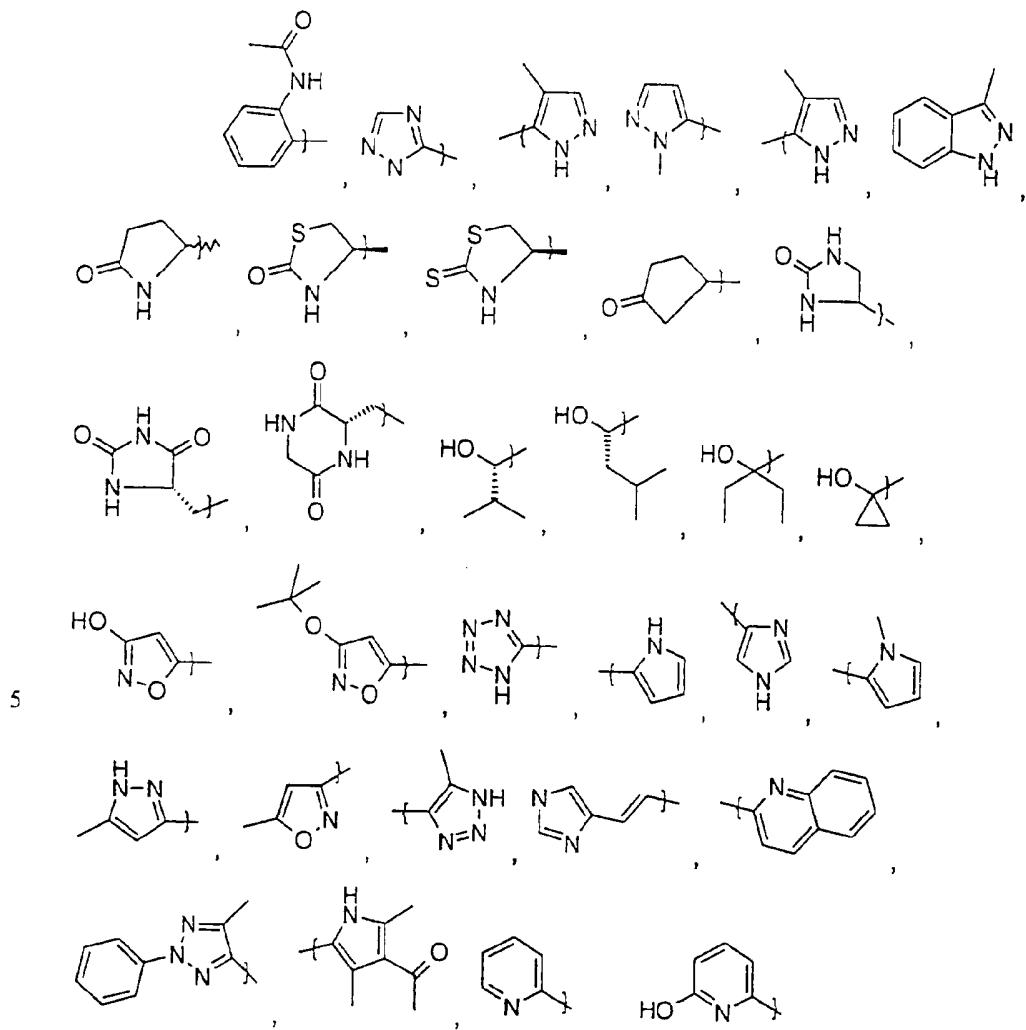
40. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 33, kde R^9 je 3-karboxypropyl, 2-tetrazol-5-ylpropyl alebo 3-(N-metylkarboxamido)propyl.

41. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 33, kde R^9 je prípadne substituovaný nižší alkyl.

42. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 33, kde R^9 je 1-hydroxy-2-fenyletyl, izopropyl alebo terc-butyl.

43. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 33, kde R^9 je izopropyl alebo terc-butyl.

44. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 33, kde R^9 je zvolený zo súboru, zahrňujúceho skupiny:



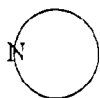
45. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 33, kde R^9 je pyrazinyl.

46. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 45, kde R^{10} je atóm vodíka alebo prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina.

47. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 46, kde R^{10} je atóm vodíka alebo nižší alkyl.

48. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 47, kde R^{10} je atóm vodíka.

49. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 48, kde

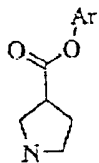


ako substituovaný monocyklický azaheterocyklyl je substituovaný pyrrolidinyľ.

50. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 48, kde

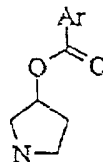


ako substituovaný monocyklický azaheterocyklyl je prípadne



substituovaný

alebo prípadne substituovaný



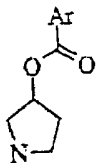
, kde Ar je

R^2 , ktorý obsahuje aromatickú skupinu.

51. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 48, kde

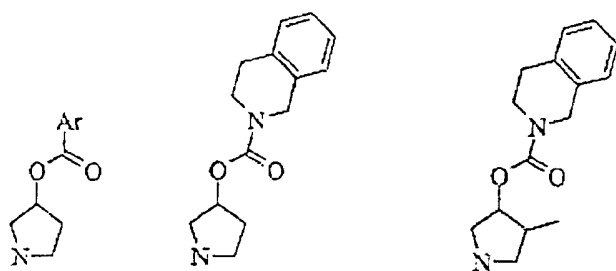


ako substituovaný monocyklický azaheterocyklyl je prípadne



substituovaný

52. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 48, kde



je

alebo

53. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 48, kde



ako prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl je prípadne

substituovaný



54. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 48, kde



ako prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl je prípadne

substituovaný



55. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 48, kde



ako prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl je prípadne

substituovaný



56. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 48, kde



ako prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl je prípadne

substituovaný

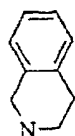


57. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 48, kde



ako prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl je prípadne

substituovaný



58. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 57, kde skupina

$-\text{C}(\text{O})-\text{N}(\text{R}^4)-\text{R}^3-\text{C}(\text{O})\text{R}^0\text{C}(\text{O})\text{NR}^2\text{R}^1$ viazaná k



je viazaná uhlíkom α

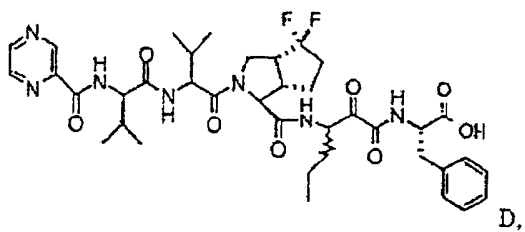
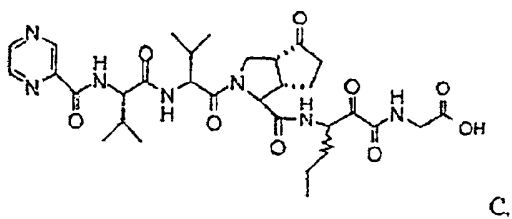
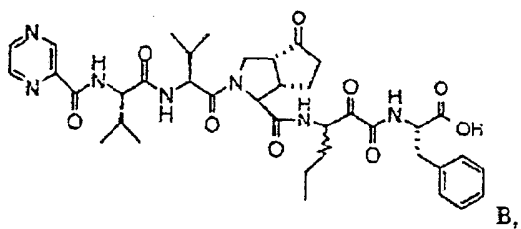
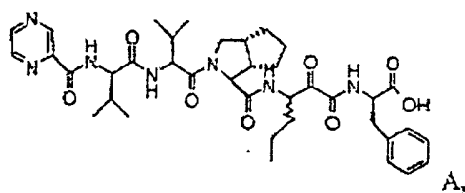
k atómu dusíka.

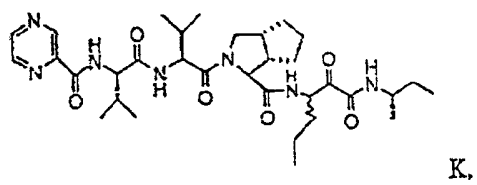
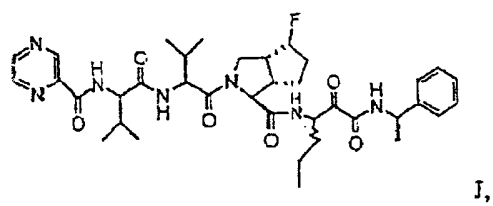
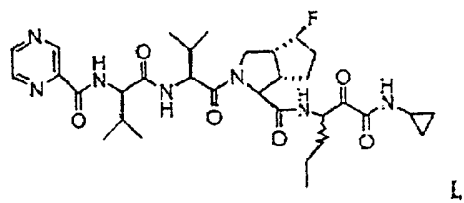
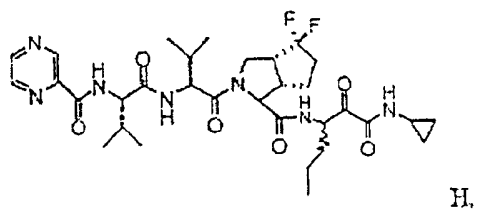
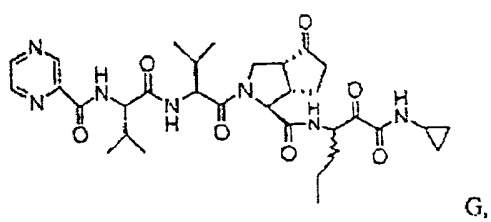
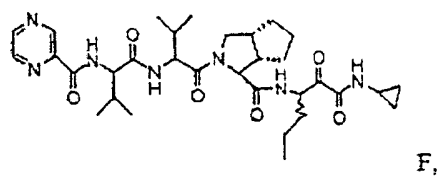
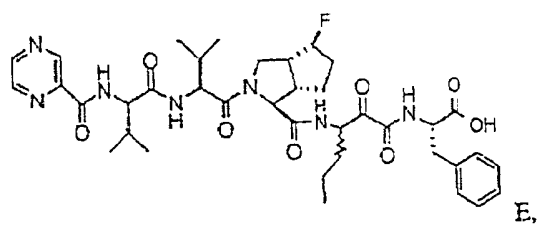
59. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 58, kde L je $-\text{C}(\text{O})-$ alebo $-\text{OC}(\text{O})-$.

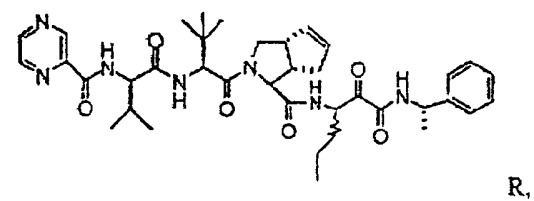
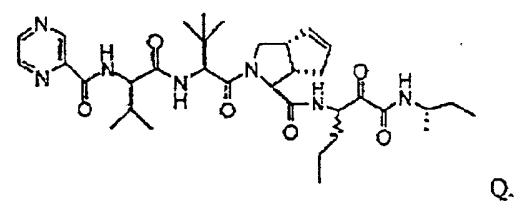
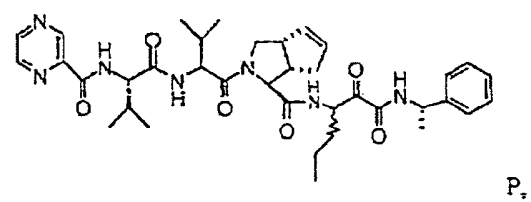
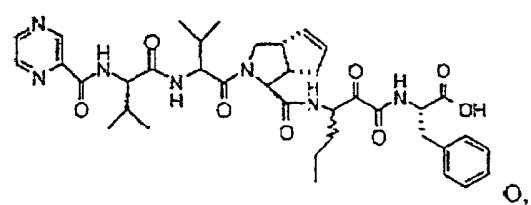
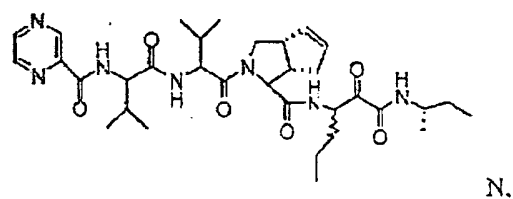
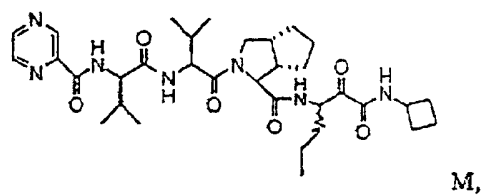
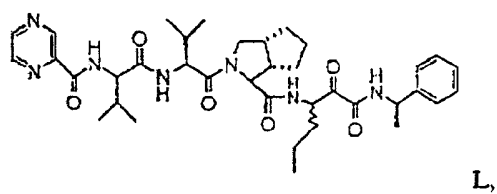
60. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 59, kde n je 0.

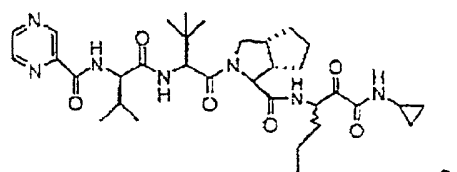
61. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 59, kde n je 1.

62. Zlúčenina podľa nároku 1 zvolená zo súboru, zahrňujúceho:

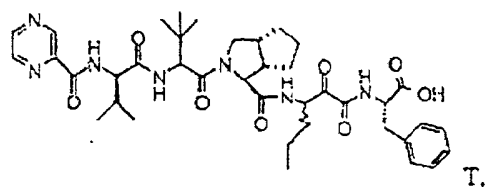




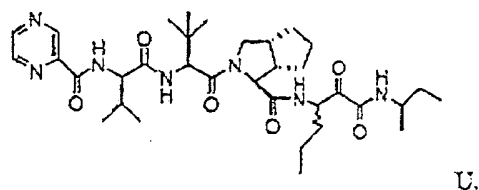




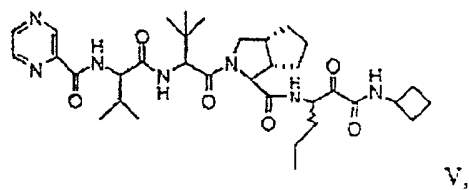
S,



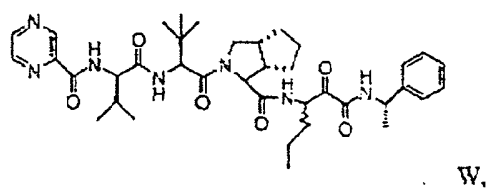
T,



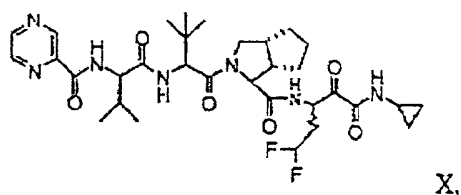
U,



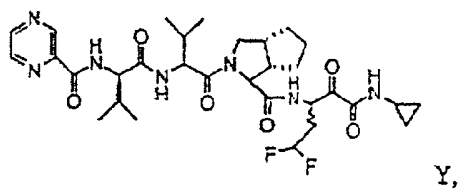
V,



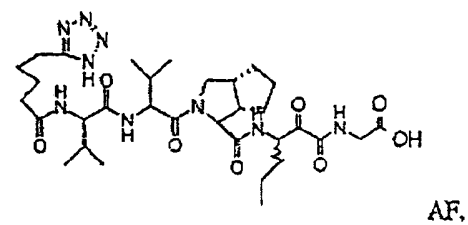
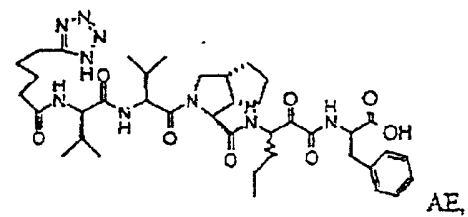
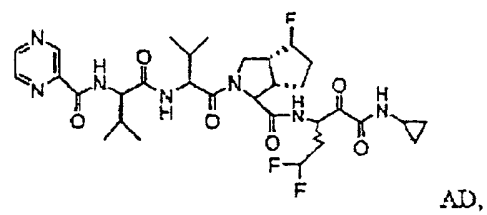
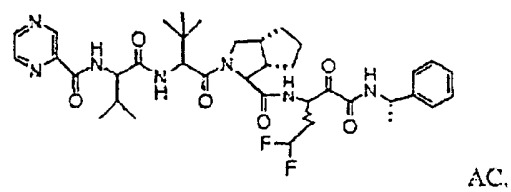
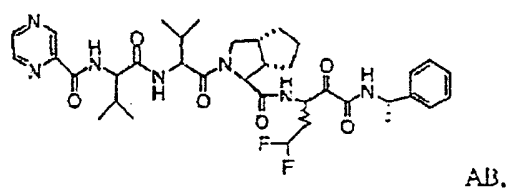
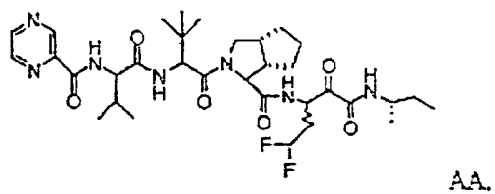
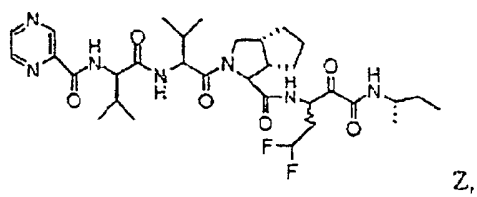
W,

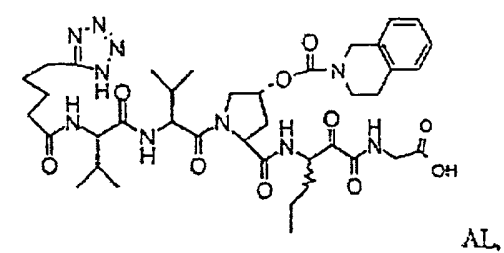
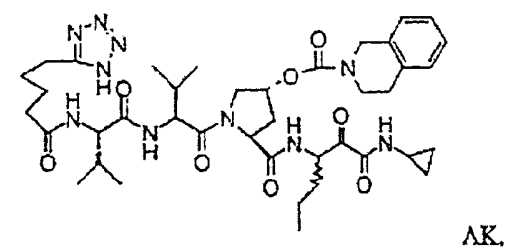
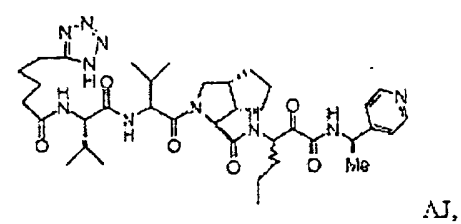
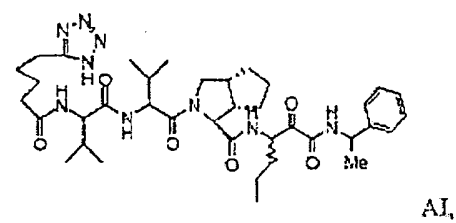
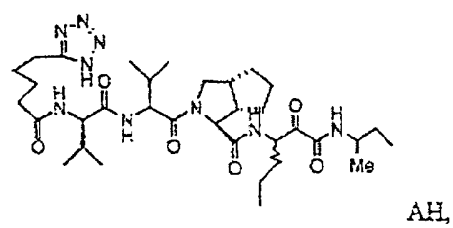
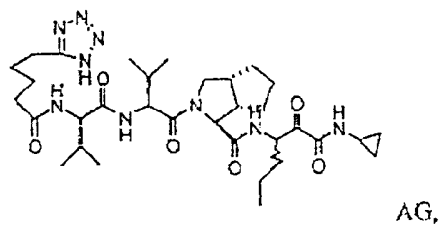


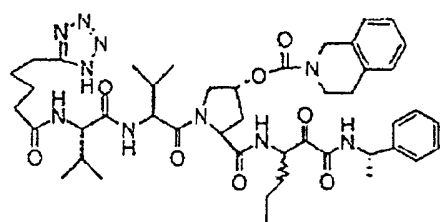
X,



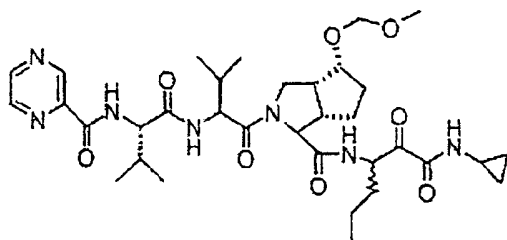
Y,



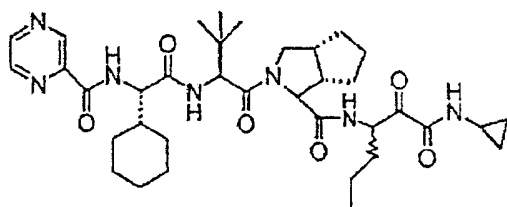




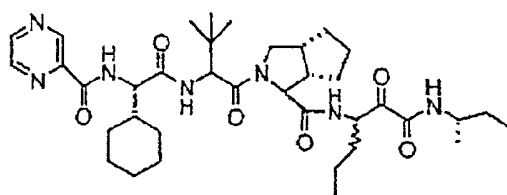
AM,



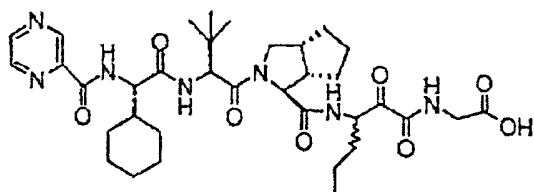
BV,



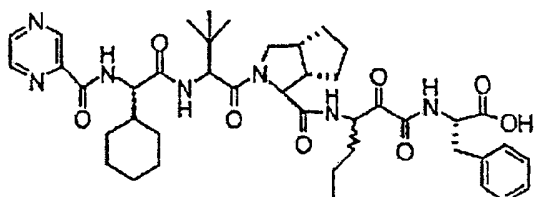
BW,



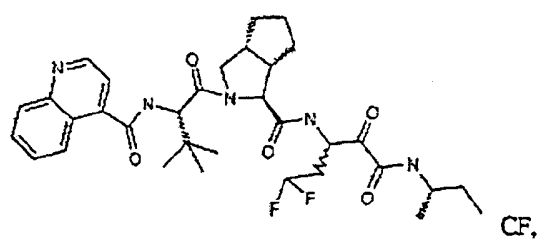
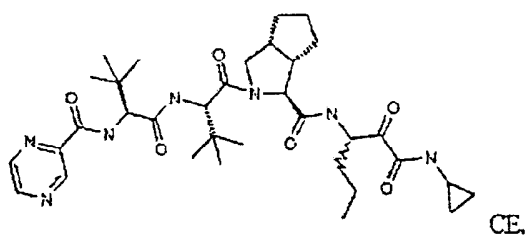
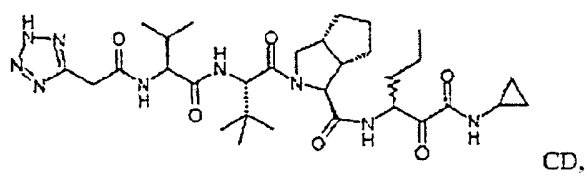
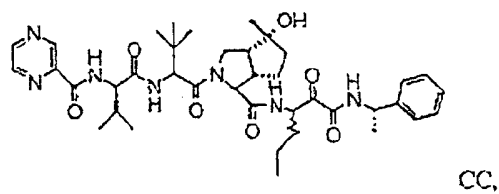
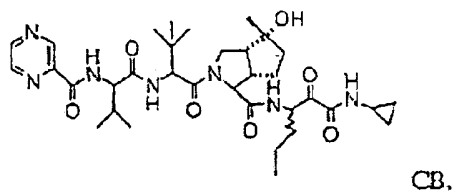
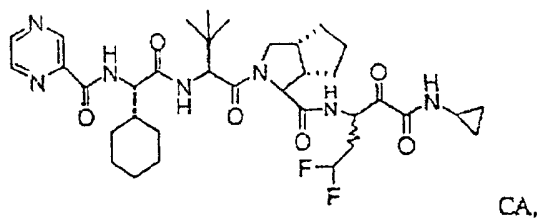
BX,

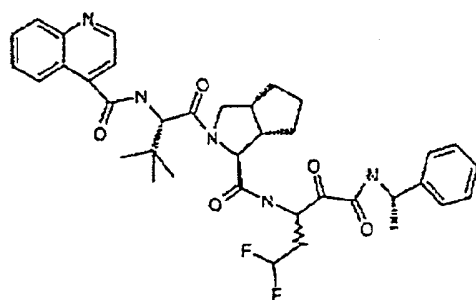


BY,

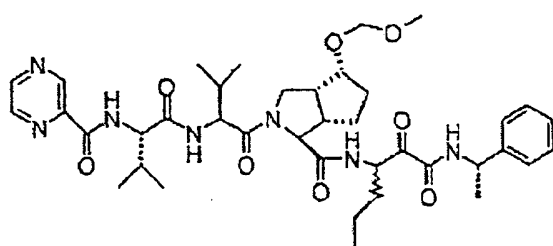


BZ,

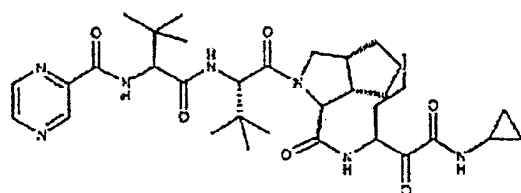




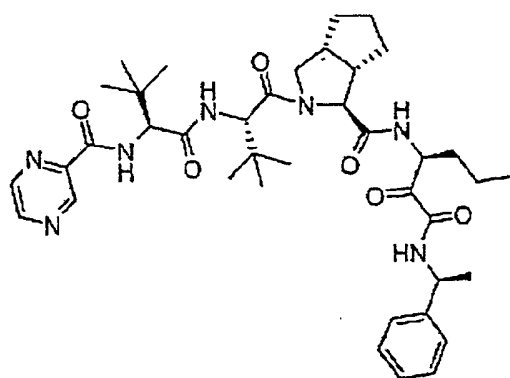
CG,



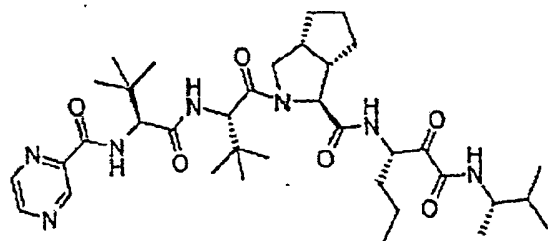
CH,



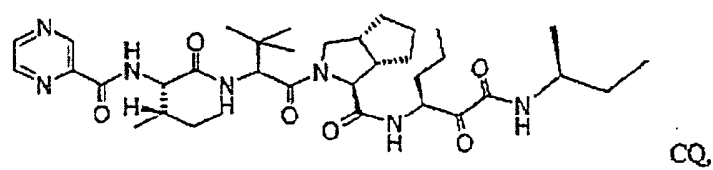
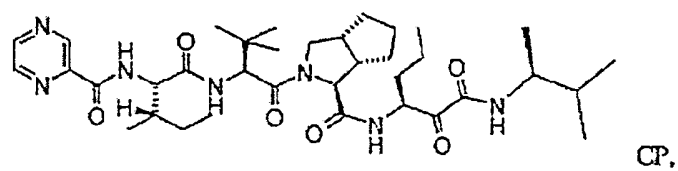
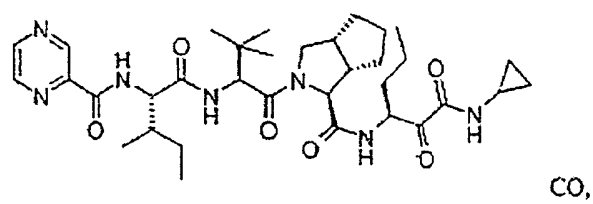
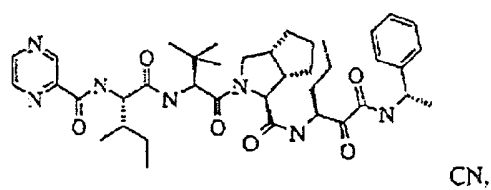
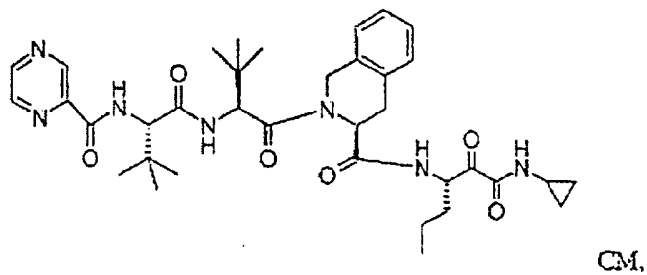
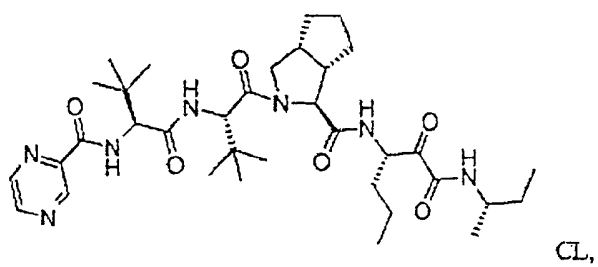
CI,

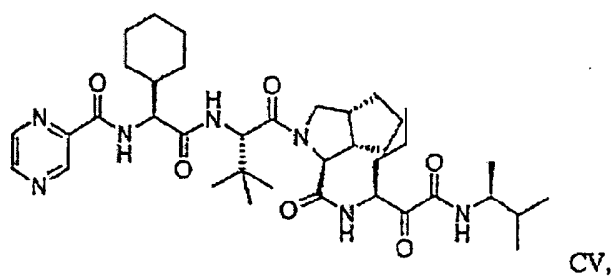
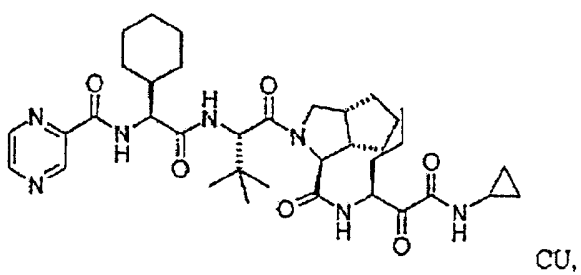
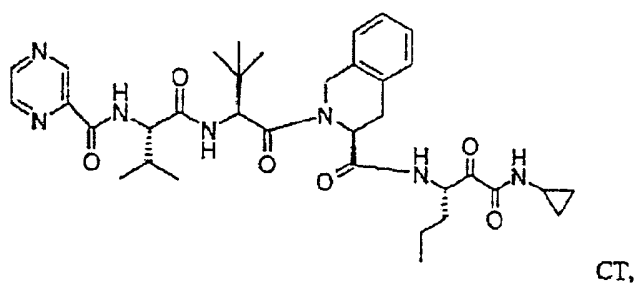
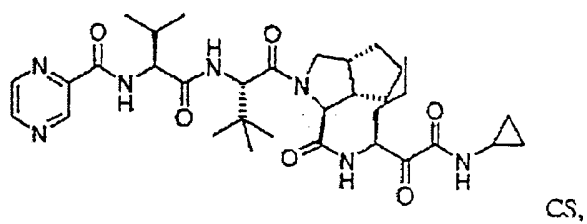
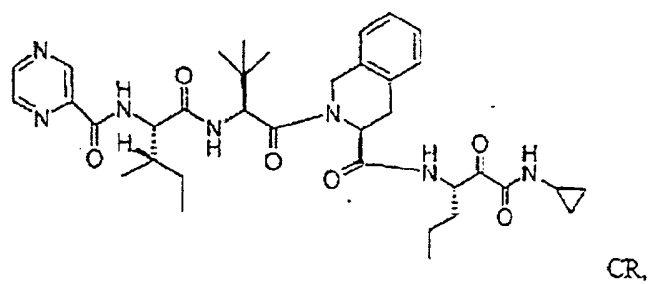


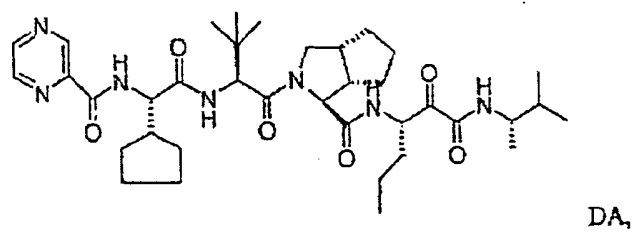
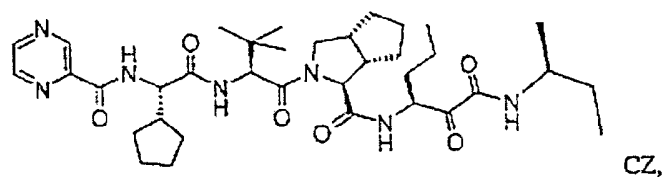
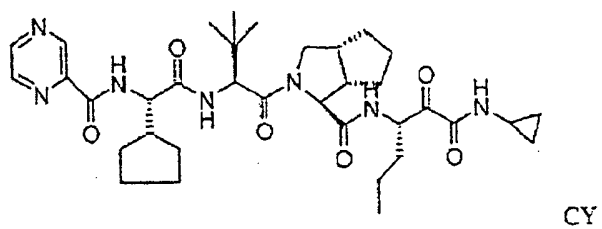
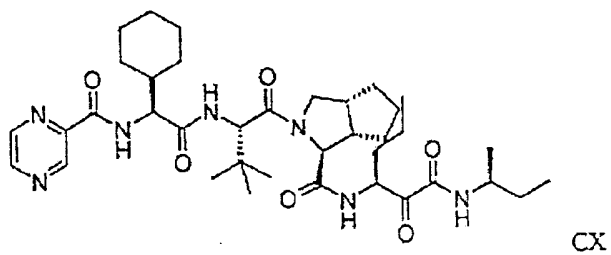
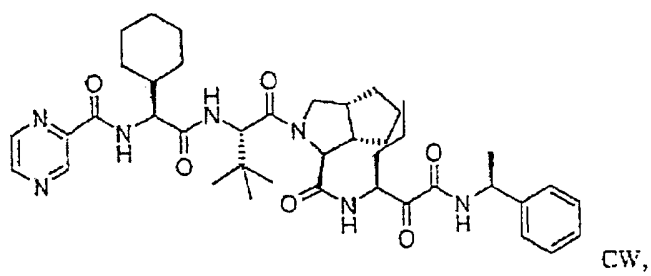
CJ,

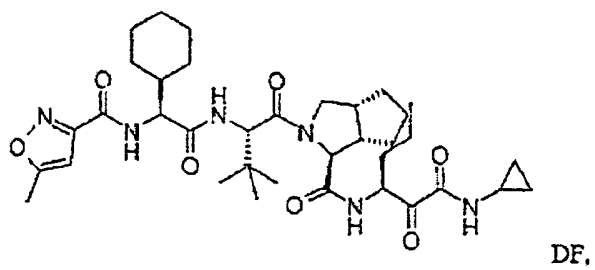
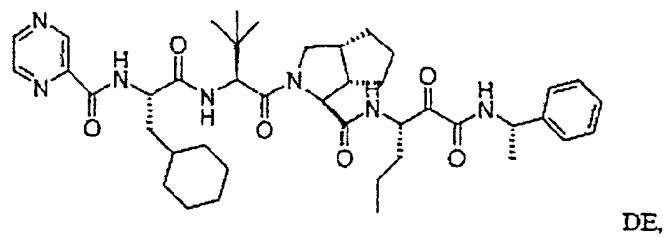
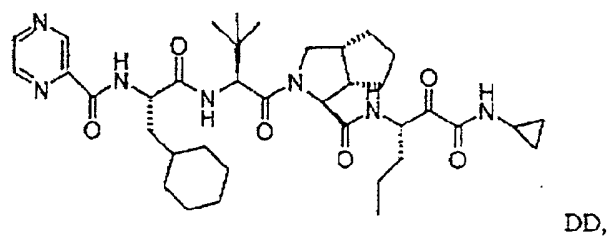
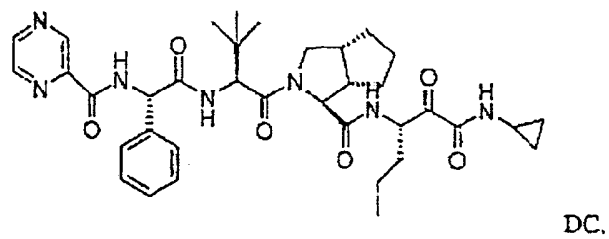
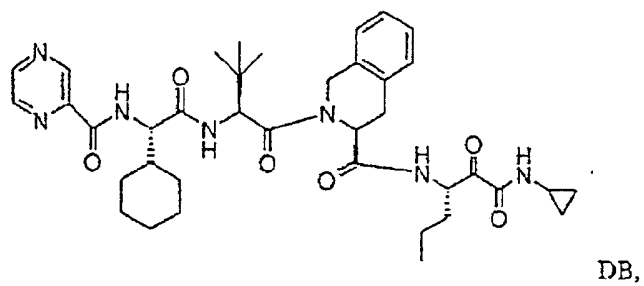


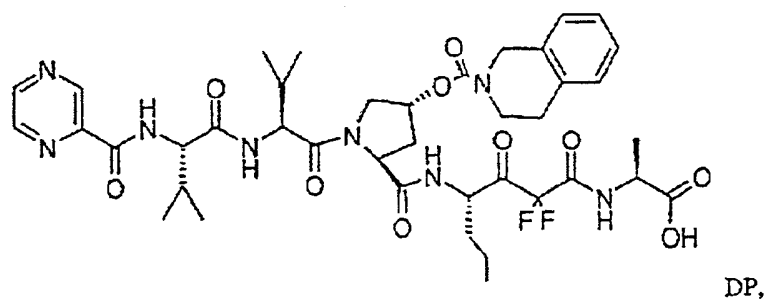
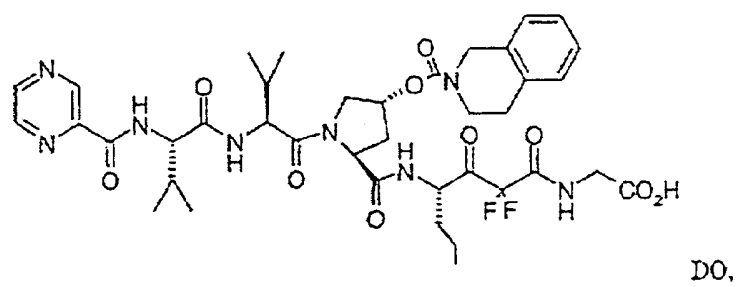
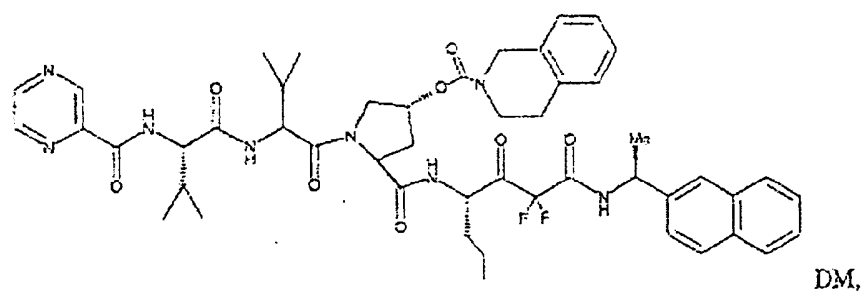
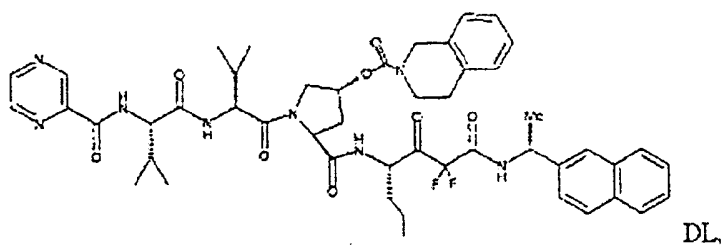
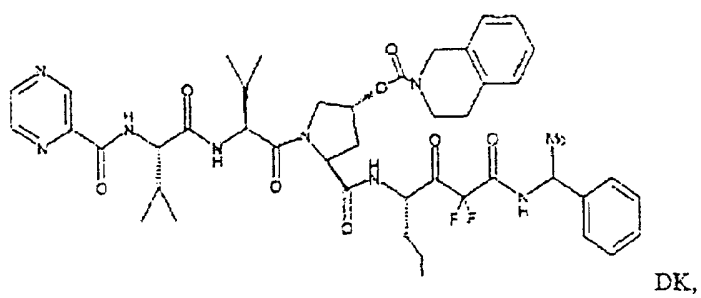
CK,

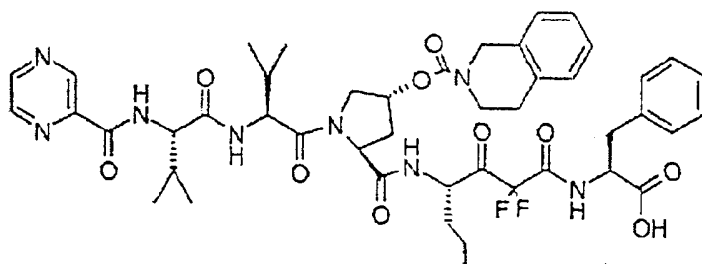




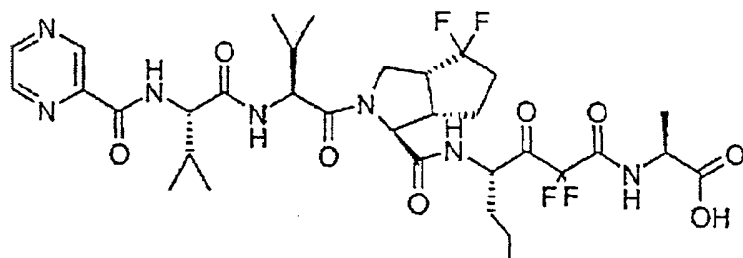




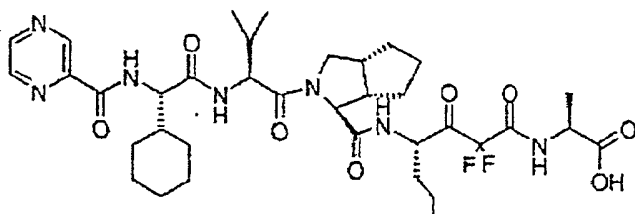




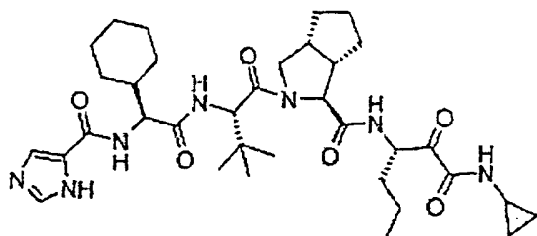
DQ,



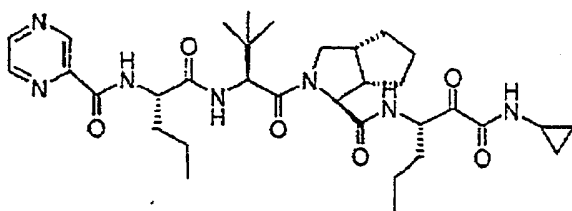
DR,



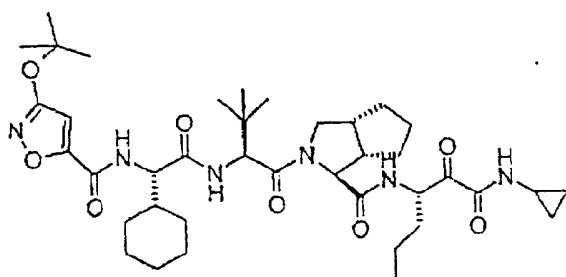
DS,



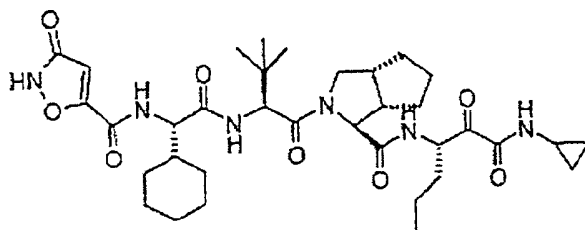
DT,



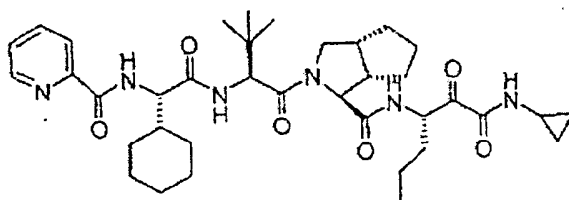
DU,



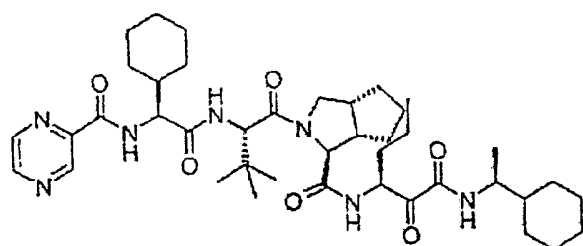
DV,



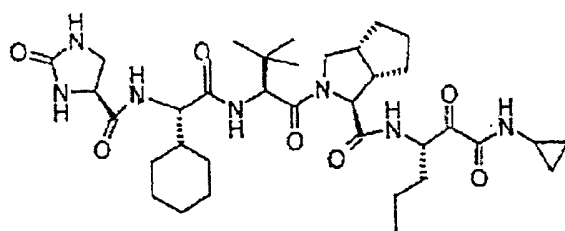
DW,



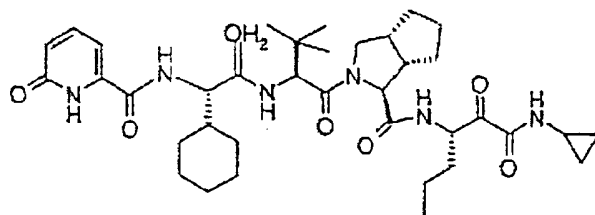
DX,



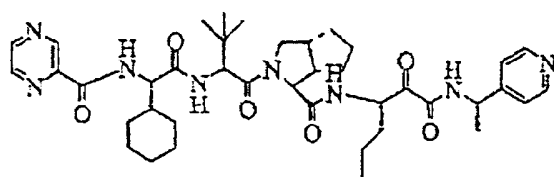
DY,



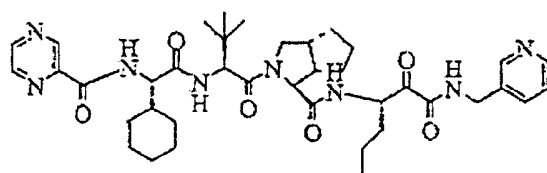
DZ,



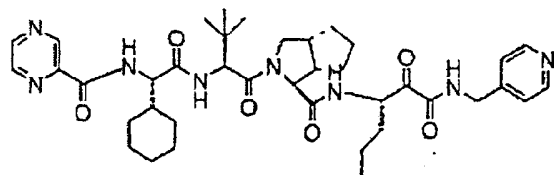
EA,



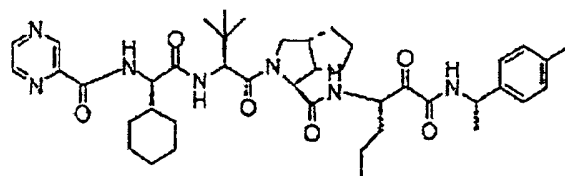
EJ,



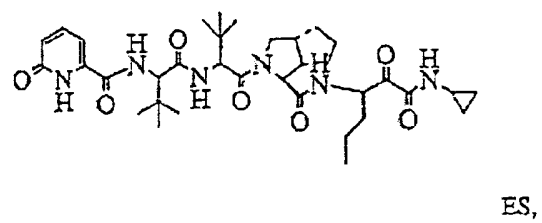
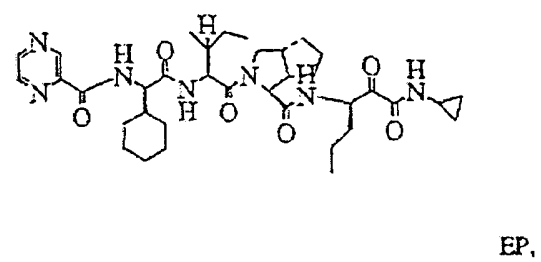
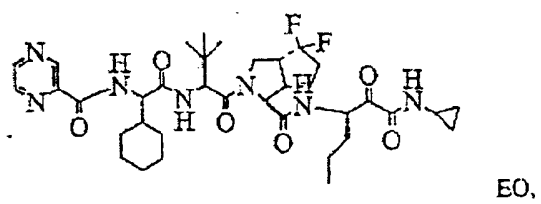
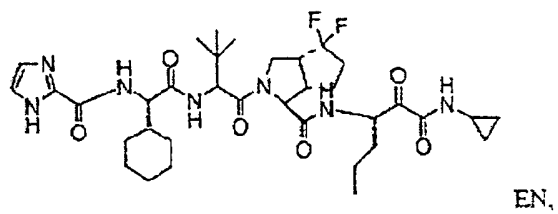
EK,

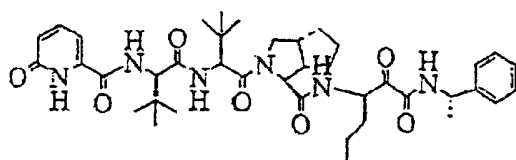


EL,

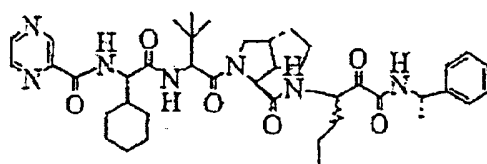


EM,

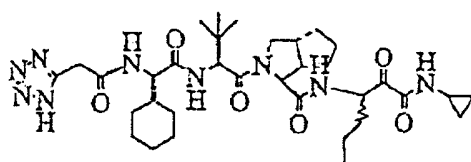




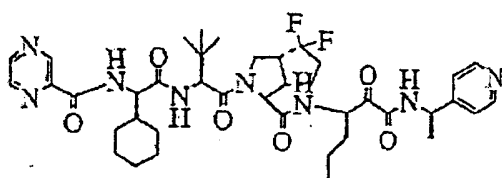
ET,



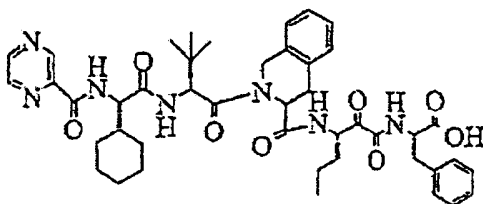
EU,



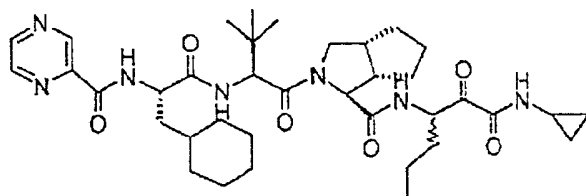
EV,



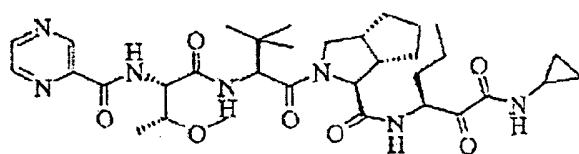
EZ



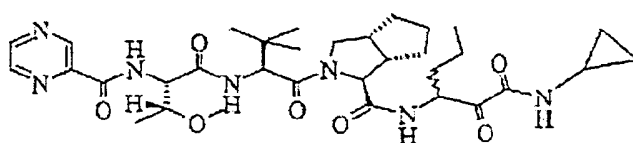
FA,



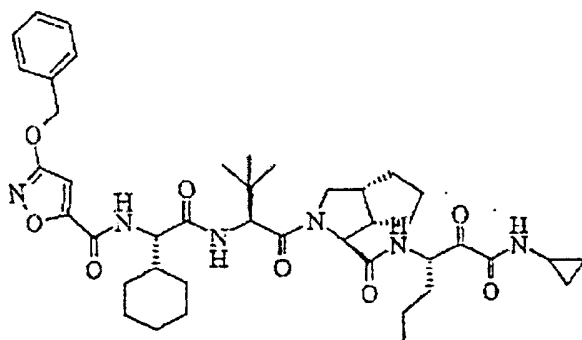
FB,



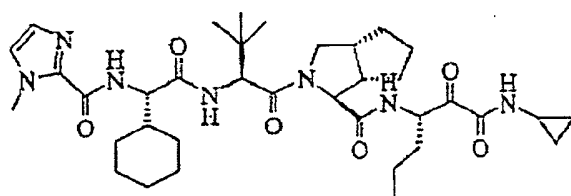
FC.



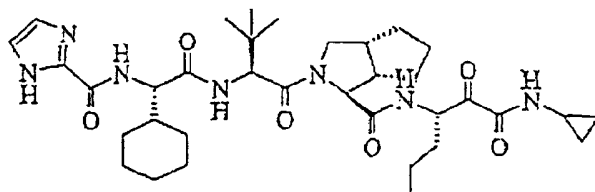
FD,



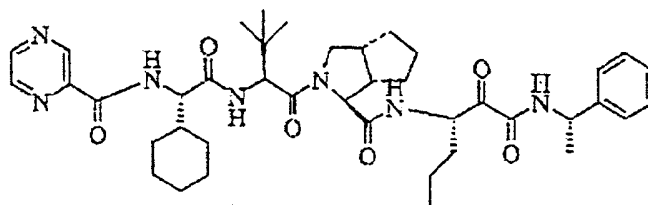
FE,



FF



FG, a



FH,

alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ alebo prekursor alebo solvát takej zlúčeniny, jej soli alebo jej prekursoru.

63. Farmaceutická kompozícia, **vyznačujúca sa tým**, že obsahuje farmaceuticky prijateľné množstvo zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z predchádzajúcich nárokov a farmaceuticky prijateľný nosič.

64. Spôsob inhibície HCV proteázy, **vyznačujúci sa tým**, že zahrňuje uvedenie proteázy do kontaktu so zlúčeninou podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 62.

65. Spôsob liečenia pacienta trpiaceho HCV infekciou alebo fyziologickými stavmi vzťahujúcimi sa k infekcii, **vyznačujúci sa tým**, že zahrňuje podávanie pacientovi farmaceuticky účinného množstva zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 62.

66. Spôsob liečenia pacienta trpiaceho HCV infekciou alebo fyziologickými stavmi vzťahujúcimi sa k infekcii, **vyznačujúci sa tým**, že zahŕňa podávanie pacientovi farmaceuticky účinného množstva zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 62 v kombinácii s farmaceuticky účinným množstvom ďalšej terapeutickkej látky s účinkom proti HCV.

67. Spôsob podľa nároku 66, **vyznačujúci sa tým**, že terapeutická látka s účinkom proti HCV je interferón alebo derivatizovaný interferón.

68. Farmaceutická kompozícia, **vyznačujúca sa tým**, že obsahuje inhibítor serínových proteáz vírusu hepatitídy C, interferón, ktorý má účinok proti vírusu hepatitídy C a farmaceuticky prijateľný nosič.

69. Farmaceutická kompozícia podľa nároku 68, **vyznačujúca sa tým**, že ďalej obsahuje zlúčeninu, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, kde uvedená zlúčenina je iná ako interferón.

70. Farmaceutická kompozícia, **vyznačujúca sa tým**, že obsahuje inhibítor serínových proteáz vírusu hepatitídy C, zlúčeninu, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C a farmaceuticky prijateľný nosič, kde uvedená zlúčenina je iná ako interferón.

71. Farmaceutická kompozícia podľa nároku 69, **vyznačujúca sa tým**, že uvedený inhibítor serínových proteáz vírusu hepatitídy C, uvedený interferón a uvedená zlúčenina, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, sú všetky prítomné v množstve zvolenom zo súboru, zahrňujúceho farmaceuticky účinné množstvo, subklinicky farmaceuticky účinné množstvo a ich kombinácie.

72. Farmaceutická kompozícia podľa nároku 71, **vyznačujúca sa tým**, že uvedený inhibítor serínových proteáz vírusu hepatitídy C je zlúčenina podľa ktoréhokolvek z nárokov 1 až 62; uvedený interferón sa zvolí zo súboru, zahrňujúceho interferón alfa 2B, pegylovaný interferón alfa, konsenzuálny interferón, interferón alfa 2A, lymfoblastoidový interferón a interferón tau; a uvedená zlúčenina, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C sa zvolí zo súboru, zahrňujúceho interleukín 2, interleukín 6, interleukín 12, zlúčeninu, ktorá zosilňuje vývoj odozvy helper T buniek typu 1, RNA s dvoma vláknami, RNA s dvoma vláknami komplexovaná s tobramycínom, Imiquimod, ribavirín, inhibítor inozín 5'-monofosfát dehydrogenázy, amantadín a rimantadín.

73. Spôsob liečenia alebo prevencie infekcie vírusom hepatitídy C u pacienta, ktorý má jeho potrebu, **vyznačujúci sa tým**, že zahrňuje podávanie uvedenému pacientovi farmaceuticky účinného množstva kombinácie inhibítora serínových proteáz vírusu hepatitídy C a interferónu s účinkom proti vírusu hepatitídy C.

74. Spôsob podľa nároku 73, **vyznačujúci sa tým**, že uvedené farmaceuticky účinné množstvo uvedenej kombinácie ďalej zahrňuje zlúčeninu, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, kde uvedená zlúčenina je iná ako interferón.

75. Spôsob liečenia alebo prevencie infekcie vírusom hepatitídy C u pacienta, ktorý má jeho potrebu, **vyznačujúci sa tým**, že zahrňuje podávanie uvedenému pacientovi farmaceuticky účinného množstva kombinácie inhibítora serínových proteáz vírusu hepatitídy C a zlúčeniny, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, kde uvedená zlúčenina je iná ako interferón.

76. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 74, **vyznačujúci sa tým**, že uvedený inhibítor serínových proteáz vírusu hepatitídy C, uvedený interferón a uvedená zlúčenina, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, sú všetky prítomné v množstve zvolenom zo súboru, zahrňujúceho farmaceuticky účinné množstvo, subklinicky farmaceuticky účinné množstvo a ich kombinácie.

77. Spôsob podľa nároku 76, **vyznačujúci sa tým**, že uvedený inhibítor serínových proteáz vírusu hepatitídy C je zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 62; uvedený interferón je zvolený zo súboru, zahrňujúceho interferón alfa 2B, pegylovaný interferón alfa, konsenzuálny interferón, interferón alfa 2A, lymfoblastoidový interferón a interferón tau; a uvedená zlúčenina, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, je zvolená zo súboru, zahrňujúceho interleukín 2, interleukín 6, interleukín 12, zlúčeninu, ktorá zosilňuje vývoj odozvy helper T buniek typu 1, RNA s dvoma vláknami, RNA s dvoma vláknami komplexovaná s tobramycínom, Imiquimod, ribavirín, inhibítor inozín 5'-monofosfát dehydrogenázy, amantadín a rimantadín.

78. Použitie inhibítora serínových proteáz vírusu hepatitídy C v kombinácii s interferónom, ktorý má účinok proti vírusu hepatitídy C, na prípravu liečiva na liečenie alebo prevenciu infekcie vírusom hepatitídy C u pacienta, ktorý má jeho potrebu.

79. Použitie inhibítora serínových proteáz vírusu hepatitídy C v kombinácii so zlúčeninou, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, na prípravu liečiva na liečenie alebo prevenciu infekcie vírusom hepatitídy C u pacienta, ktorý má jeho potrebu, kde uvedená zlúčenina je iná ako interferón.

80. Použitie inhibítora serínových proteáz vírusu hepatitídy C v kombinácii s interferónom, ktorý má účinok proti vírusu hepatitídy C a zlúčeninou, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, na prípravu liečiva na liečenie alebo prevenciu infekcie vírusom hepatitídy C u pacienta, ktorý má jeho potrebu, kde uvedená zlúčenina je iná ako interferón.

81. Použitie podľa nároku 80, kde uvedený inhibítor serínových proteáz vírusu hepatitídy C, uvedený interferón a uvedená zlúčenina, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, sú všetky prítomné v uvedenom liečive v množstve zvolenom zo súboru, zahrňujúceho farmaceuticky účinné množstvo, subklinicky farmaceuticky účinné množstvo a ich kombinácie.

82. Použitie podľa nároku 81, kde uvedený inhibítor serínových proteáz vírusu hepatitídy C je zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 62; uvedený interferón je zvolený zo súboru, zahrňujúceho interferón alfa 2B, pegylovaný interferón alfa, konsenzuálny interferón, interferón alfa 2A, lymfoblastoidový interferón a interferón tau; a uvedená zlúčenina, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C je zvolená zo súboru, zahrňujúceho interleukín 2, interleukín 6, interleukín 12, zlúčeninu, ktorá zosilňuje vývoj odozvy helper T buniek typu 1, RNA s dvoma vláknami, RNA s dvoma vláknami komplexovanú s tobramycínom, Imiquimod, ribavirín, inhibítor inozín 5'-monofosfát dehydrogenázy, amantadín a rimantadín.

83. Súprava alebo farmaceutické balenie, **vyznačujúce sa tým**, že zahrňuje aspoň dve oddelené nádoby, kde aspoň jedna z uvedených nádobiek obsahuje inhibítor serínových proteáz vírusu hepatitídy C a aspoň jedna ďalšia uvedená nádoba obsahuje interferón, ktorý má účinok proti vírusu hepatitídy C.

84. Súprava alebo farmaceutické balenie, **vyznačujúce sa tým**, že zahrňuje aspoň dve oddelené nádoby, kde aspoň jedna z uvedených nádobiek obsahuje inhibítor serínových proteáz vírusu hepatitídy C a aspoň jedna ďalšia uvedená nádobka obsahuje zlúčeninu, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, kde uvedená zlúčenina je iná ako interferón.

85. Súprava alebo farmaceutické balenie, **vyznačujúce sa tým**, že zahrňuje aspoň dve oddelené nádoby, kde aspoň jedna z uvedených nádobiek obsahuje inhibítor serínových proteáz vírusu hepatitídy C, aspoň jedna ďalšia uvedená nádobka obsahuje interferón, ktorý má účinok proti vírusu hepatitídy C a aspoň jedna ďalšia uvedená nádobka obsahuje zlúčeninu, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, kde uvedená zlúčenina je iná ako interferón.

86. Súprava alebo farmaceutické balenie podľa nároku 85, **vyznačujúce sa tým**, že uvedený inhibítor serínových proteáz vírusu hepatitídy C, uvedený interferón a uvedená zlúčenina, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, sú všetky prítomné v množstve zvolenom zo súboru, zahrňujúceho farmaceuticky účinné množstvo, subklinicky farmaceuticky účinné množstvo a ich kombinácie.

87. Súprava alebo farmaceutické balenie podľa nároku 86, **vyznačujúce sa tým**, že uvedený inhibítor serínových proteáz vírusu hepatitídy C je zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 62; uvedený interferón je zvolený zo súboru, zahrňujúceho interferón alfa 2B, pegylovaný interferón alfa, konsenzuálny interferón, interferón alfa 2A, lymfoblastoidový interferón a interferón tau; a uvedená zlúčenina, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C sa zvolí zo súboru, zahrňujúceho interleukín 2, interleukín 6, interleukín 12, zlúčeninu, ktorá zosilňuje vývoj odozvy helper T buniek typu 1, RNA s dvoma vláknami, RNA s dvoma vláknami komplexovaná s tobramycínom Imiquimod, ribavirín, inhibítor inozín 5'-monofosfát dehydrogenázy, amantadín a

rimantadín.

88. Spôsob inhibície replikácie vírusu hepatitídy C v bunke, **vyznačujúci sa tým**, že zahrňuje dosiahnutie kontaktu uvedenej bunky, inhibítora serínových proteáz vírusu hepatitídy C a interferónu, ktorý má účinok proti vírusu hepatitídy C.

89. Spôsob podľa nároku 88, **vyznačujúci sa tým**, že ďalej zahrňuje dosiahnutie kontaktu uvedenej bunky a zlúčeniny, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, kde uvedená zlúčenina je iná ako interferón.

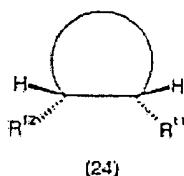
90. Spôsob inhibície replikácie vírusu hepatitídy C v bunke, **vyznačujúci sa tým**, že zahrňuje dosiahnutie kontaktu uvedenej bunky, inhibítora serínových proteáz vírusu hepatitídy C a zlúčeniny, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, kde uvedená zlúčenina je iná ako interferón.

91. Spôsob podľa nároku 88, **vyznačujúci sa tým**, že uvedený inhibitor serínových proteáz vírusu hepatitídy C, uvedený interferón a uvedená zlúčenina, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C, sú všetky prítomné v množstve zvolenom zo súboru, zahrňujúceho farmaceuticky účinné množstvo, subklinicky farmaceuticky účinné množstvo a ich kombinácie.

92. Spôsob podľa nároku 91, **vyznačujúci sa tým**, že uvedený inhibitor serínových proteáz vírusu hepatitídy C je zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 62; uvedený interferón je zvolený zo súboru, zahrňujúceho interferón alfa 2B, pegylovaný interferón alfa, konsenzuálny interferón, interferón alfa 2A, lymfoblastoidový interferón a interferón tau; a uvedená zlúčenina, ktorá má účinok proti vírusu hepatitídy C je zvolená zo súboru, zahrňujúceho interleukín 2, interleukín 6, interleukín 12, zlúčeninu, ktorá

zosilňuje vývoj odozvy helper T buniek typu 1, RNA s dvoma vláknami, RNA s dvoma vláknami komplexovanú s tobramycínom, Imiquimod, ribavirín, inhibítor inozín 5'-monofosfát dehydrogenázy, amantadín a rimantadín.

93. Zlúčenina všeobecného vzorca 24:



kde



je prípadne substituovaný cykloalkyl alebo prípadne substituovaný kondenzovaný arylcykloalkyl;

R^{11} je $-\text{CO}_2R^{13}$;

R^{12} je adukt imínového glycinimidového derivátu; a

R^{13} je ochranná skupina kyseliny alebo prípadne substituovaná alifatická skupina.

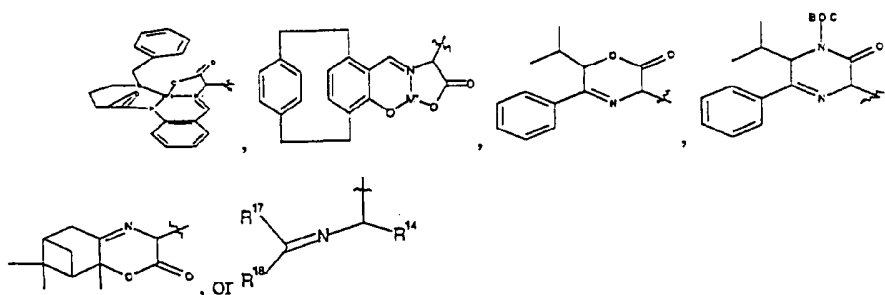
94. Zlúčenina podľa nároku 93, kde:

prípadne substituovaný cykloalkyl znamená nearomatický mono- alebo multicyklický systém kruhov s 3 až 10 atómami uhlíka prípadne substituovaný jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

prípadne substituovaný kondenzovaný arylcykloalkyl znamená kondenzovaný arylcykloalkyl prípadne substituovaný jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

prípadne substituovaná alifatická skupina je alkyl, alkenyl alebo alkynyl
prípadne substituované substituentom alifatickej skupiny;

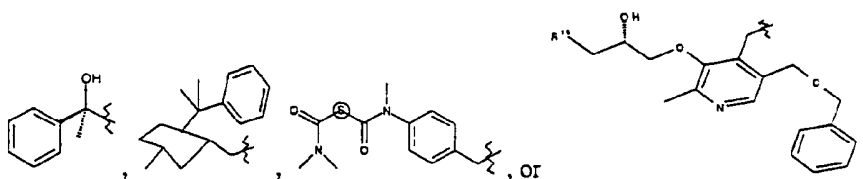
adukt imínového glycínimidového derivátu je zlúčenina zvolená zo
súboru, zahrňujúceho:



kde:

R^{16} je ochranná skupina kyseliny, prípadne substituovaný aryl alebo
prípadne substituovaná alifatická skupina;

R^{17} je prípadne substituovaný aryl, prípadne substituovaná alifatická skupina;



R^{18} je atóm vodíka, skupiny alkyl alebo alkyltio; alebo prípadne substituovaný
aryl;

kde

substituenty skupiny kruhov znamenajú substituenty viazané
k aromatickému alebo nearomatickému systému kruhov vrátane skupín aryl,

heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, kde Y^1 , Y^2 a Y^3 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl, alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl alebo pokiaľ systém kruhov je nasýtený alebo čiastočne nasýtený, substituenty skupiny kruhov ďalej zahrňujú metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$) a tioxo ($S=$); a substituenty alifatických skupín znamenajú aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxy-

karbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$), tioxo ($S=$), Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$, $Y^1Y^2NSO_2-$ alebo $Y^3SO_2NY^1-$, kde R^2 je ako tu bolo definované, Y^1 a Y^2 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl a Y^3 je alkyl, cykloalkyl aryl alebo heteroaryl, alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl; a aryl znamená aromatický monocyklický alebo multicyklický systém kruhov obsahujúci 6 až 14 atómov uhlíka.

95. Zlúčenina podľa nárokov 93 alebo 94, kde R^{11} je $-CO_2R^{13}$.

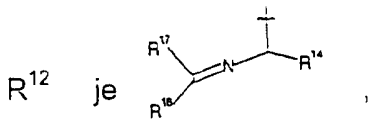
96. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 93 až 95, kde R^{13} je prípadne substituovaná alifatická skupina.

97. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 93 až 96, kde R^{13} je alkylová skupina.

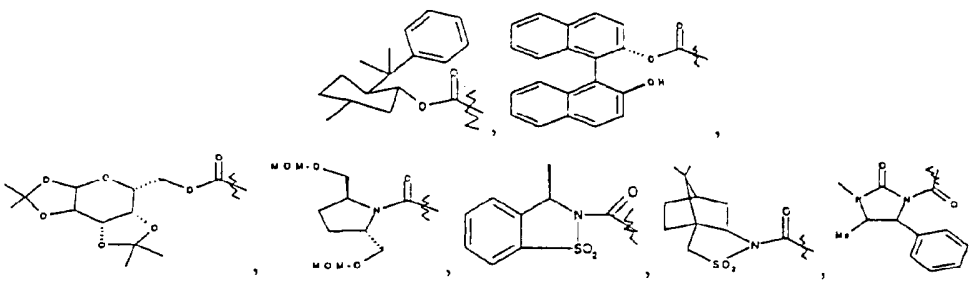
98. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 93 až 97, kde R^{13} je nižší alkyl.

99. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 93 až 98, kde R^{13} je metyl.

100. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 93 až 99, kde



kde

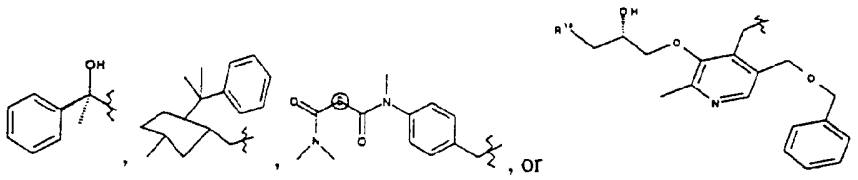
$$R^{14} \quad \text{je } -CONR^{15}R^{15}, -CN;$$


alebo $-\text{CO}_2\text{R}^{16}$;

R¹⁵ je prípadne substituovaná alifatická skupina;

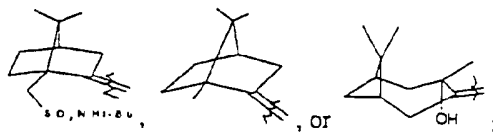
R¹⁶ je ochranná skupina kyseliny, prípadne substituovaný aryl alebo prípadne substituovaná alifatická skupina;

R¹⁷ je prípadne substituovaný aryl, prípadne substituovaná alifatická skupina,



R¹⁸ je atóm vodíka, skupiny alkyl alebo alkyltio; alebo prípadne substituovaný aryl;

R¹⁷ a R¹⁸ spoločne s atómom uhlíka, ku ktorému R¹⁷ a R¹³ sú viazané



a

Ⓢ je pevná fáza.

101. Zlúčenina podľa nároku 100, kde R^{14} je $-\text{CO}_2R^{16}$.

102. Zlúčenina podľa nároku 100 alebo 101, kde R^{16} je prípadne substituovaná alifatická skupina.

103. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 100 až 102, kde R^{16} je alkyl.

104. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 100 až 103, kde R^{16} je nižší alkyl.

105. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 100 až 104, kde R^{16} je t-Bu.

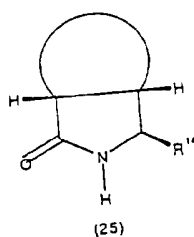
106. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 100 až 105, kde R^{17} je prípadne substituovaný aryl.

107. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 100 až 106, kde R^{17} je fenyl.

108. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 100 až 107, kde R^{18} je prípadne substituovaný aryl.

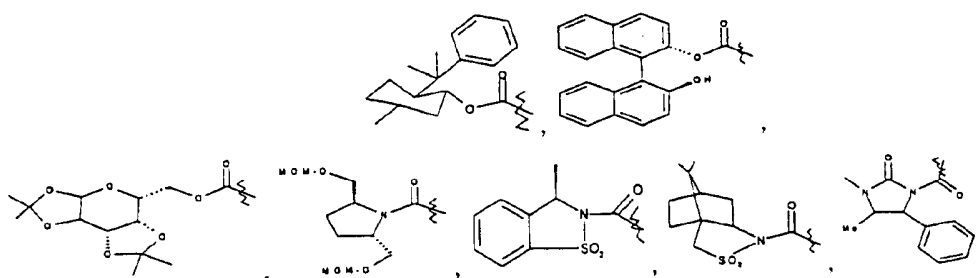
109. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 100 až 108, kde R^{18} je fenyl.

110. Zlúčenina všeobecného vzorca 25



kde:

R^{14} je $-\text{CONR}^{15}\text{R}^{15}$, $-\text{CN}$;



alebo $-\text{CO}_2\text{R}^{16}$;

R^{15} je prípadne substituovaná alifatická skupina; a

R^{16} je ochranná skupina kyseliny, prípadne substituovaný aryl alebo prípadne substituovaná alifatická skupina.

111. Zlúčenina podľa nároku 110, kde:

prípadne substituované alifatické skupiny sú alkyl, alkenyl alebo alkynyl, prípadne substituované jedným alebo viacerými substituentmi alifatických skupín;

prípadne substituovaný aryl znamená aromatický monocyklický alebo multicyklický systém kruhov so 6 až 14 atómami uhlíka prípadne substituovaný jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

kde substituenty skupiny kruhov znamenajú substituenty viazané k aromatickým alebo nearomatickým systémom kruhov vrátane skupín aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-\text{C}(\text{O})-\text{NHOH}$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{SH}$, $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CN}$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, arylidazo, heteroaryldiazo, tiol, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{N}-$, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NC}(\text{O})-$, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NC}(\text{O})\text{O}-$, $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NC}(\text{O})\text{NY}^3-$ alebo $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{NSO}_2-$, kde Y^1 , Y^2 a Y^3 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl alebo pokiaľ substituent je $\text{Y}^1\text{Y}^2\text{N}-$, potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl,

aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl alebo pokiaľ systém kruhov je nasýtený alebo čiastočne nasýtený, "substituenty skupiny kruhov" ďalej zahŕňujú metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$) a tioxo ($S=$); a

substituenty alifatických skupín znamenajú skupiny aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxycarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$), tioxo ($S=$); Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$, $Y^1Y^2NSO_2-$ alebo $Y^3SO_2NY^1-$, kde R^2 je ako tu bolo definované, Y^1 a Y^2 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl, a Y^3 je alkyl, cykloalkyl aryl alebo heteroaryl, alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl.

112. Zlúčenina podľa nárokov 110 alebo 111, kde R^{14} je $-\text{CO}_2R^{16}$.

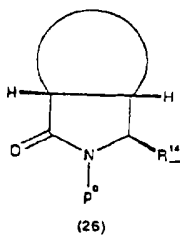
113. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 110 až 112, kde R^{16} je prípadne substituovaná alifatická skupina.

114. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 110 až 113, kde R^{16} je alkyl.

115. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 110 až 114, kde R^{16} je nižší alkyl.

116. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 110 až 115, kde R^{16} je t-Bu.

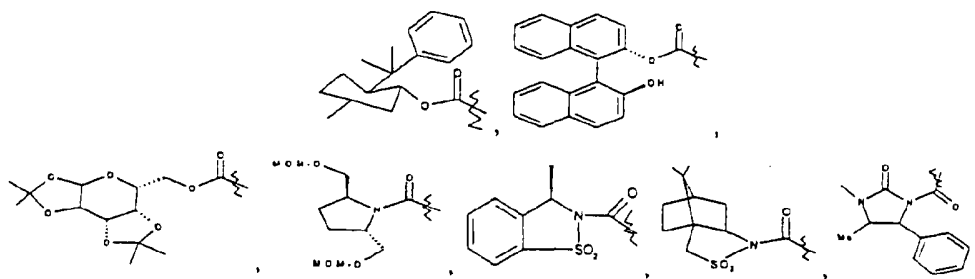
117. Zlúčenina všeobecného vzorca 26



kde:

p^0 je ochranná skupina amidu;

R^{14} je $-\text{CONR}^{15}R^{15}$, $-\text{CN}$;



alebo $-\text{CO}_2\text{R}^{16}$;

R^{15} je prípadne substituovaná alifatická skupina; a

R^{16} je ochranná skupina kyseliny, prípadne substituovaný aryl alebo prípadne substituovaná alifatická skupina.

118. Zlúčenina podľa nároku 117, kde

prípadne substituované alifatické skupiny sú alkyl, alkenyl alebo alkynyl, prípadne substituované jedným alebo viacerými substituentmi alifatických skupín;

prípadne substituovaný aryl znamená aromatický monocyklický alebo multicyklický systém kruhov so 5 až 14 atómami uhlíka prípadne substituovaný jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

kde substituenty skupiny kruhov znamenajú substituenty viazané k aromatickému alebo nearomatickému systému kruhov vrátane skupín aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-\text{C}(\text{O})-\text{NHOH}$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2\text{SH}$, $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CN}$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxycarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-

oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, kde Y^1 , Y^2 a Y^3 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl alebo pokiaľ systém kruhov je nasýtený alebo čiastočne nasýtený, "substituenty skupiny kruhov" ďalej zahŕňujú metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$) a tioxo ($S=$); a

substituenty alifatických skupín znamenajú skupiny aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$), tioxo ($S=$), Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$, $Y^1Y^2NSO_2-$ alebo $Y^3SO_2NY^1-$, kde R^2 je ako tu bolo definované, Y^1 a Y^2 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl, a Y^3 je alkyl, cykloalkyl aryl alebo

heteroaryl, alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl.

119. Zlúčenina podľa nároku 117 alebo 118, kde R^{14} je $-CO_2R^{16}$.

120. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 117 až 119, kde R^{16} je prípadne substituovaná alifatická skupina.

121. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 117 až 120, kde R^{16} je alkyl.

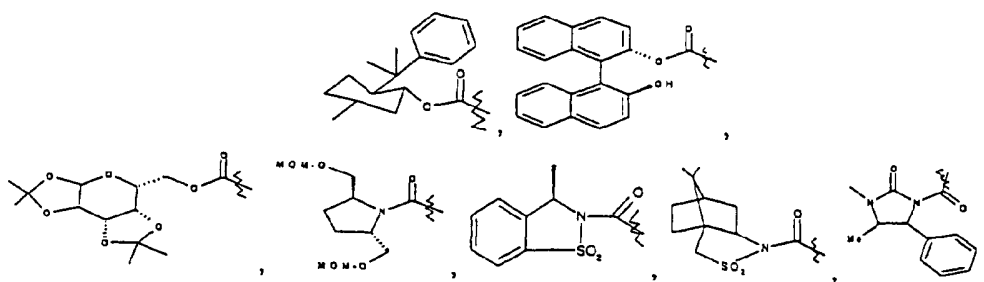
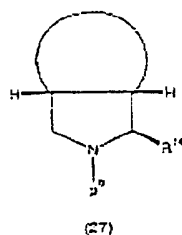
122. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 117 až 121, kde R^{16} je nižší alkyl.

123. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 117 až 122, kde R^{16} je t-Bu.

124. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 117 až 123, kde p^0 je zvolený zo súboru, zahrňujúceho BOC, CBz a $-CO_2$ alkyl.

125. Zlúčenina podľa nároku 124, kde p^0 je BOC.

kde:

$$R^{14} \text{ je } -\text{CONR}^{15}\text{R}^{15}, -\text{CN};$$


R¹⁵ je prípadne substituovaná alifatická skupina; a

R¹⁶ je ochranná skupina kyseliny, prípadne substituovaný aryl alebo prípadne substituovaná alifatická skupina.

127. Zlúčenina podľa nároku 126, kde:

prípadne substituované alifatické skupiny sú alkyl, alkenyl alebo alkynyl, prípadne substituované jedným alebo viacerými substituentmi alifatických skupín;

prípadne substituovaný aryl znamená aromatický monocyklický alebo multicyklický systém kruhov so 6 až 14 atómami uhlíka prípadne substituovaný jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

kde substituenty skupiny kruhov znamenajú substituenty viazané k aromatickému alebo nearomatickému systému kruhov vrátane skupín aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, kde Y^1 , Y^2 a Y^3 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl alebo pokiaľ systém kruhov je nasýtený alebo čiastočne nasýtený, substituenty skupiny kruhov ďalej zahŕňujú metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$) a tioxo ($S=$); a

substituenty alifatických skupín znamenajú aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg,

heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, hetero-aryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$), tioxo ($S=$); Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$, $Y^1Y^2NSO_2-$ alebo $Y^3SO_2NY^1-$, kde R^2 je ako tu bolo definované, Y^1 a Y^2 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl, a Y^3 je alkyl, cykloalkyl aryl alebo heteroaryl, alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxy-karbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka, cez ktorý sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl.

128. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 126 alebo 127, kde R^{14} je $-CO_2R^{16}$.

129. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 126 až 128, kde R^{16} je prípadne substituovaná alifatická skupina.

130. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 126 až 129, kde R^{16} je alkyl.

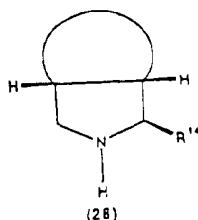
131. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 126 až 130, kde R^{16} je nižší alkyl.

132. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 126 až 131, kde R^{16} je t-Bu.

133. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 126 až 132, kde p^0 je zvolený zo súboru, zahrňujúceho BOC, CBz a $-CO_2$ alkyl.

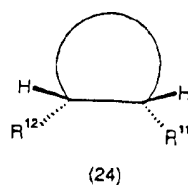
134. Zlúčenina podľa nároku 133, kde p^0 je BOC.

135. Spôsob prípravy chirálnej bicykloprolinátovej zlúčeniny všeobecného vzorca 28,



vyznačujúci sa tým, že zahrňuje nasledujúce kroky:

(a) štiepenie a cyklizácia zlúčeniny všeobecného vzorca 24



kde:



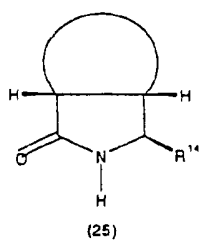
je prípadne substituovaný cykloalkyl alebo prípadne substituovaný kondenzovaný arylcykloalkyl;

R^{11} je $-\text{CO}_2R^{13}$;

R^{12} je adukt imínového glycínimidového derivátu;

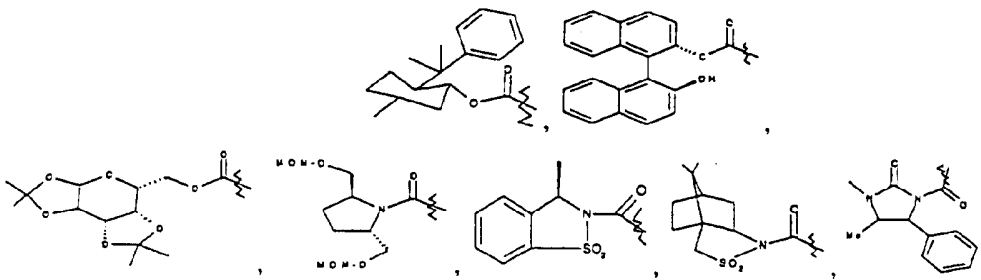
R^{13} je ochranná skupina kyseliny alebo prípadne substituovaná alifatická skupina;

za podmienok štiepenia a cyklizácie kvôli vytvoreniu zlúčeniny všeobecného vzorca 25



kde

R^{14} je $\text{CONR}^{15}\text{R}^{15}$, $-\text{CN}$;

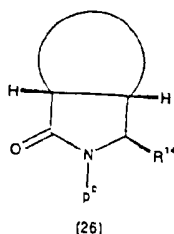


alebo $-\text{CO}_2\text{R}^{16}$;

R^{15} je prípadne substituovaná alifatická skupina;

R^{16} je ochranná skupina kyseliny, prípadne substituovaný aryl alebo prípadne substituovaná alifatická skupina; a

(b) ochrana atómu dusíka laktámovej časti zlúčeniny všeobecného vzorca 25 ochrannou skupinou amidu kvôli vytvoreniu zlúčeniny všeobecného vzorca 26

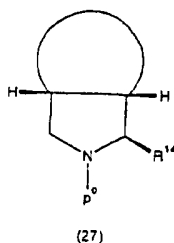


kde

p^0 je ochranná skupina amidu;

R^{14} je ako bolo opísané vyššie; a

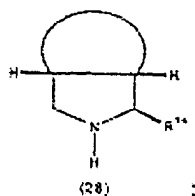
(c) redukcia zlúčeniny všeobecného vzorca 26 za redukčných podmienok za vytvorenia zlúčeniny všeobecného vzorca 27



kde

p^0 a R^{14} sú ako bolo opísané vyššie; a

(d) odstránenie ochrannej skupiny zlúčeniny všeobecného vzorca 27 za podmienok odstránenia ochrannej skupiny za vytvorenia zlúčeniny všeobecného vzorca 28



kde R^{14} je ako bolo opísané vyššie.

136. Zlúčenina podľa nároku 135, kde

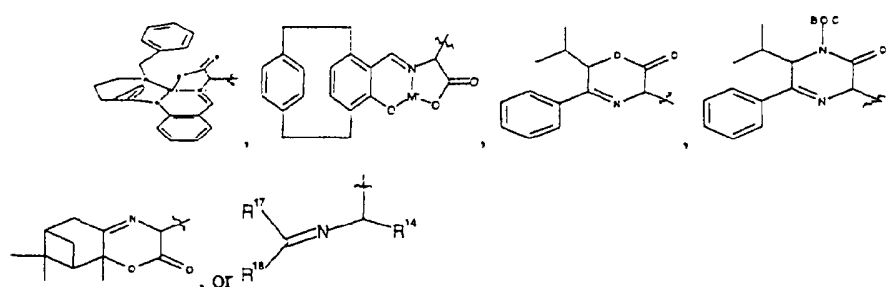
prípadne substituované alifatické skupiny sú alkyl, alkenyl alebo alkynyl, prípadne substituované jedným alebo viacerými substituentmi alifatických skupín;

prípadne substituovaný aryl znamená aromatický monocyklický alebo multicyklický systém kruhov so 6 až 14 atómami uhlíka prípadne substituovaný jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

prípadne substituovaný cykloalkyl znamená nearomatický mono- alebo multicyklický systém kruhov s 3 až 10 atómami uhlíka prípadne substituovaný jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

prípadne substituovaný kondenzovaný arylcykloalkyl znamená kondenzovaný arylcykloalkyl prípadne substituovaný jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

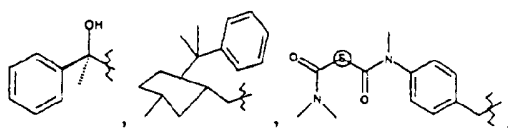
adukt iminového glycínimidového derivátu je zlúčenina zvolená zo súboru, zahrňujúceho



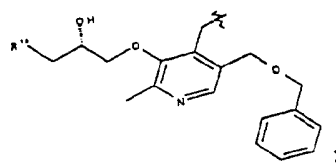
kde

R^{16} je ochranná skupina kyseliny, prípadne substituuovaný aryl alebo prípadne substituuovaná alifatická skupina;

R^{17} je prípadne substituuovaný aryl, prípadne substituuovaná alifatická skupina;



alebo



R^{18} je atóm vodíka, skupiny alkyl alebo alkyltio; alebo prípadne substituovaný aryl;

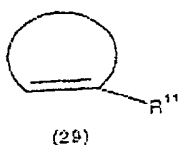
kde

substituenty skupiny kruhov znamenajú substituenty viazané k aromatickému alebo nearomatickému systému kruhov vrátane skupín aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, kde Y^1 , Y^2 a Y^3 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka, ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl alebo pokiaľ systém kruhov je nasýtený alebo čiastočne nasýtený, substituenty skupiny kruhov ďalej zahŕňujú metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$) a tioxo ($S=$); a

substituenty alifatických skupín znamenajú skupiny aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg,

cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryl-oxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$), tioxo ($S=$), Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$, $Y^1Y^2NSO_2-$ alebo $Y^3SO_2NY^1-$, kde R^2 je ako tu bolo definované, Y^1 a Y^2 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl, a Y^3 je alkyl, cykloalkyl aryl alebo heteroaryl, alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka, ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl.

137. Spôsob podľa nároku 136, **vyznačujúci sa tým**, že ďalej zahrňuje krok, kde zlúčenina všeobecného vzorca 24 sa pripraví uskutočnením Michaelovej adície imínovej glycínimidovej zlúčeniny na zlúčeninu všeobecného vzorca 29



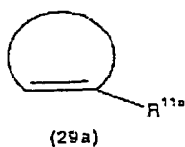
v ktorom:



je prípadne substituovaný cykloalkenyl alebo prípadne substituovaný kondenzovaný arylcykloalkenyl;

kde:

zlúčenina všeobecného vzorca 29 sa môže pripraviť esterifikáciou zlúčeniny všeobecného vzorca 29a



v ktorom:

R^{11a} je $-\text{CHO}$, $-\text{COR}^{15}$, $-\text{C}\equiv\text{N}$ alebo $-\text{CONR}^{15}\text{R}^{15}$.

138. Spôsob podľa nároku 137, **vyznačujúci sa tým**, že spôsob sa uskutočňuje pri teplote medzi $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$.

139. Spôsob podľa nároku 138, **vyznačujúci sa tým**, že spôsob sa uskutočňuje pri teplote $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$.

140. Spôsob podľa nároku 139, **vyznačujúci sa tým**, že spôsob sa katalyzuje chirálnym katalyzátorom prenosu fázy.

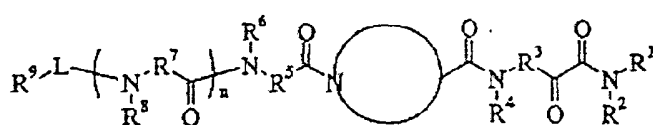
141. Spôsob podľa nároku 139, **vyznačujúci sa tým**, že spôsob sa katalyzuje nechirálnym katalyzátorom prenosu fázy.

142. Spôsob podľa ktoréhokoľvek z nárokov 135 až 141, **vyznačujúci sa tým**, že ochranná skupina je BOC.

143. Spôsob podľa nároku 142, **vyznačujúci sa tým**, že imínový glycínimid je terc-butylester (N-difenylmetylén)glycínu.

143. Spôsob podľa nároku 142, **vyznačujúci sa tým**, že zlúčenina všeobecného vzorca 29 je metylester 1-karboxy-1-cyklopenténu.

144. Zlúčenina podľa nároku 1, ktorá má štruktúrny všeobecný vzorec:



v ktorom:

R^1 je atóm vodíka, prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina;

R^2 a R^9 sú každý nezávisle prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina;

R^3 , R^5 a R^7 sú každý nezávisle metándiyl alebo etándiyl substituovaný jedným substituentom zvoleným zo súboru, zahrňujúceho prípadne substituovanú alifatickú skupinu, prípadne substituovanú cyklickú skupinu alebo prípadne substituovanú aromatickú skupinu a kde metándiyl alebo etándiyl je ďalej prípadne substituovaný substituentom alifatickej skupiny;

R^4 , R^6 , R^8 a R^{10} sú každý nezávisle atóm vodíka alebo prípadne substituovaná alifatická skupina;



je substituovaný monocyklický azaheterocyklyl alebo prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl alebo prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklenyl, v ktorom nenasýtenosť je v kruhu vzdialenom od kruhu nesúceho skupinu R^9 -L-(N(R^8)- R^7 -C(O)-) $_n$ N(R^6)- R^5 -C(O)-N a ku ktorému je viazaná skupina -C(O)-N(R^4)- R^3 -C(O)C(O)NR 2 R 1 ;

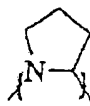
L je -C(O)-, -OC(O)-, -NR 10 C(O)-, -S(O) $_2$ - alebo -NR 10 S(O) $_2$;

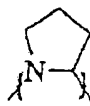
a

n je 0 alebo 1,

alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ alebo prekursor alebo solvát takejto zlúčeniny, jej soli alebo jej prekursora,

za predpokladu,



že pokiaľ je substituovaný , potom L je -OC(O)- a R^9 je prípadne substituovaná alifatická skupina alebo aspoň jeden z R^3 , R^5 a R^7 je metándiyl alebo etándiyl substituovaný aspoň jedným substituentom zvoleným zo súboru, zahrňujúceho prípadne substituovanú alifatickú skupinu, prípadne substituovanú cyklickú skupinu alebo prípadne substituovanú aromatickú skupinu a kde metándiyl alebo etándiyl je ďalej prípadne substituovaný alifatickým substituentom alebo R^4 je prípadne substituovaná alifatická skupina.

145. Zlúčenina podľa nároku 144, kde

prípadne substituované alifatické skupiny sú alkyl, alkenyl alebo alkynyl, prípadne substituovaný jedným alebo viacerými alifatickými substituentmi;

prípadne substituované cyklické skupiny sú cykloalkyl, cykloalkenyl, heterocyklyl alebo heterocyklenyl prípadne substituované jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

prípadne substituované aromatické skupiny sú skupiny aryl alebo heteroaryl prípadne substituované jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

prípadne substituované (1,1- alebo 1,2-)cykloalkylénové skupiny sú (1,1- alebo 1,2-)cykloalkylénové skupiny prípadne substituované jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

prípadne substituované (1,1- alebo 1,2-) heterocyklylénové skupiny sú (1,1- alebo 1,2-) heterocyklylénové skupiny prípadne substituované jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;



ako substituovaný monocyklický azaheterocyklyl je monocyklická azaheterocyklylová skupina substituovaná priamo alebo cez väzbovú skupinu aspoň jedným substituentom zvoleným zo súboru zahrňujúceho aryl, heteroaryl, aryloxy, heteroaryloxy, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, aroyloxy, heteroaroyloxy, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, aryltio, heteroaryltio, aryldiazo, heteroaryldiazo, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, kde aspoň jeden z Y^1 a Y^2 je aryl alebo heteroaryl, kde uvedená väzbová skupina je zvolená zo súboru, zahrňujúceho -C(O)-, -OC(O)-, nižší alkyl, nižší alkoxy, nižší alkenyl, -O-, -S-, -C(O)C(O)-, -S(O)-, -S(O)₂-, -NR⁸⁰-, kde R⁸⁰ je atóm vodíka, skupiny alkyl, cykloalkyl, aryl, aralkyl, heterocyklyl alebo heteroaryl;

prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklyl je multicyklická azaheterocyklylová skupina prípadne substituovaná jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

prípadne substituovaný multicyklický azaheterocyklenyl je multicyklická azaheterocyklenylová skupina prípadne substituovaná jedným alebo viacerými substituentmi skupiny kruhov;

kde substituenty alifatických skupín znamenajú aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroaryl-sulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$), tioxo ($S=$); Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$, $Y^1Y^2NSO_2-$ alebo $Y^3SO_2NY^1-$, kde R^2 je ako tu bolo definované, Y^1 a Y^2 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl, a Y^3 je alkyl, cykloalkyl aryl alebo heteroaryl, alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka, ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl,

substituenty skupiny kruhov znamenajú aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl

alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), kyslý bioster, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, kde Y^1 , Y^2 a Y^3 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl, alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka, ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl, alebo pokiaľ systém kruhov je nasýtený alebo čiastočne nasýtený, "substituenty skupiny kruhov" ďalej zahŕňujú metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$) a tioxo ($S=$);

aryl znamená aromatický monocyklický alebo multicyklický systém kruhov so 6 až 14 atómami uhlíka;

cykloalkyl znamená nearomatický mono- alebo multicyklický systém kruhov s 3 až 10 atómami uhlíka;

cykloalkenyl znamená nearomatický mono- alebo multicyklický systém kruhov s 3 až 10 atómami uhlíka, ktorý obsahuje aspoň jednu dvojitú väzbu uhlík-uhlík;

cyklyl znamená cykloalkyl, cykloalkenyl, heterocyklyl alebo heterocyklenyl;

heterocyklyl znamená nearomatický nasýtený monocyklický alebo multicyklický systém kruhov obsahujúci od približne 3 do približne 10 atómov uhlíka, kde jeden alebo viacero atómov v kruhovom systéme je/sú heteroatóm iný ako uhlík;

heterocyklenyl znamená nearomatický monocyklický alebo multicyklický uhl'ovodíkový systém kruhov obsahujúci od približne 3 do približne 10 atómov uhlíka, v ktorom jeden alebo viacero atómov v kruhovom systéme je/sú heteroatóm iný ako uhlík, a ktorý obsahuje aspoň jednu dvojitú väzbu uhlík-uhlík alebo dvojitú väzbu uhlík-dusík; a

heteroaryl znamená aromatický monocyklický alebo multicyklický systém kruhov s od približne 5 do približne 14 atómami uhlíka, kde jeden alebo viacero atómov v kruhovom systéme je/sú heteroatóm iný ako uhlík.

146. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 145, kde R^2 je 1-karboxy-2-fenyletyl, cyklopropyl, karboxymetyl, cyklobutyl, 1-fenyletyl, but-2-yl, 1-pyrid-4-yletyl alebo propén-3-yl.

147. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 146, kde R^3 je prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina metándiyl.

148. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 147, kde R^3 je prípadne atómom halogénu substituovaný nižší (alkyl alebo alkenyl)metándiyl.

149. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 148, kde R^3 je propylmetándiyl, 2,2-difluóretylmetándiyl, 2,2,2-trifluórmétándiyl alebo propén-3-ylmetándiyl; výhodnejšie R^3 je propylmetándiyl, 2,2-difluóretylmetándiyl.

150. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 149, kde R^5 je prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina - metándiyl.

151. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 150, kde R^5 je prípadne (fenyl, karboxy, karboxamido alebo alkoxykarbonyl) substituovaný nižší (alkyl alebo alkenyl)metándiyl.

152. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 151, kde R^5 je metylmetándiyl, izopropylmetándiyl, terc-butylmetándiyl, but-2-ylmetándiyl, butylmetándiyl, benzylmetándiyl, 3-metylbutylmetándiyl, 2-metylpropylmetándiyl, karboxymetylmetándiyl, karboxamidometylmetándiyl, benzyloxykarbonylmetylmetándiyl, benzyloxykarbonylpropylmetándiyl, fenylpropén-3-ylmetándiyl.

153. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 152, kde R^7 je prípadne substituovaná nižšia alifatická skupina - metándiyl alebo prípadne substituovaná nižšia cyklická skupina - metándiyl.

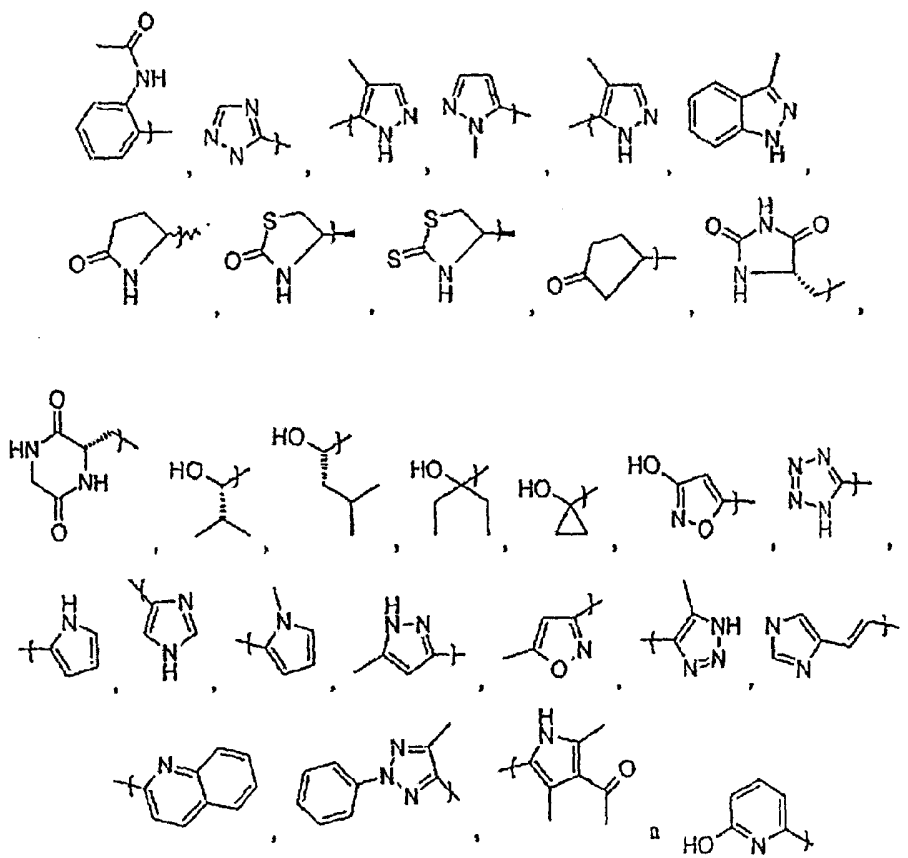
154. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 153, kde R^7 je prípadne substituovaný nižší alkylmetándiyl alebo prípadne substituovaný nižší cykloalkylmetándiyl.

155. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 154, kde R^7 je izopropylmetándiyl alebo cyklohexylmetándiyl.

156. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 155, kde R^9 je prípadne (karboxy, (nižší alkyl)HNCO-, hydroxy, fenyl alebo heteroaryl) substituovaný nižší alkyl alebo prípadne substituovaný monocyklický heteroaryl.

157. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 156, kde R^9 je izopropyl alebo terc-butyl.

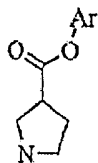
158. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 157, kde R^9 je zvolený zo súboru, zahrňujúceho:



159. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 143 až 158, kde

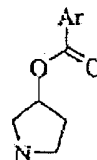


ako substituovaný monocyklický azaheterocyklyl je prípadne



substituovaný

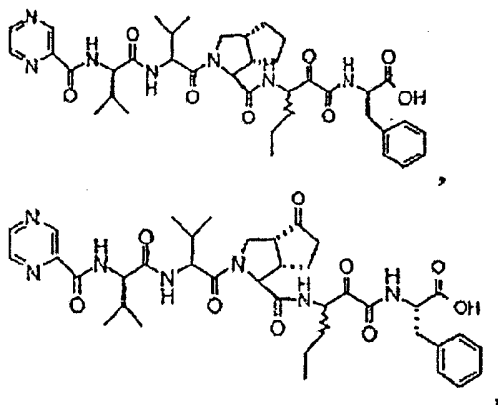
alebo prípadne substituovaný

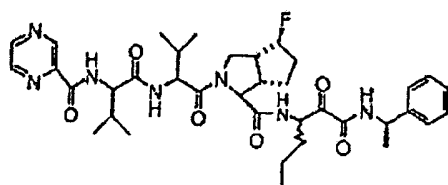
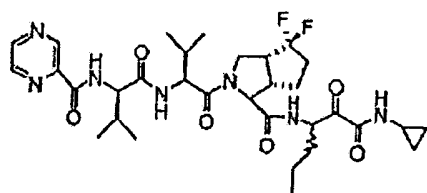
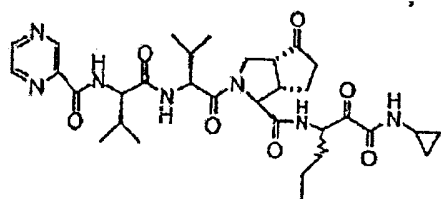
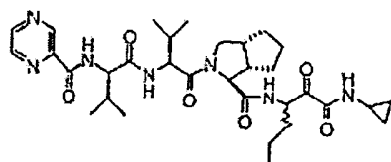
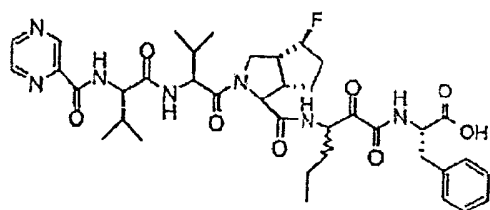
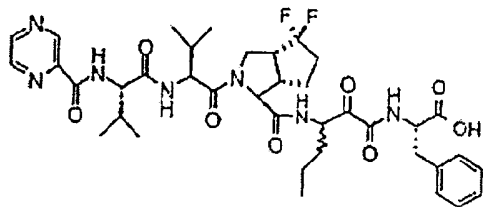
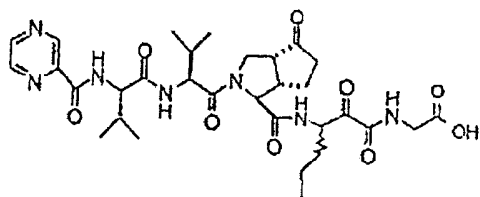


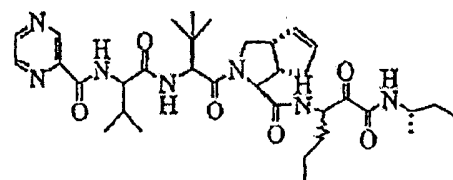
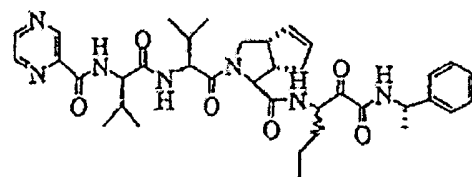
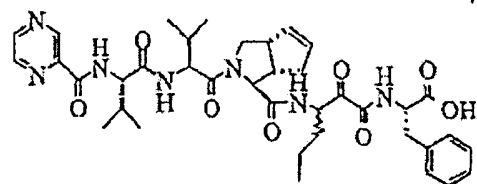
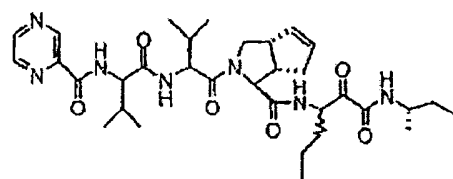
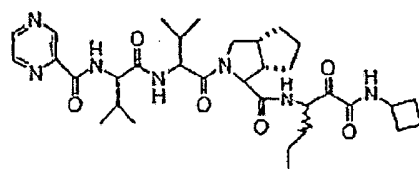
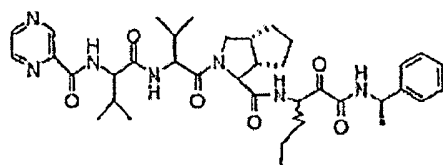
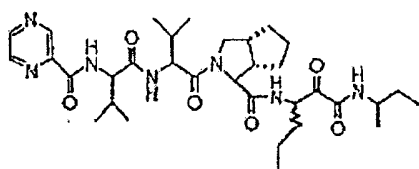
, kde Ar je

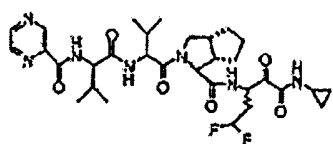
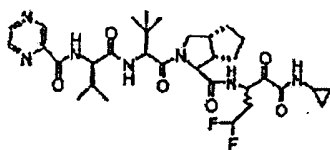
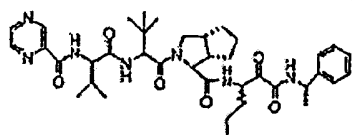
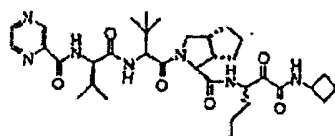
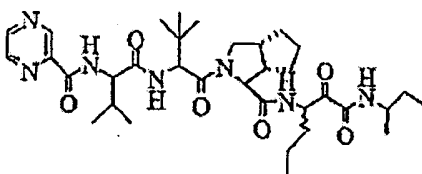
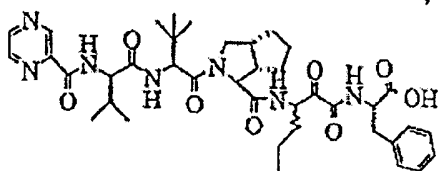
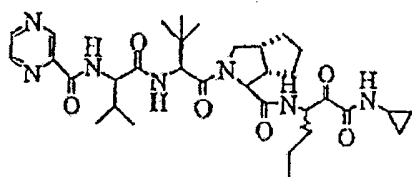
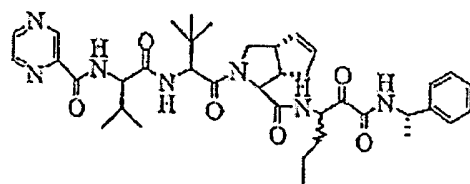
R^2 , ktorý obsahuje aromatickú skupinu/substituent.

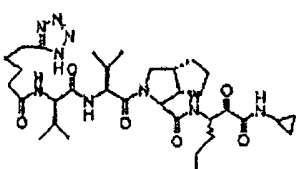
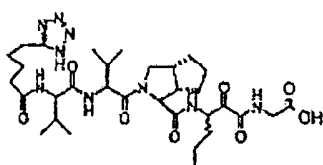
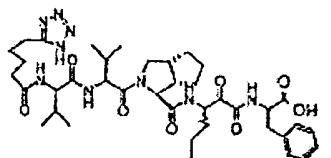
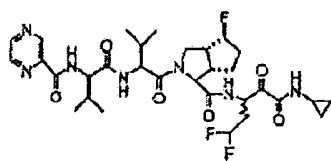
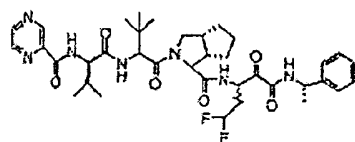
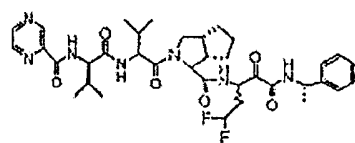
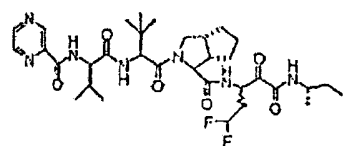
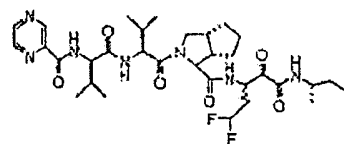
160. Zlúčenina podľa nároku 144 zvolená zo súboru, zahrňujúceho nasledujúce zlúčeniny:

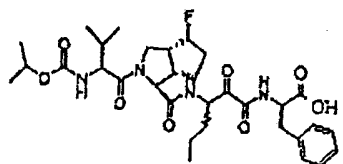
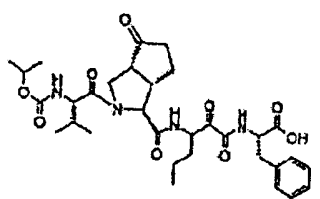
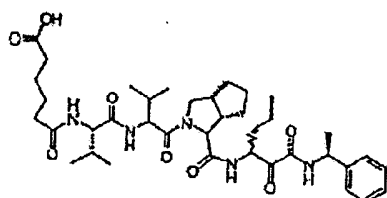
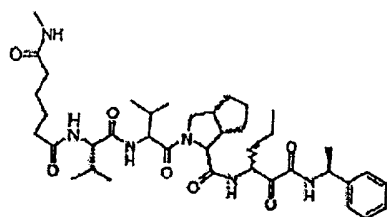
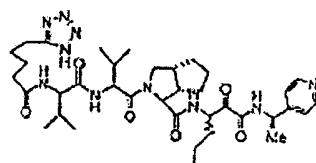
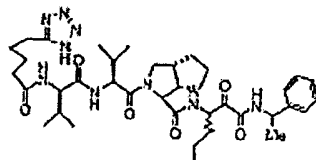
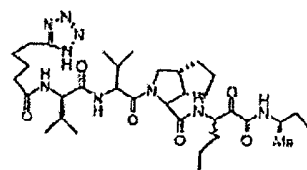


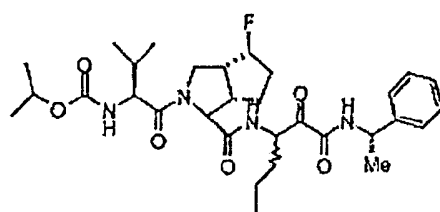
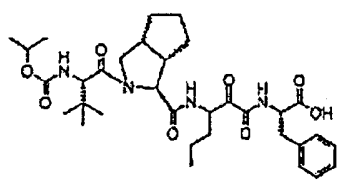
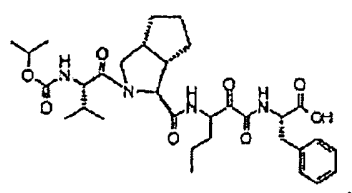
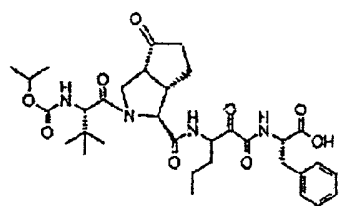
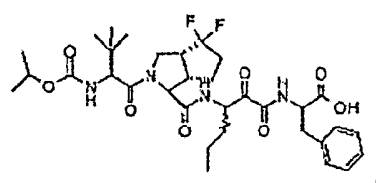
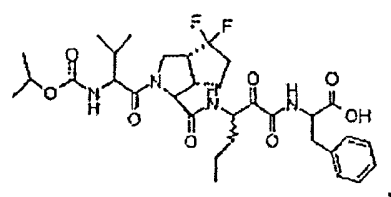
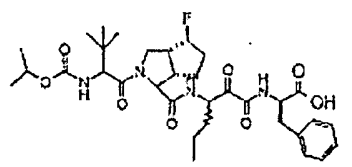


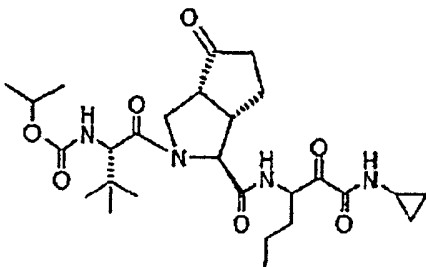
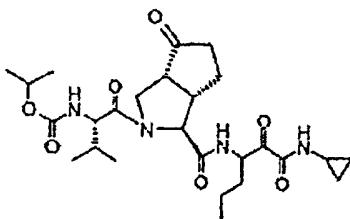
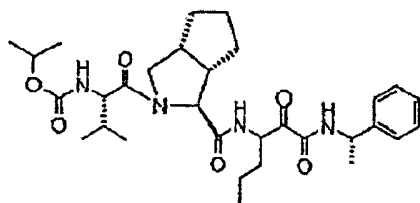
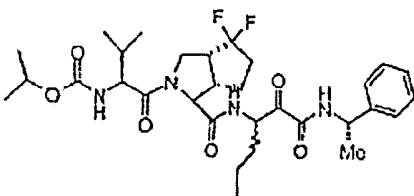
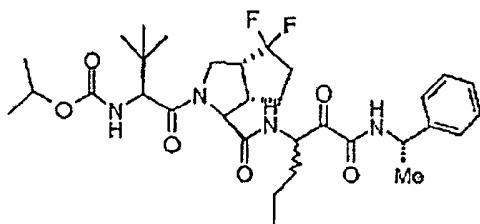
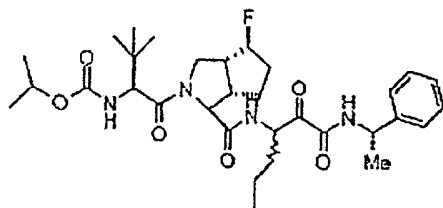


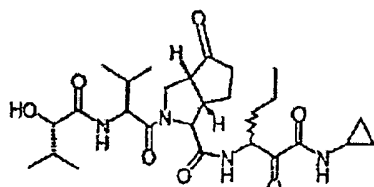
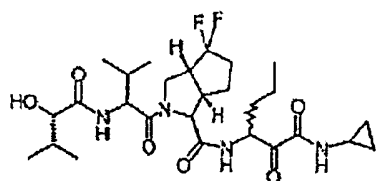
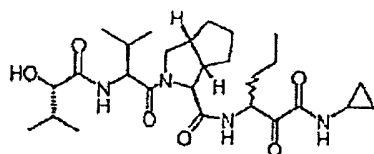
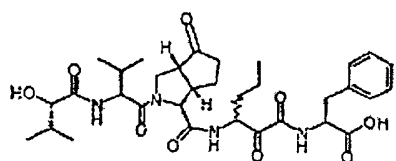
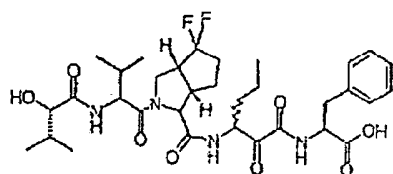
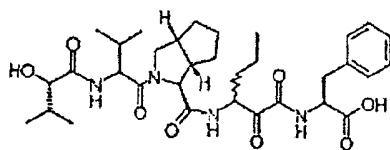
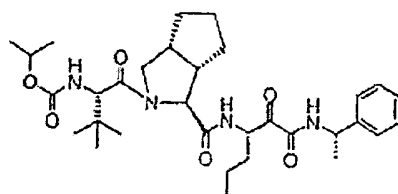


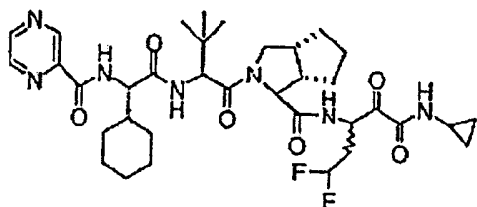
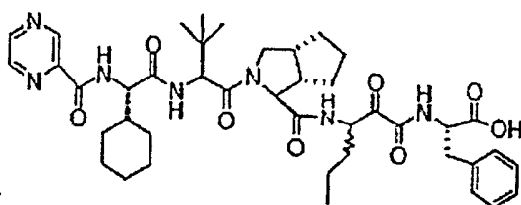
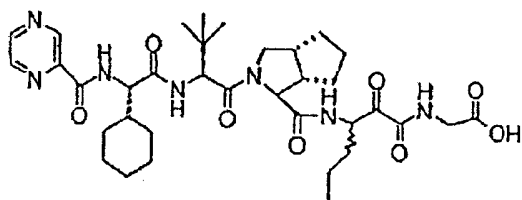
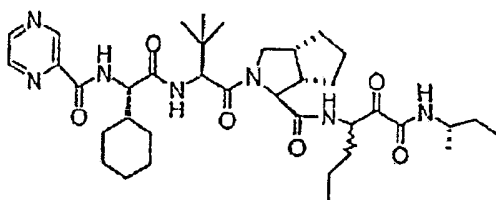
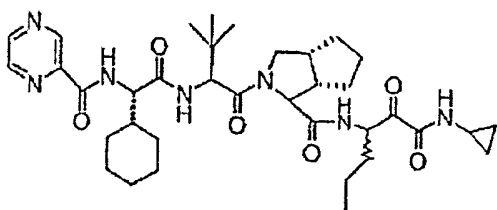
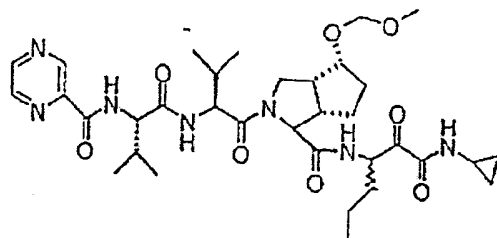


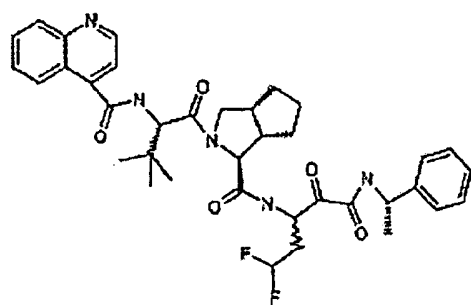
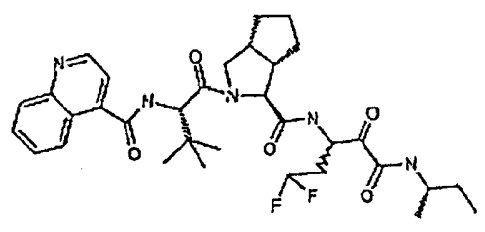
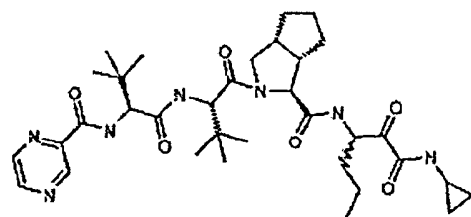
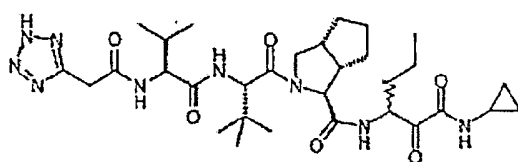
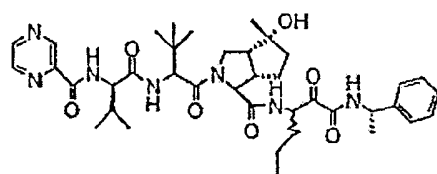
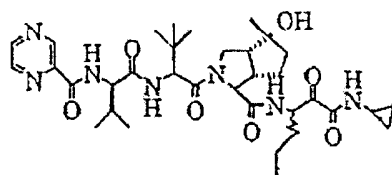




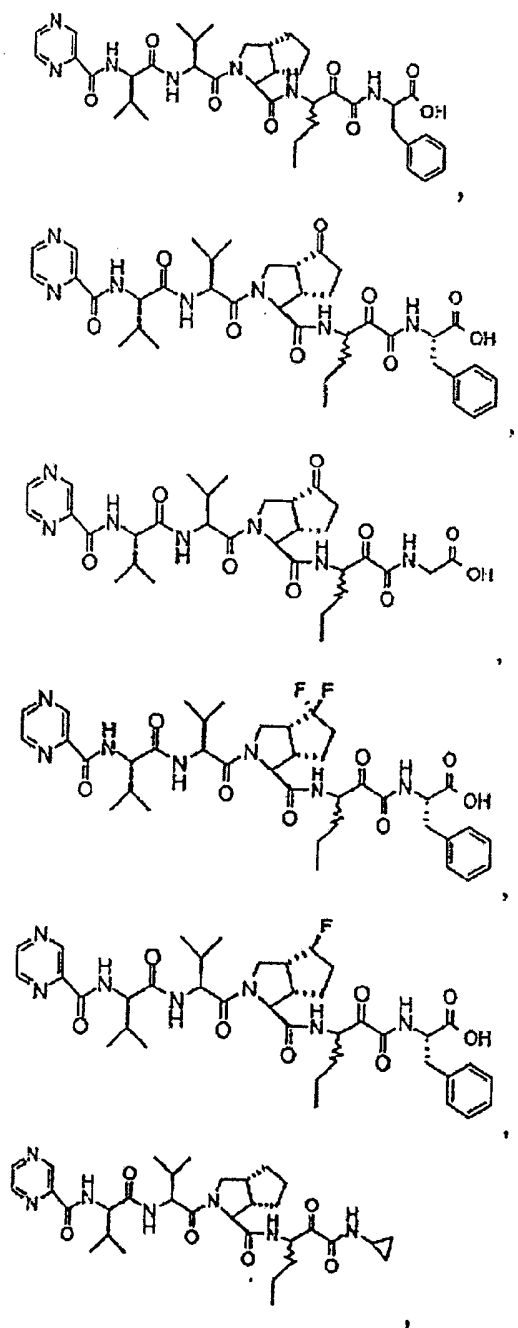


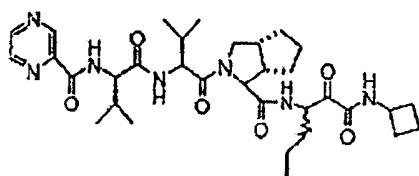
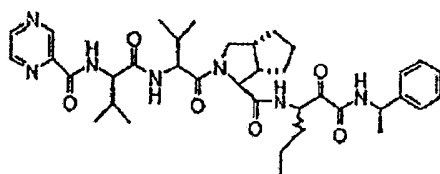
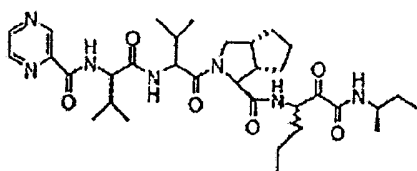
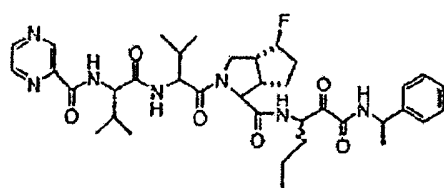
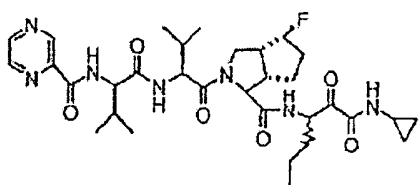
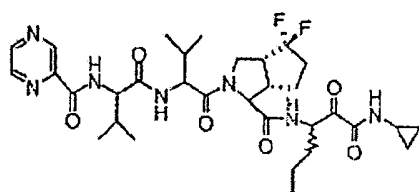
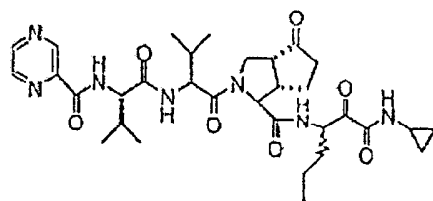


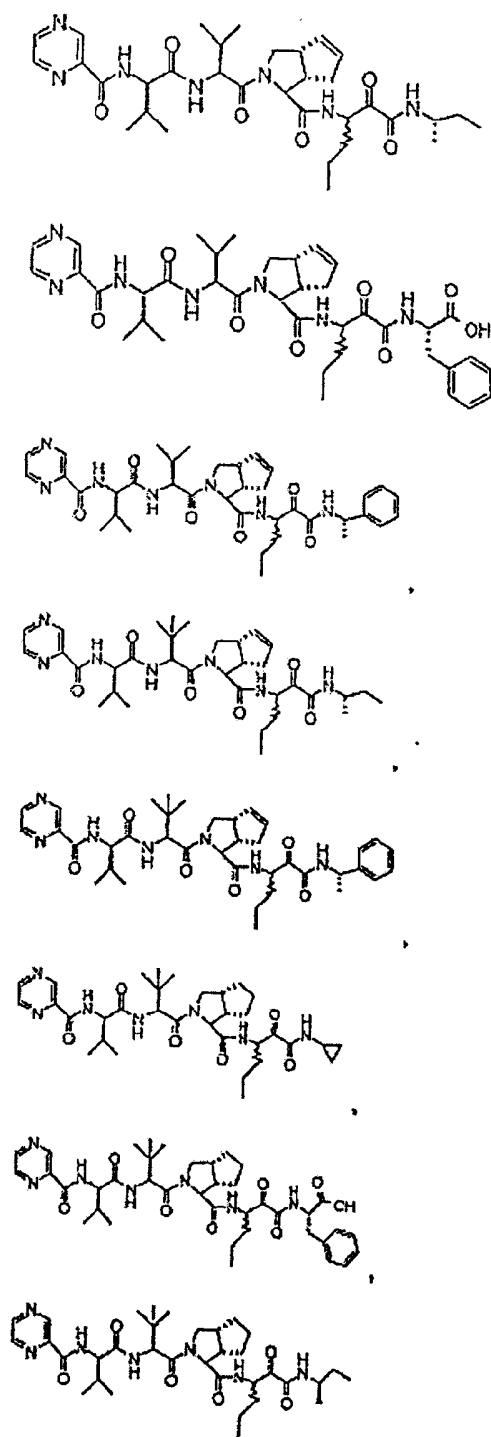


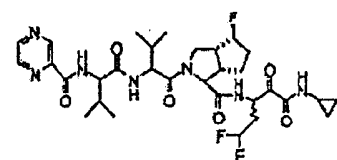
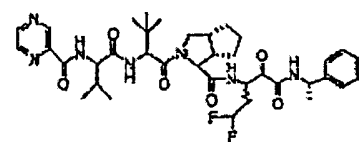
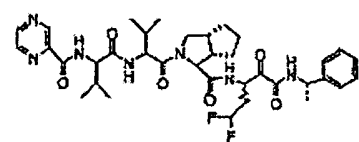
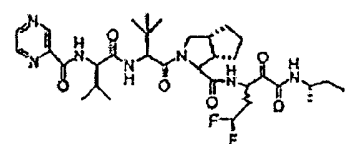
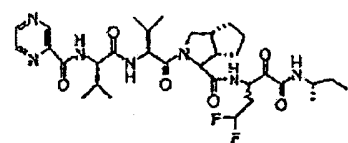
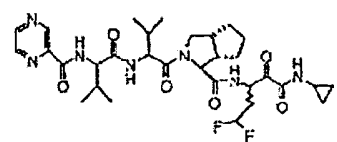
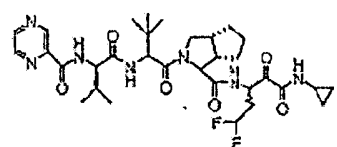
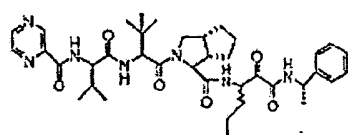
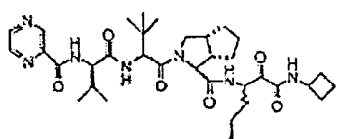


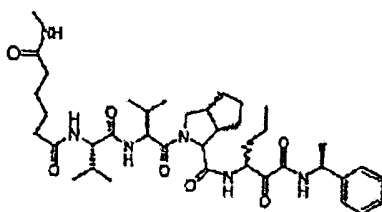
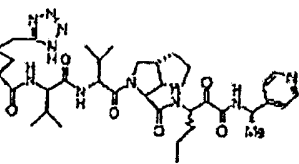
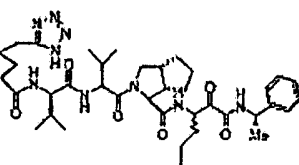
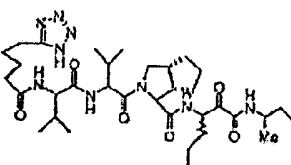
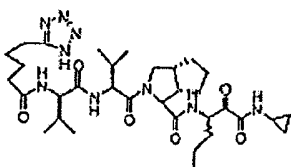
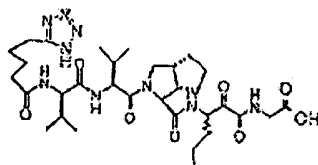
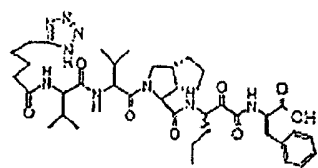
161. Zlúčenina podľa nároku 144 zvolená zo súboru, zahrňujúceho:

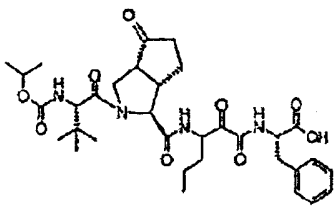
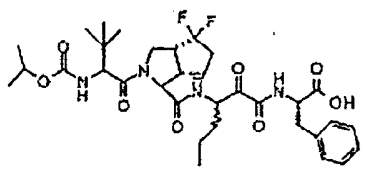
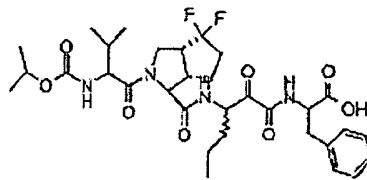
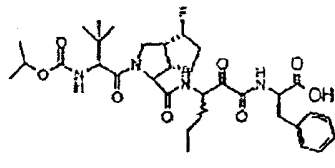
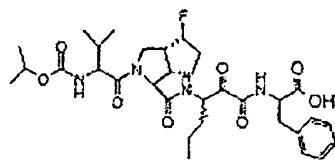
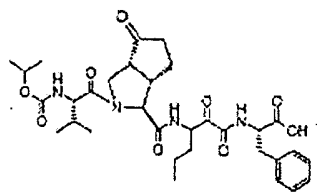
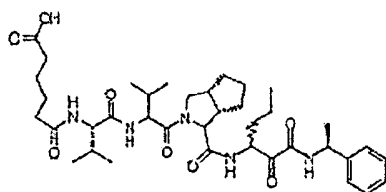


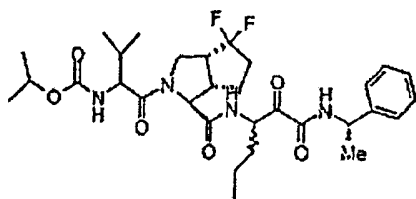
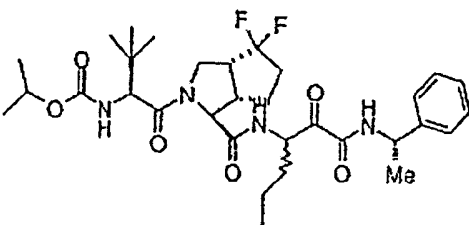
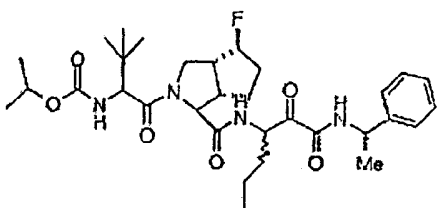
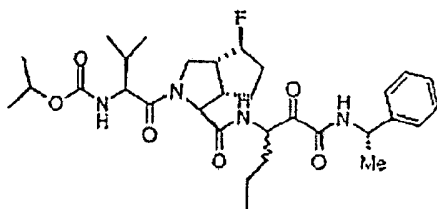
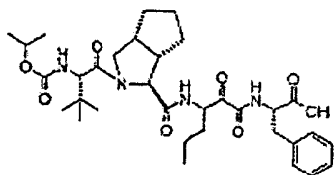
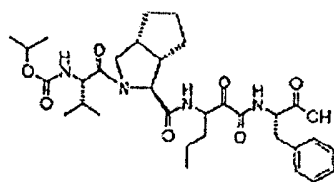


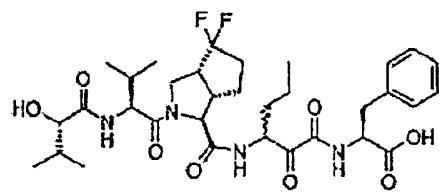
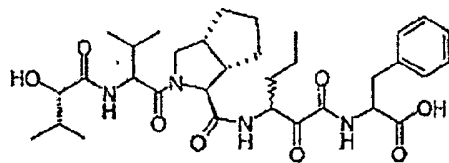
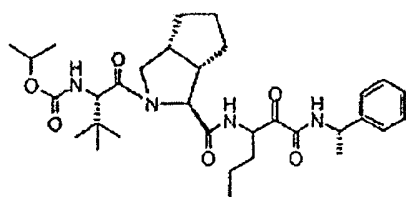
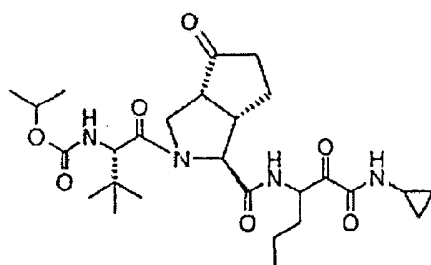
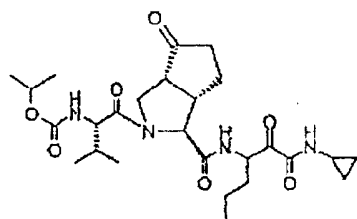
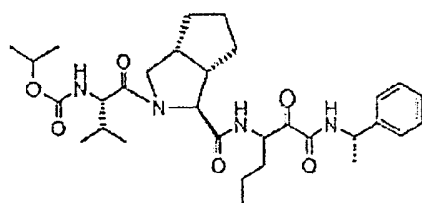


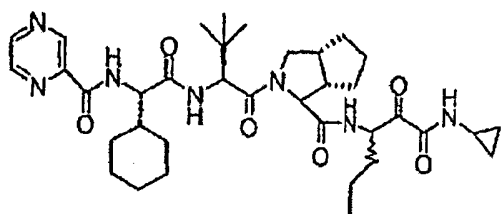
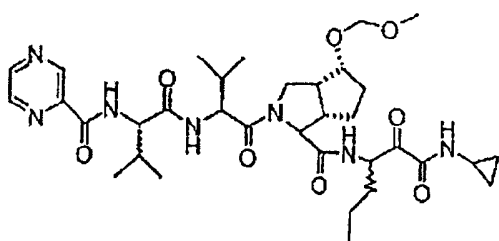
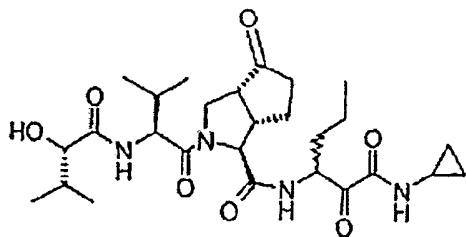
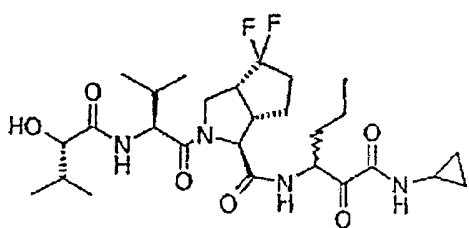
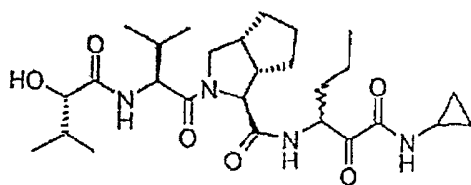
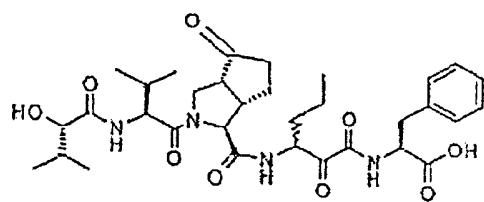


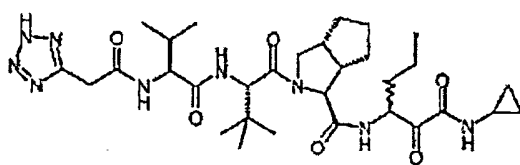
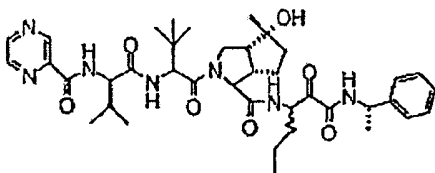
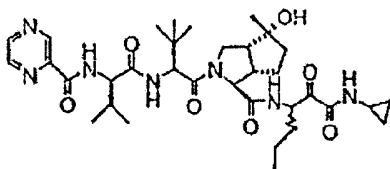
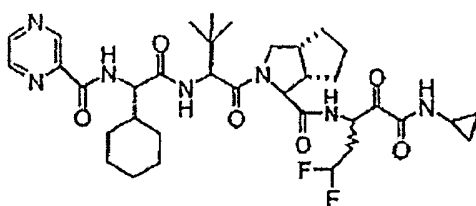
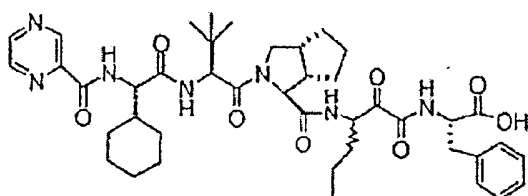
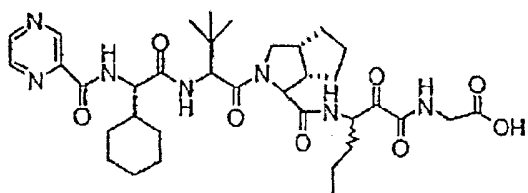
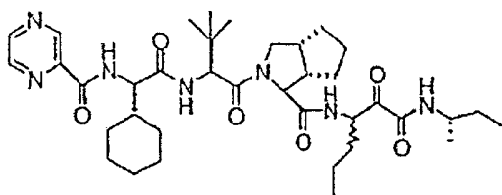


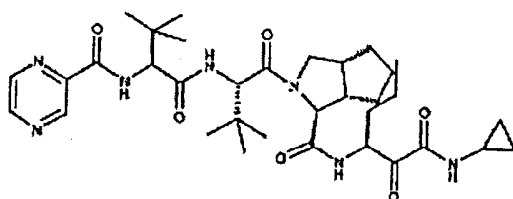
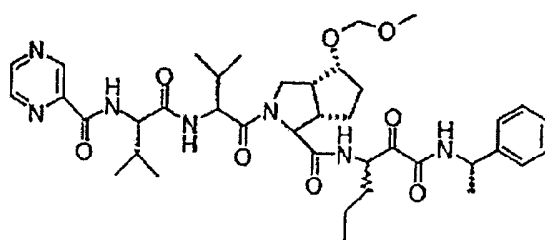
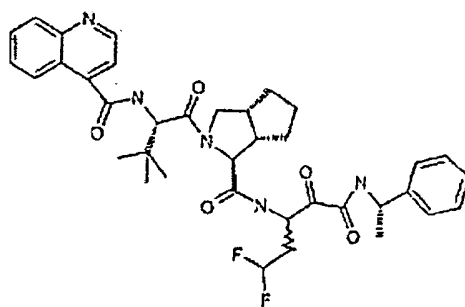
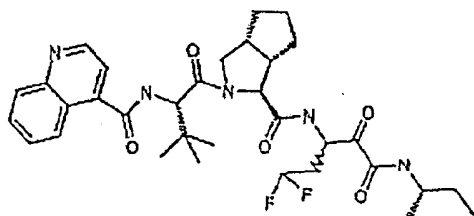
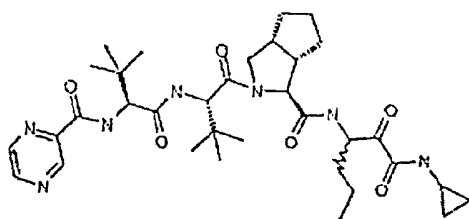


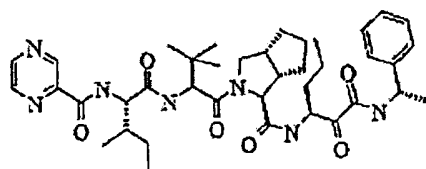
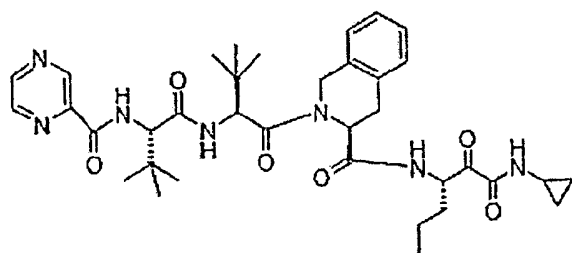
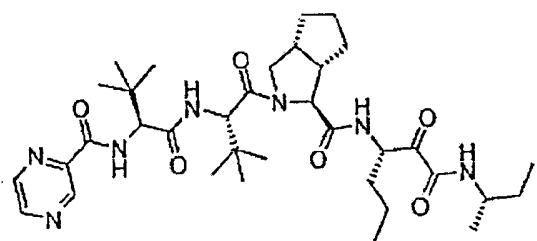
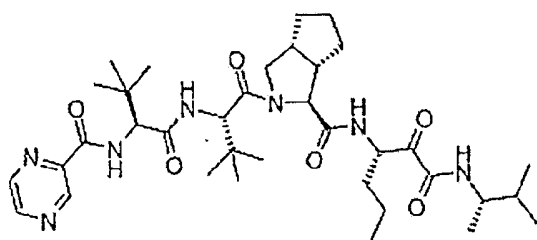
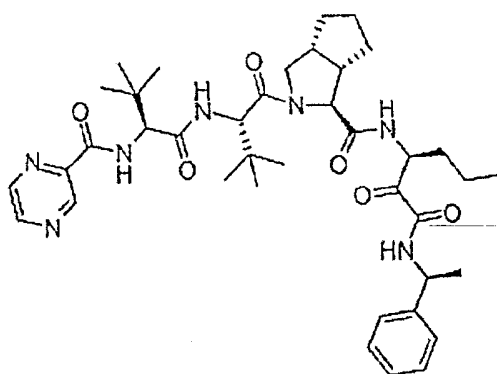


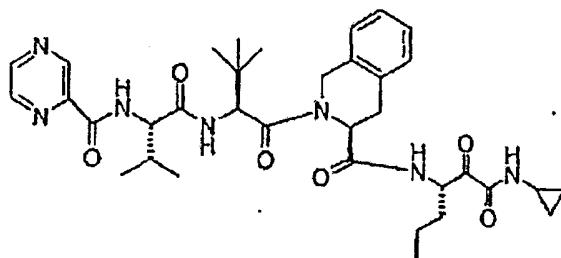
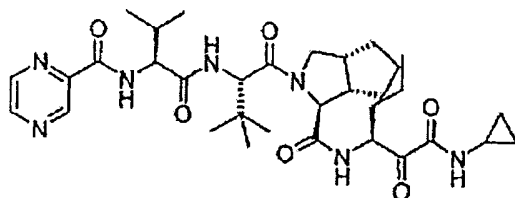
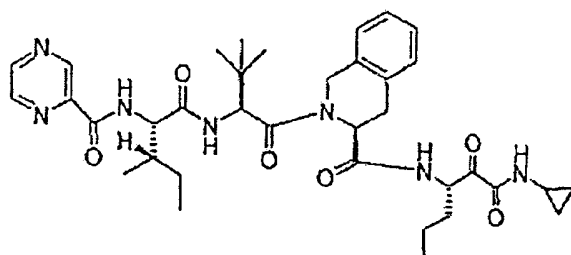
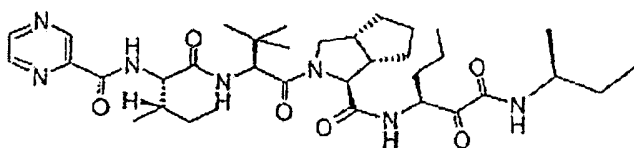
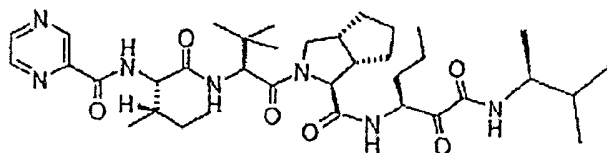
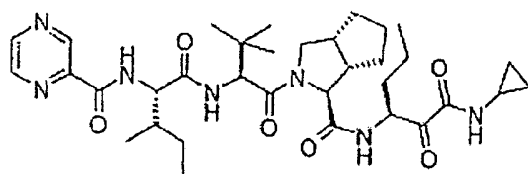


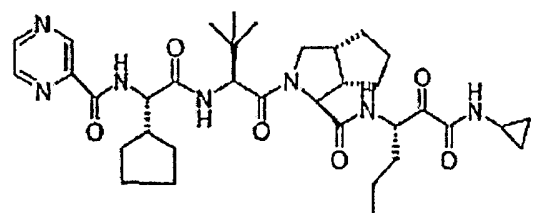
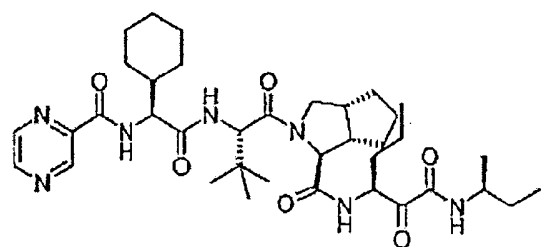
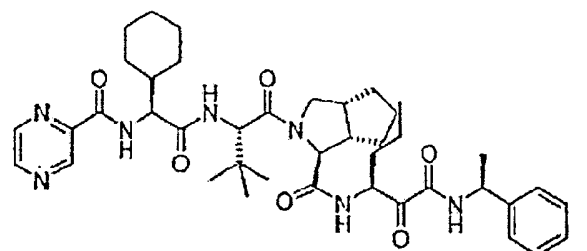
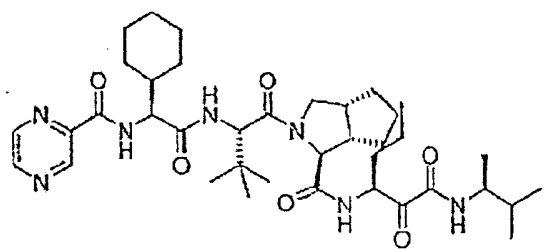
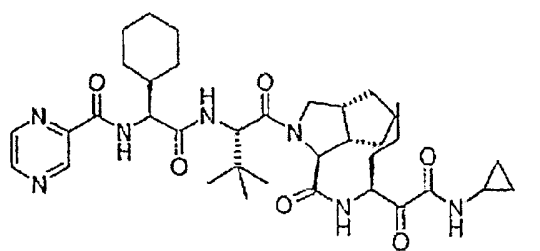


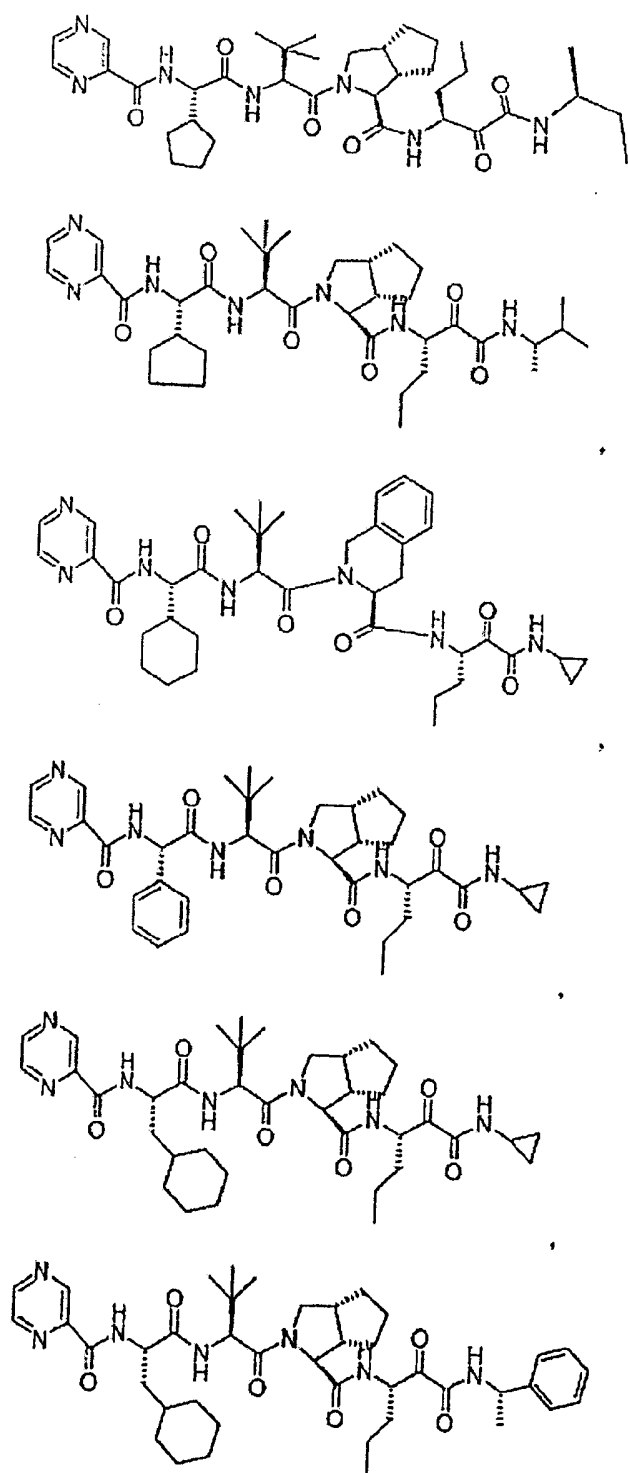


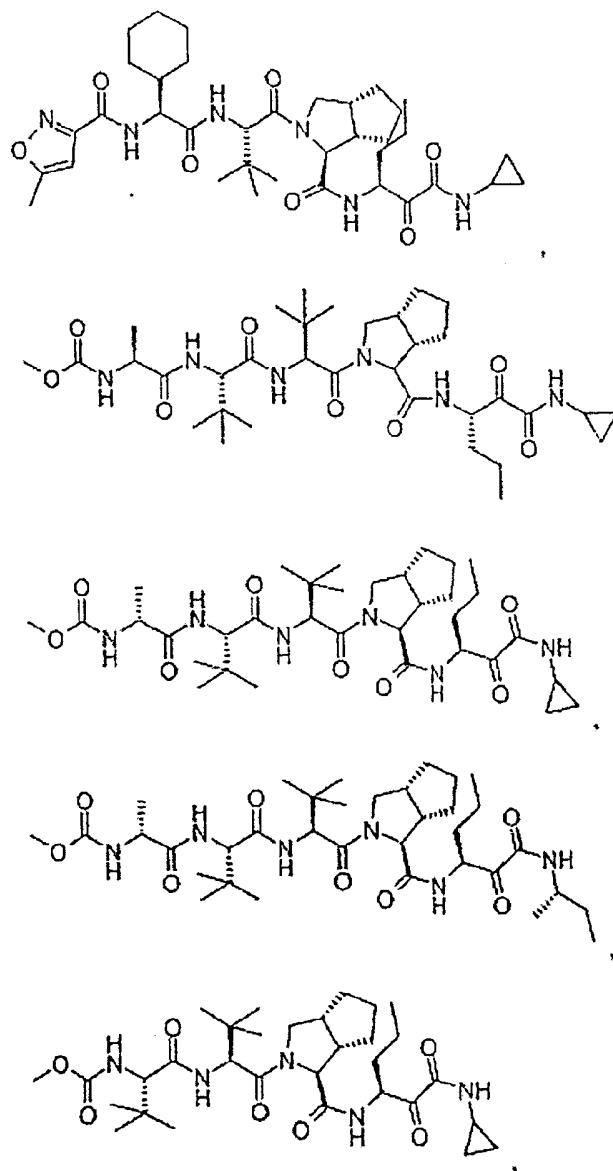


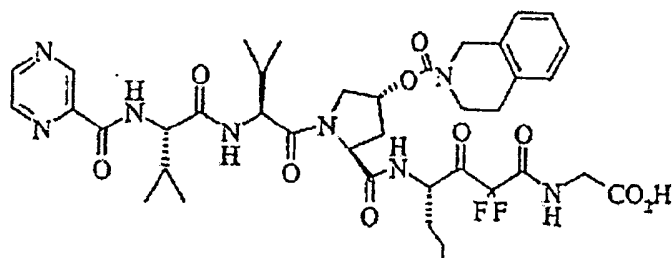
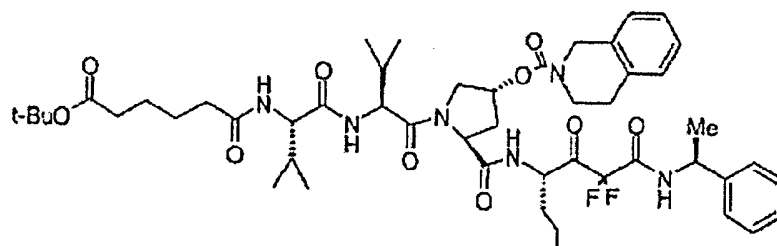
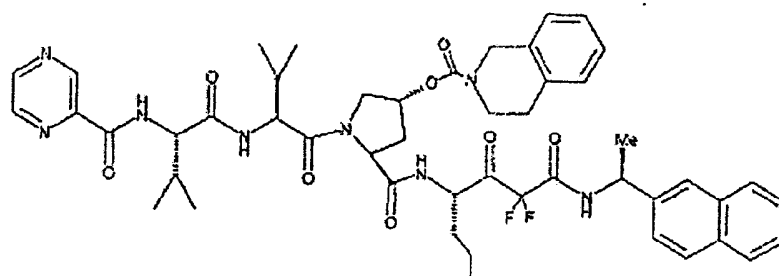
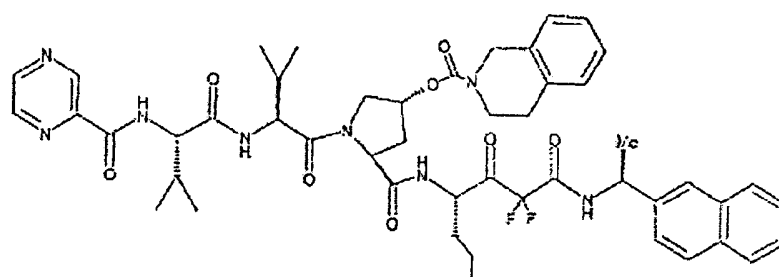
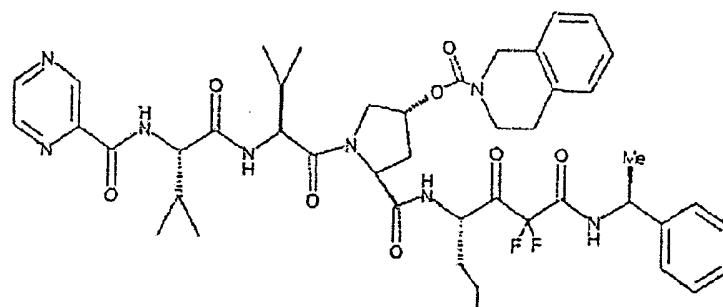


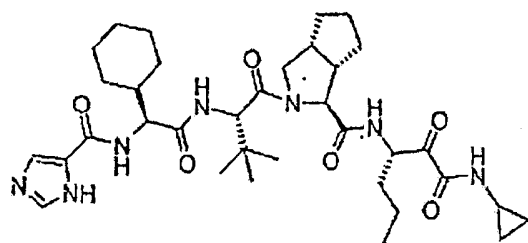
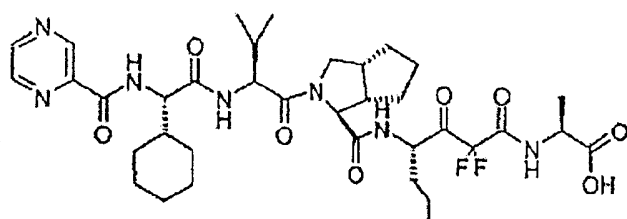
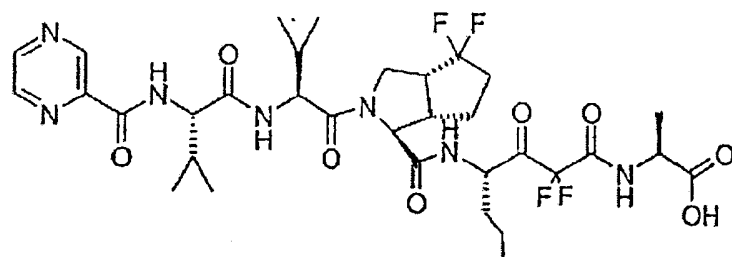
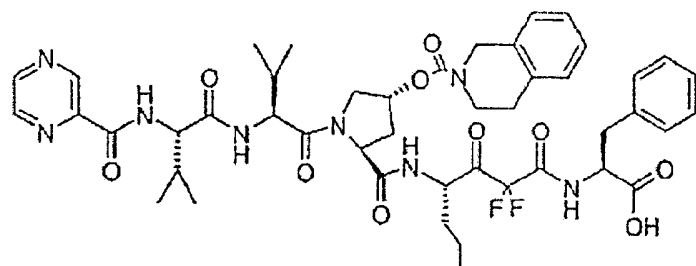
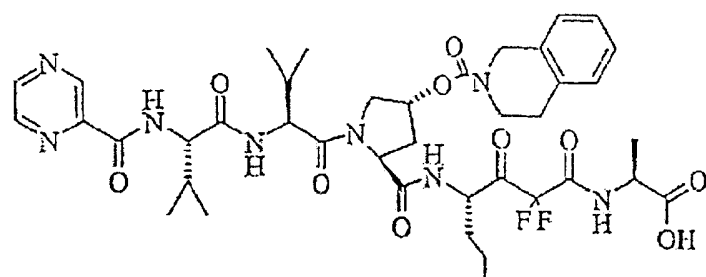


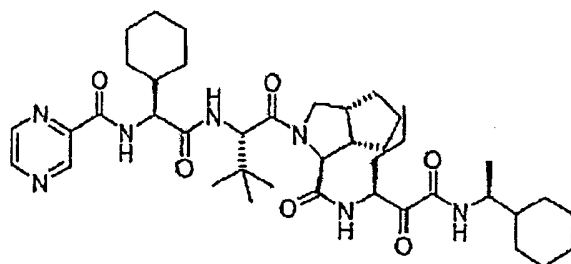
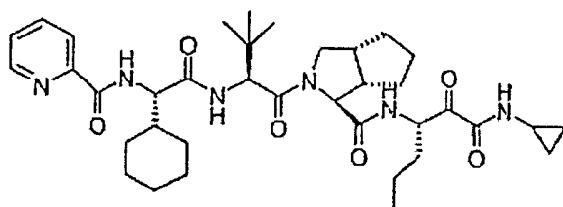
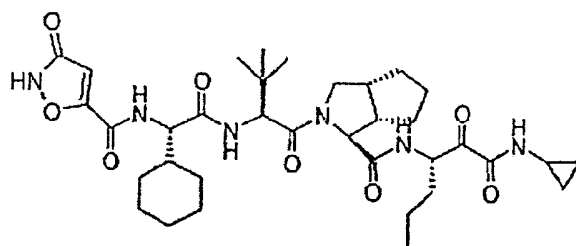
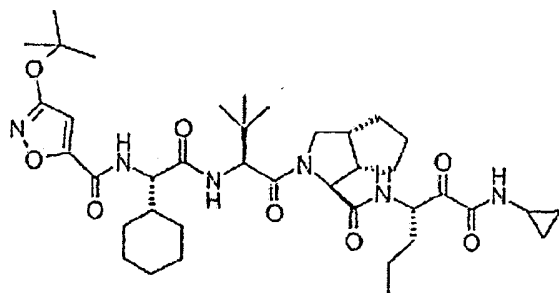
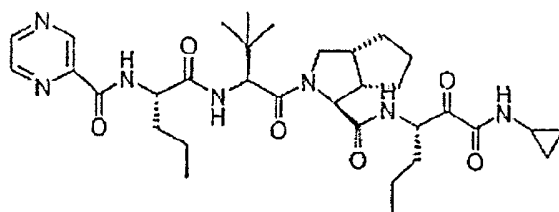


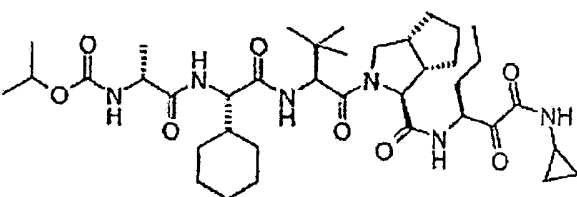
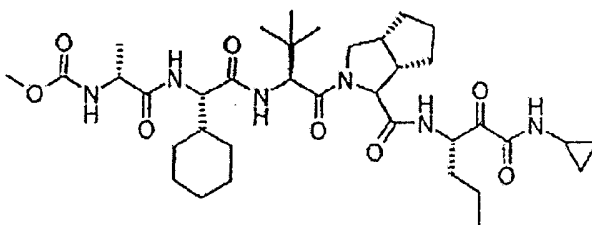
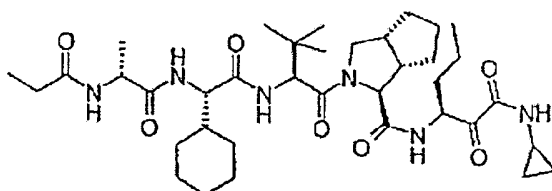
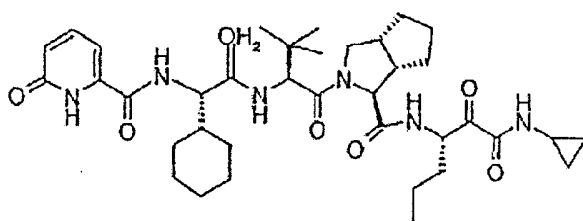
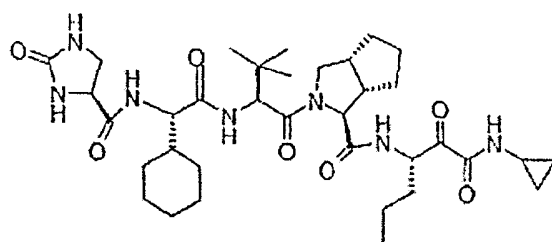


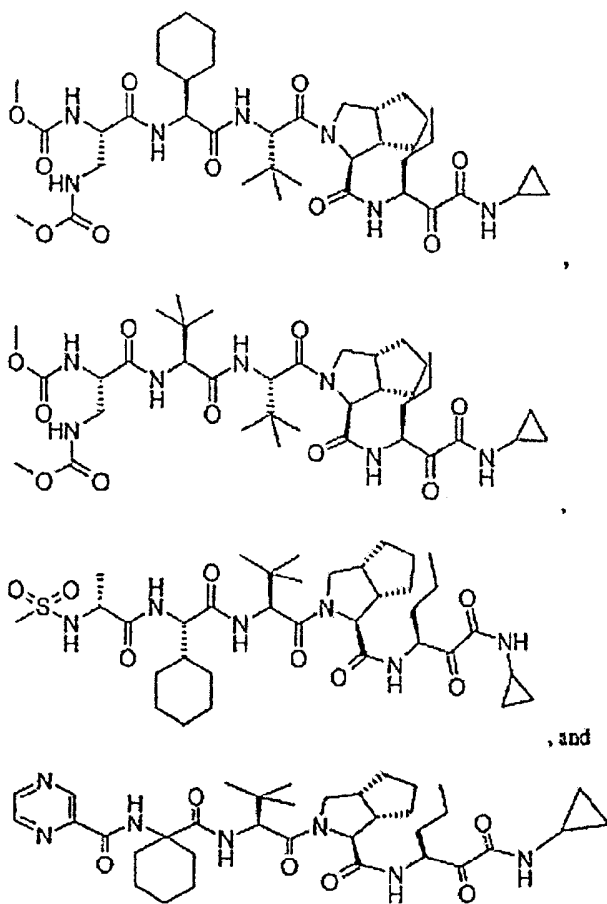




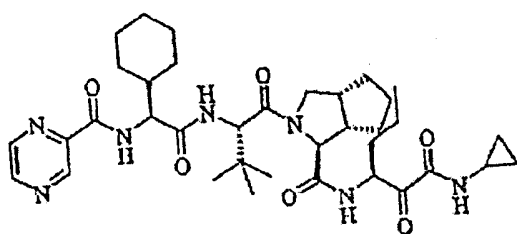








161. Zlúčenina všeobecného vzorca



alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ alebo prekursor alebo solvát takejto zlúčeniny, jej soli alebo jej prekursoru.

162. Zlúčenina podľa nároku 1 alebo 2, kde

- R^0 je väzba;
- R^1 je atóm vodíka;
- R^2 je nižší alkyl prípadne substituovaný 1 až 3 substituentmi alifatických skupín; alebo
- nižší cykloalkyl prípadne substituovaný 1 až 3 substituentmi cyklických skupín;
- R^3 a R^5 sú každý nezávisle metylén prípadne substituovaný 1 až 3 alifatickými substituentmi;
- R^4 , R^6 , R^8 a R^{10} sú atóm vodíka;
- R^7 je metylén substituovaný skupinou cykloalkyl, nižší alkyl alebo aryl; alebo (1,1- alebo 1,2-)cykloalkenyl prípadne substituovaný skupinou cykloalkyl, nižší alkyl alebo aryl;
- R^9 je nižší alkyl prípadne substituovaný 1 až 3 substituentmi alifatických skupín; alebo heteroaryl prípadne substituovaný 1 až 3 substituentmi cyklických skupín; alebo heterocyklická skupina prípadne substituovaná 1 až 3 substituentmi cyklických skupín;



je monocyklický azaheterocyklyl, multicyklický azaheterocyklyl alebo multicyklický azaheterocyklenyl prípadne substituovaný 1 až 3 substituentmi cyklických skupín; a

- L je -C(O)-, -OC(O)-.

163. Zlúčenina podľa nároku 163, kde:

substituenty alifatických skupín znamenajú aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg,

heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), $-C(O)-NHOH$, $-C(O)-CH_2OH$, $-C(O)-CH_2SH$, $-C(O)-NH-CN$, sulfo, fosfono, alkylsulfonylkarbamoyl, tetrazolyl, arylsulfonylkarbamoyl, N-metoxykarbamoyl, heteroarylsulfonylkarbamoyl, 3-hydroxy-3-cyklobutén-1,2-dión, 3,5-dioxo-1,2,4-oxadiazolidinyl alebo hydroxyheteroaryl ako je 3-hydroxyizoxazolyl, 3-hydroxy-1-metylpyrazolyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$), tioxo ($S=$); Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$, $Y^1Y^2NSO_2-$ alebo $Y^3SO_2NY^1-$, kde R^2 je ako tu bolo definované, Y^1 a Y^2 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl, a Y^3 je alkyl, cykloalkyl aryl alebo heteroaryl, alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka, ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl.

substituenty skupiny kruhov znamenajú aryl, heteroaryl, hydroxy, alkoxy, cyklyloxy, aryloxy, heteroaryloxy, acyl alebo jeho tioxo analóg, cyklylkarbonyl alebo jeho tioxo analóg, aroyl alebo jeho tioxo analóg, heteroaroyl alebo jeho tioxo analóg, acyloxy, cyklylkarbonyloxy, aroyloxy, heteroaroyloxy, halogén, nitro, kyano, karboxy (kyselina), kyslý bioster, alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylsulfonyl, cyklylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylsulfinyl, cyklylsulfinyl, arylsulfinyl, heteroarylsulfinyl, alkyltio, cyklyltio, aryltio, heteroaryltio, cyklyl, aryldiazo, heteroaryldiazo, tiol, Y^1Y^2N- , $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, kde Y^1 , Y^2 a Y^3 sú nezávisle atóm vodíka, skupiny alkyl, aryl alebo heteroaryl alebo pokiaľ substituent je Y^1Y^2N- , potom jeden z Y^1 a Y^2 môže byť acyl, cyklylkarbonyl, aroyl, heteroaroyl,

alkoxykarbonyl, cyklyloxykarbonyl, aryloxykarbonyl alebo heteroaryloxykarbonyl, ako tu boli definované a druhý z Y^1 a Y^2 je ako bolo definované vyššie, alebo pokiaľ substituent je $Y^1Y^2NC(O)-$, $Y^1Y^2NC(O)O-$, $Y^1Y^2NC(O)NY^3-$ alebo $Y^1Y^2NSO_2-$, Y^1 a Y^2 môžu tiež spolu s atómom dusíka, ktorým sú Y^1 a Y^2 viazané, vytvárať 4- až 7-členný azaheterocyklyl alebo azaheterocyklenyl, alebo pokiaľ systém kruhov je nasýtený alebo čiastočne nasýtený, "substituenty skupiny kruhov" ďalej zahrňujú metylén ($H_2C=$), oxo ($O=$) a tioxo ($S=$);

aryl znamená aromatický monocyklický alebo multicyklický systém kruhov obsahujúci 6 až 14 atómov uhlíka;

cykloalkyl znamená nearomatický mono- alebo multicyklický systém kruhov s 3 až 10 atómami uhlíka;

cykloalkenyl znamená nearomatický mono- alebo multicyklický systém kruhov s 3 až 10 atómami uhlíka, ktorý obsahuje aspoň jednu dvojitú väzbu uhlík-uhlík;

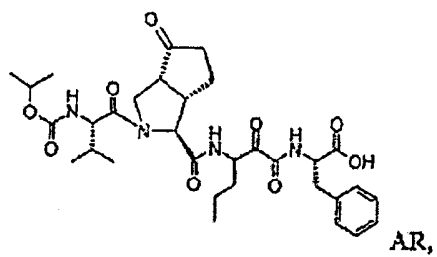
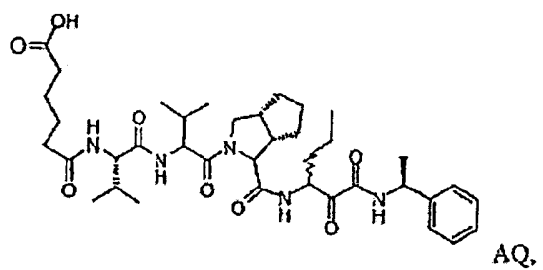
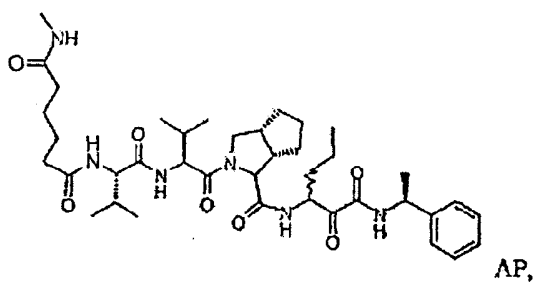
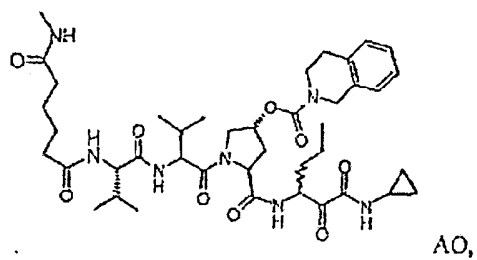
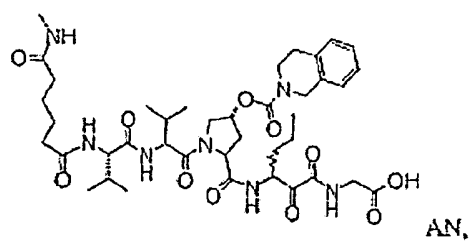
cyklyl znamená cykloalkyl, cykloalkenyl, heterocyklyl alebo heterocyklenyl;

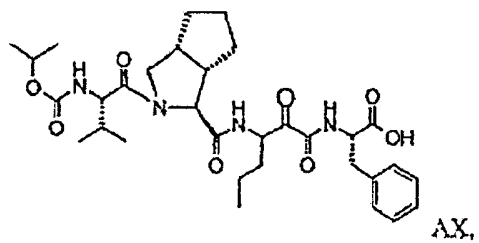
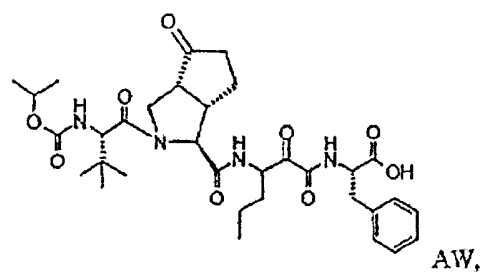
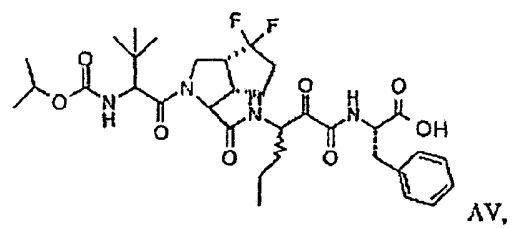
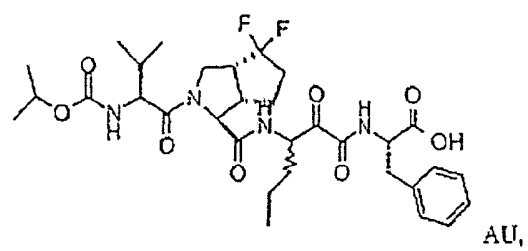
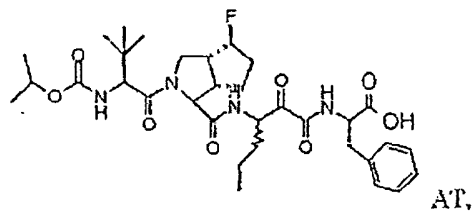
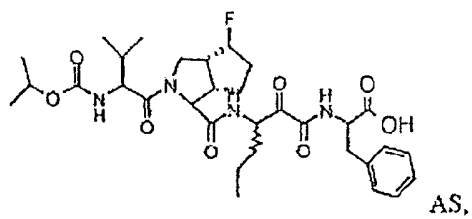
heterocyklyl znamená nearomatický nasýtený monocyklický alebo multicyklický systém kruhov obsahujúci od približne 3 do približne 10 atómov uhlíka, v ktorom jeden alebo viacero atómov v kruhovom systéme je/sú heteroatómy iné ako uhlík; a

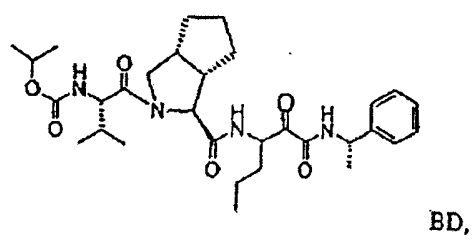
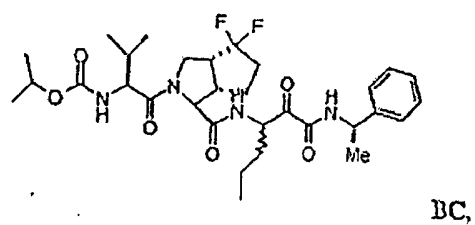
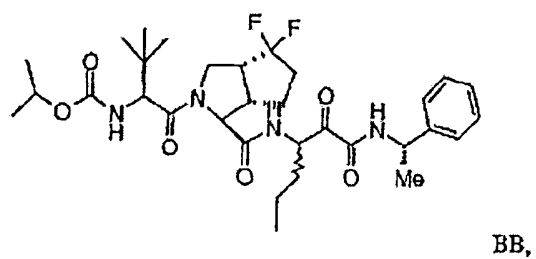
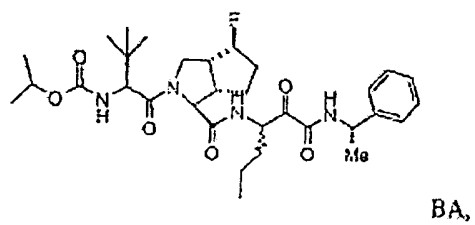
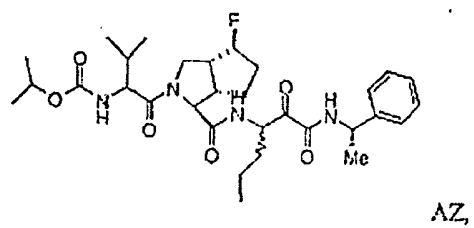
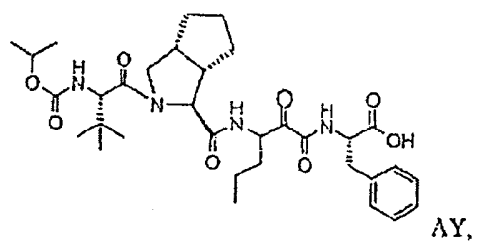
heteroaryl znamená aromatický monocyklický alebo multicyklický systém kruhov s od približne 5 do približne 14 atómami uhlíka, v ktorom jeden alebo viacero atómov v kruhovom systéme je/sú heteroatómy iné ako uhlík.

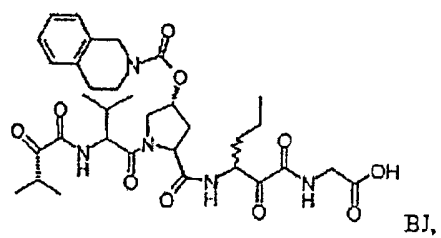
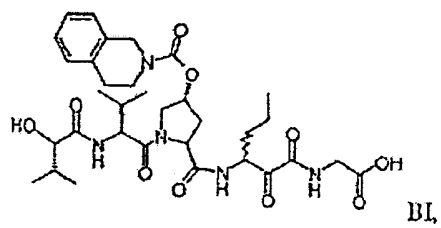
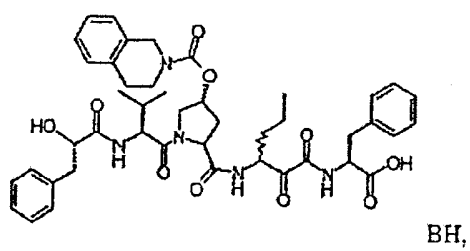
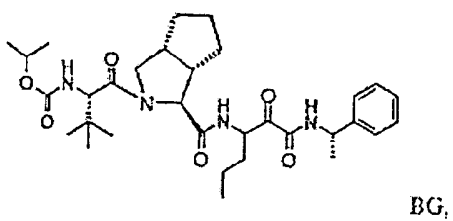
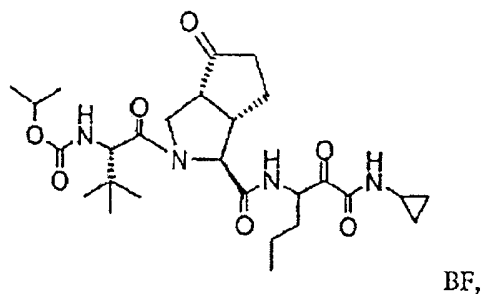
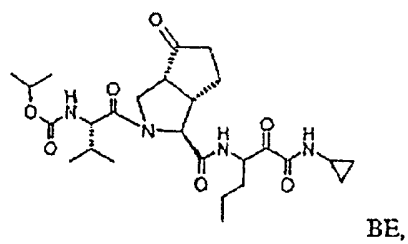
164. Ľubovoľná zlúčenina alebo syntetický medziprodukt opísané v tejto prihláške.

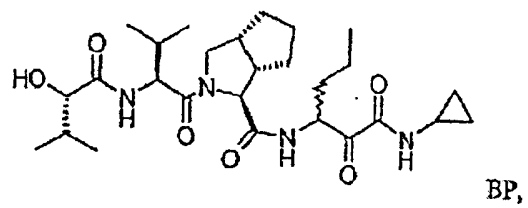
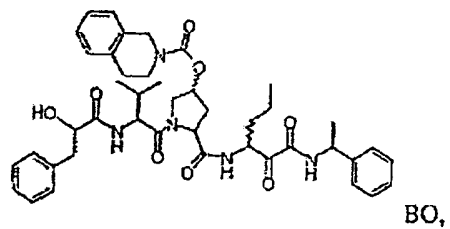
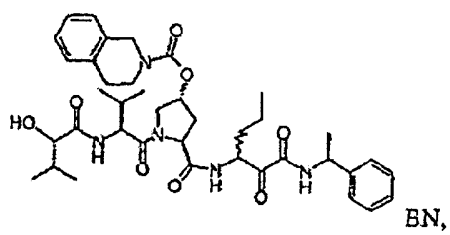
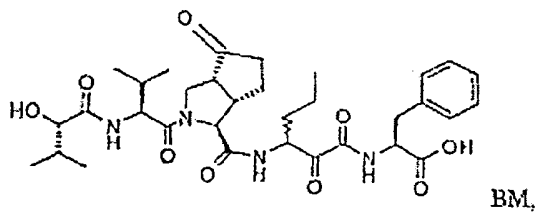
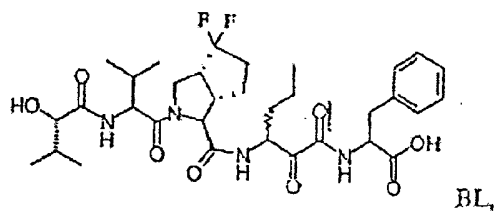
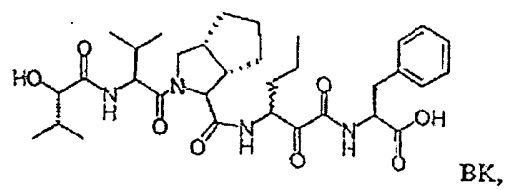
165. Zlúčenina zvolená zo súboru, zahrňujúceho:

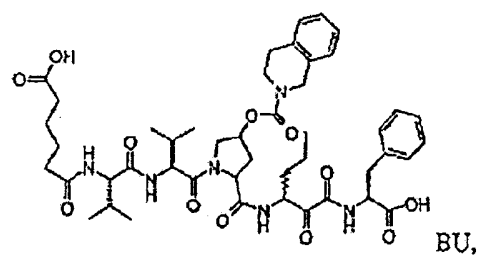
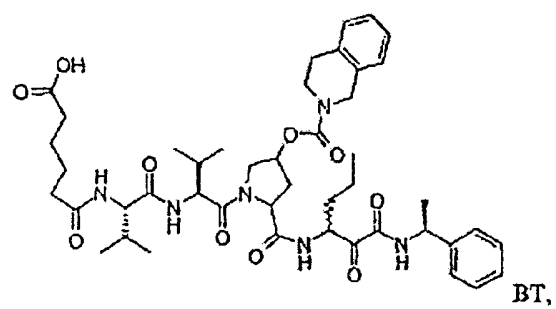
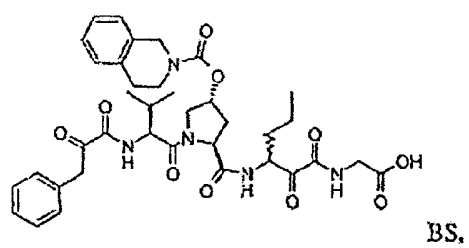
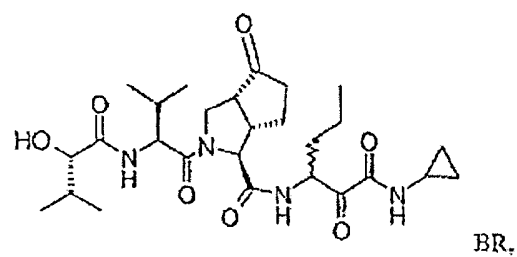
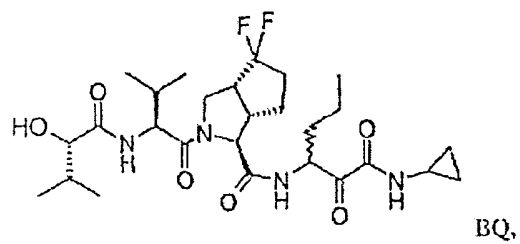


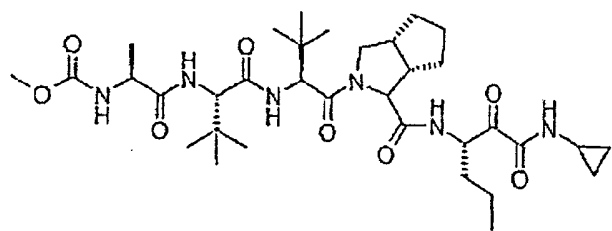




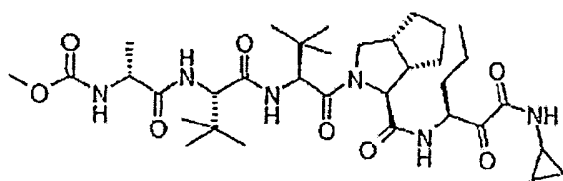




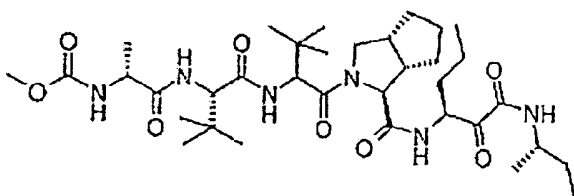




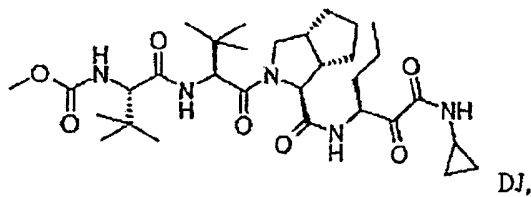
DG,



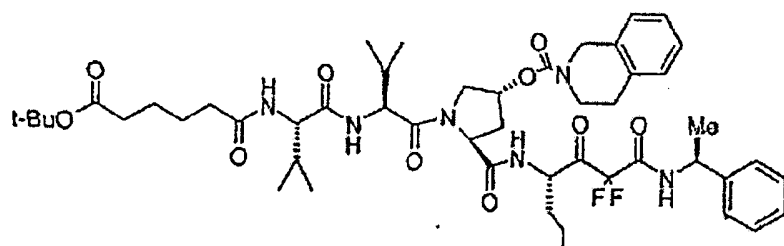
DH,



DI,



DI,



DN,

CCOC(=O)N[C@@H](C)C(=O)N[C@@H](C1CCCCC1)C(=O)N[C@@H](C(C)(C)C)C(=O)N2C(=O)C3C(C2)C[C@H](C3)C(=O)N[C@@H](C)C(=O)N[C@@H](C)C(=O)N4C[C@H](C4)C

EC.

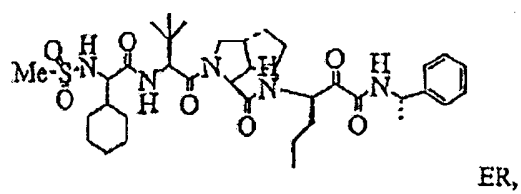
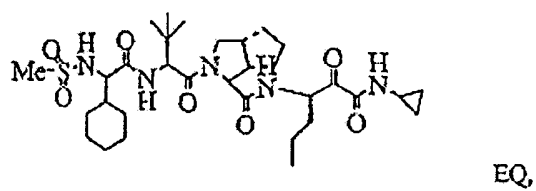
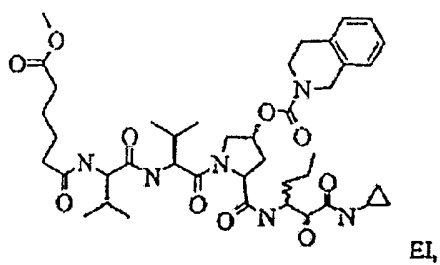
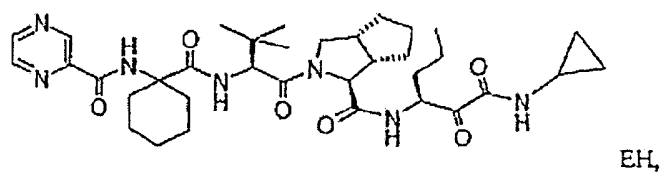
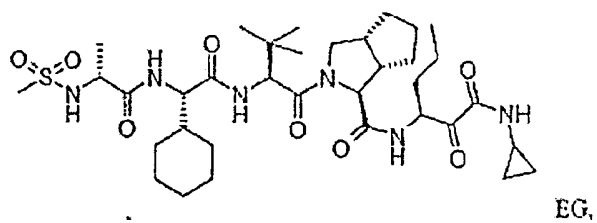
CC(C)OC(=O)N[C@@H](C(=O)N[C@@H](C1CCCCC1)C(=O)N[C@@H](C(C)(C)C)C(=O)N2C(=O)N[C@@H](C2)C(=O)N[C@@H](C(=O)N3CC3)C(=O)N4C(=O)N[C@@H](C4)C(=O)N5C(=O)N[C@@H](C5)C(=O)N6C(=O)N[C@@H](C6)C(=O)N7C(=O)N[C@@H](C7)C(=O)N8C(=O)N[C@@H](C8)C(=O)N9C(=O)N[C@@H](C9)C(=O)N10C(=O)N[C@@H](C10)C(=O)N11C(=O)N[C@@H](C11)C(=O)N12C(=O)N[C@@H](C12)C(=O)N13C(=O)N[C@@H](C13)C(=O)N14C(=O)N[C@@H](C14)C(=O)N15C(=O)N[C@@H](C15)C(=O)N16C(=O)N[C@@H](C16)C(=O)N17C(=O)N[C@@H](C17)C(=O)N18C(=O)N[C@@H](C18)C(=O)N19C(=O)N[C@@H](C19)C(=O)N20C(=O)N[C@@H](C20)C(=O)N21C(=O)N[C@@H](C21)C(=O)N22C(=O)N[C@@H](C22)C(=O)N23C(=O)N[C@@H](C23)C(=O)N24C(=O)N[C@@H](C24)C(=O)N25C(=O)N[C@@H](C25)C(=O)N26C(=O)N[C@@H](C26)C(=O)N27C(=O)N[C@@H](C27)C(=O)N28C(=O)N[C@@H](C28)C(=O)N29C(=O)N[C@@H](C29)C(=O)N30C(=O)N[C@@H](C30)C(=O)N31C(=O)N[C@@H](C31)C(=O)N32C(=O)N[C@@H](C32)C(=O)N33C(=O)N[C@@H](C33)C(=O)N34C(=O)N[C@@H](C34)C(=O)N35C(=O)N[C@@H](C35)C(=O)N36C(=O)N[C@@H](C36)C(=O)N37C(=O)N[C@@H](C37)C(=O)N38C(=O)N[C@@H](C38)C(=O)N39C(=O)N[C@@H](C39)C(=O)N40C(=O)N[C@@H](C40)C(=O)N41C(=O)N[C@@H](C41)C(=O)N42C(=O)N[C@@H](C42)C(=O)N43C(=O)N[C@@H](C43)C(=O)N44C(=O)N[C@@H](C44)C(=O)N45C(=O)N[C@@H](C45)C(=O)N46C(=O)N[C@@H](C46)C(=O)N47C(=O)N[C@@H](C47)C(=O)N48C(=O)N[C@@H](C48)C(=O)N49C(=O)N[C@@H](C49)C(=O)N50C(=O)N[C@@H](C50)C(=O)N51C(=O)N[C@@H](C51)C(=O)N52C(=O)N[C@@H](C52)C(=O)N53C(=O)N[C@@H](C53)C(=O)N54C(=O)N[C@@H](C54)C(=O)N55C(=O)N[C@@H](C55)C(=O)N56C(=O)N[C@@H](C56)C(=O)N57C(=O)N[C@@H](C57)C(=O)N58C(=O)N[C@@H](C58)C(=O)N59C(=O)N[C@@H](C59)C(=O)N60C(=O)N[C@@H](C60)C(=O)N61C(=O)N[C@@H](C61)C(=O)N62C(=O)N[C@@H](C62)C(=O)N63C(=O)N[C@@H](C63)C(=O)N64C(=O)N[C@@H](C64)C(=O)N65C(=O)N[C@@H](C65)C(=O)N66C(=O)N[C@@H](C66)C(=O)N67C(=O)N[C@@H](C67)C(=O)N68C(=O)N[C@@H](C68)C(=O)N69C(=O)N[C@@H](C69)C(=O)N70C(=O)N[C@@H](C70)C(=O)N71C(=O)N[C@@H](C71)C(=O)N72C(=O)N[C@@H](C72)C(=O)N73C(=O)N[C@@H](C73)C(=O)N74C(=O)N[C@@H](C74)C(=O)N75C(=O)N[C@@H](C75)C(=O)N76C(=O)N[C@@H](C76)C(=O)N77C(=O)N[C@@H](C77)C(=O)N78C(=O)N[C@@H](C78)C(=O)N79C(=O)N[C@@H](C79)C(=O)N80C(=O)N[C@@H](C80)C(=O)N81C(=O)N[C@@H](C81)C(=O)N82C(=O)N[C@@H](C82)C(=O)N83C(=O)N[C@@H](C83)C(=O)N84C(=O)N[C@@H](C84)C(=O)N85C(=O)N[C@@H](C85)C(=O)N86C(=O)N[C@@H](C86)C(=O)N87C(=O)N[C@@H](C87)C(=O)N88C(=O)N[C@@H](C88)C(=O)N89C(=O)N[C@@H](C89)C(=O)N90C(=O)N[C@@H](C90)C(=O)N91C(=O)N[C@@H](C91)C(=O)N92C(=O)N[C@@H](C92)C(=O)N93C(=O)N[C@@H](C93)C(=O)N94C(=O)N[C@@H](C94)C(=O)N95C(=O)N[C@@H](C95)C(=O)N96C(=O)N[C@@H](C96)C(=O)N97C(=O)N[C@@H](C97)C(=O)N98C(=O)N[C@@H](C98)C(=O)N99C(=O)N[C@@H](C99)C(=O)N100C(=O)N[C@@H](C100)C(=O)N101C(=O)N[C@@H](C101)C(=O)N102C(=O)N[C@@H](C102)C(=O)N103C(=O)N[C@@H](C103)C(=O)N104C(=O)N[C@@H](C104)C(=O)N105C(=O)N[C@@H](C105)C(=O)N106C(=O)N[C@@H](C106)C(=O)N107C(=O)N[C@@H](C107)C(=O)N108C(=O)N[C@@H](C108)C(=O)N109C(=O)N[C@@H](C109)C(=O)N110C(=O)N[C@@H](C110)C(=O)N111C(=O)N[C@@H](C111)C(=O)N112C(=O)N[C@@H](C112)C(=O)N113C(=O)N[C@@H](C113)C(=O)N114C(=O)N[C@@H](C114)C(=O)N115C(=O)N[C@@H](C115)C(=O)N116C(=O)N[C@@H](C116)C(=O)N117C(=O)N[C@@H](C117)C(=O)N118C(=O)N[C@@H](C118)C(=O)N119C(=O)N[C@@H](C119)C(=O)N120C(=O)N[C@@H](C120)C(=O)N121C(=O)N[C@@H](C121)C(=O)N122C(=O)N[C@@H](C122)C(=O)N123C(=O)N[C@@H](C123)C(=O)N124C(=O)N[C@@H](C124)C(=O)N125C(=O)N[C@@H](C125)C(=O)N126C(=O)N[C@@H](C126)C(=O)N127C(=O)N[C@@H](C127)C(=O)N128C(=O)N[C@@H](C128)C(=O)N129C(=O)N[C@@H](C129)C(=O)N130C(=O)N[C@@H](C130)C(=O)N131C(=O)N[C@@H](C131)C(=O)N132C(=O)N[C@@H](C132)C(=O)N133C(=O)N[C@@H](C133)C(=O)N134C(=O)N[C@@H](C134)C(=O)N135C(=O)N[C@@H](C135)C(=O)N136C(=O)N[C@@H](C136)C(=O)N137C(=O)N[C@@H](C137)C(=O)N138C(=O)N[C@@H](C138)C(=O)N139C(=O)N[C@@H](C139)C(=O)N140C(=O)N[C@@H](C140)C(=O)N141C(=O)N[C@@H](C141)C(=O)N142C(=O)N[C@@H](C142)C(=O)N143C(=O)N[C@@H](C143)C(=O)N144C(=O)N[C@@H](C144)C(=O)N145C(=O)N[C@@H](C145)C(=O)N146C(=O)N[C@@H](C146)C(=O)N147C(=O)N[C@@H](C147)C(=O)N148C(=O)N[C@@H](C148)C(=O)N149C(=O)N[C@@H](C149)C(=O)N150C(=O)N[C@@H](C150)C(=O)N151C(=O)N[C@@H](C151)C(=O)N152C(=O)N[C@@H](C152)C(=O)N153C(=O)N[C@@H](C153)C(=O)N154C(=O)N[C@@H](C154)C(=O)N155C(=O)N[C@@H](C155)C(=O)N156C(=O)N[C@@H](C156)C(=O)N157C(=O)N[C@@H](C157)C(=O)N158C(=O)N[C@@H](C158)C(=O)N159C(=O)N[C@@H](C159)C(=O)N160C(=O)N[C@@H](C160)C(=O)N161C(=O)N[C@@H](C161)C(=O)N162C(=O)N[C@@H](C162)C(=O)N163C(=O)N[C@@H](C163)C(=O)N164C(=O)N[C@@H](C164)C(=O)N165C(=O)N[C@@H](C165)C(=O)N166C(=O)N[C@@H](C166)C(=O)N167C(=O)N[C@@H](C167)C(=O)N168C(=O)N[C@@H](C168)C(=O)N169C(=O)N[C@@H](C169)C(=O)N170C(=O)N[C@@H](C170)C(=O)N171C(=O)N[C@@H](C171)C(=O)N172C(=O)N[C@@H](C172)C(=O)N173C(=O)N[C@@H](C173)C(=O)N174C(=O)N[C@@H](C174)C(=O)N175C(=O)N[C@@H](C175)C(=O)N176C(=O)N[C@@H](C176)C(=O)N177C(=O)N[C@@H](C177)C(=O)N178C(=O)N[C@@H](C178)C(=O)N179C(

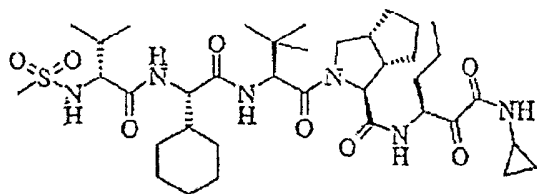
Chemical structure of compound 11b, showing a complex molecule with multiple amide and ester linkages, and various substituents including a cyclohexyl group, a tert-butyl group, and a cyclopropyl group.

COC(=O)N1C(=O)NC(=O)N1C(=O)NC(=O)NC(C)(C)C(=O)NC(C)(C)C(=O)N2C(=O)N3C(=O)C4C(=O)N(C3)C24C(=O)NC(=O)NC5CC5

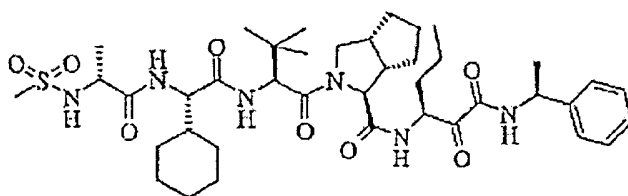
EF,

32069/B

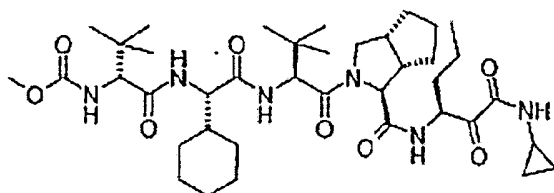




EW,



LX,



FY,

alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ alebo prekursor alebo, solvát takejto zlúčeniny, jej soli alebo jej prekursora.

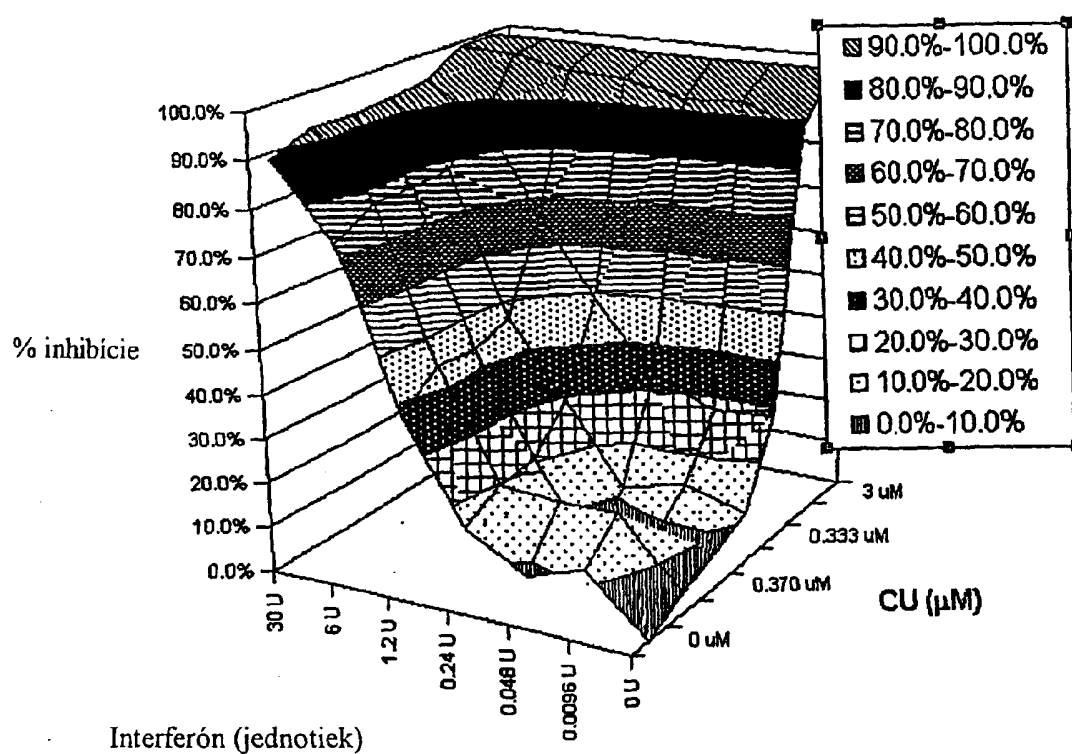
166. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1, 2, 162 alebo 163, kde prípadne substituovaná alifatická skupina, prípadne substituovaná cyklická skupina alebo prípadne substituovaná aromatická skupina R^9 je substituovaná aspoň jedným heteroarylovým substituentom.

167. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1, 2, 162 alebo 163, kde prípadne substituovaná aromatická skupina R^9 je prípadne substituovaný heteroaryl.

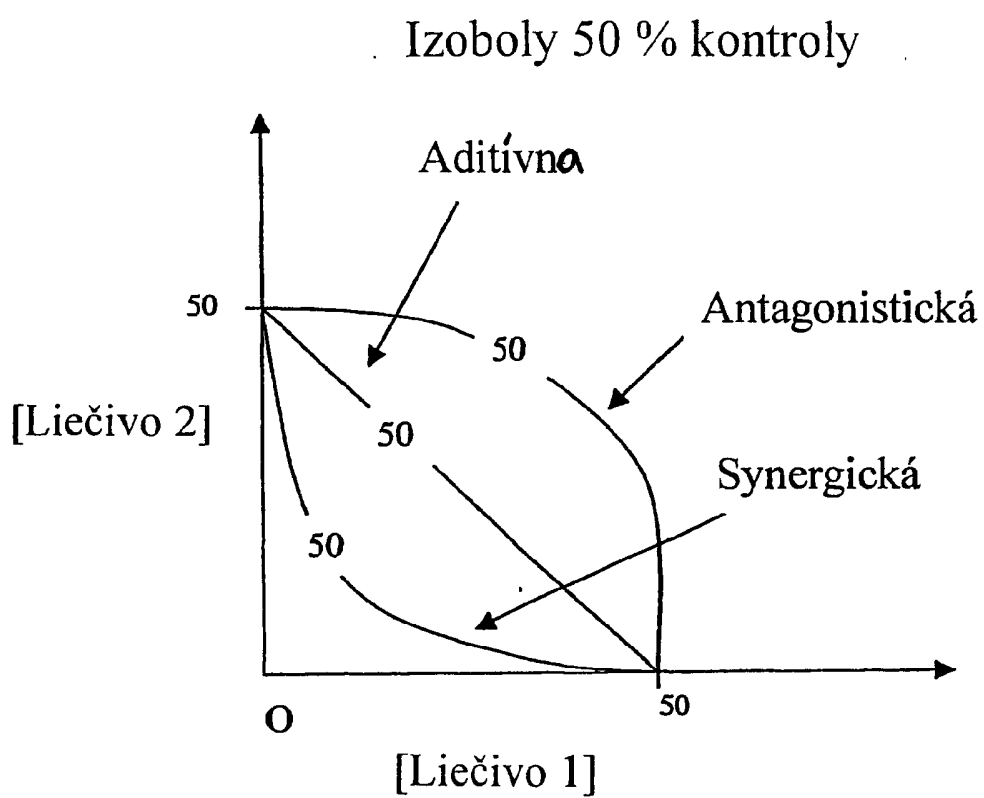
168. Zlúčenina podľa nároku 166, kde prípadne substituovaná alifatická skupina R^9 je prípadne substituovaný alkylheteroaryl.

Obr. 1

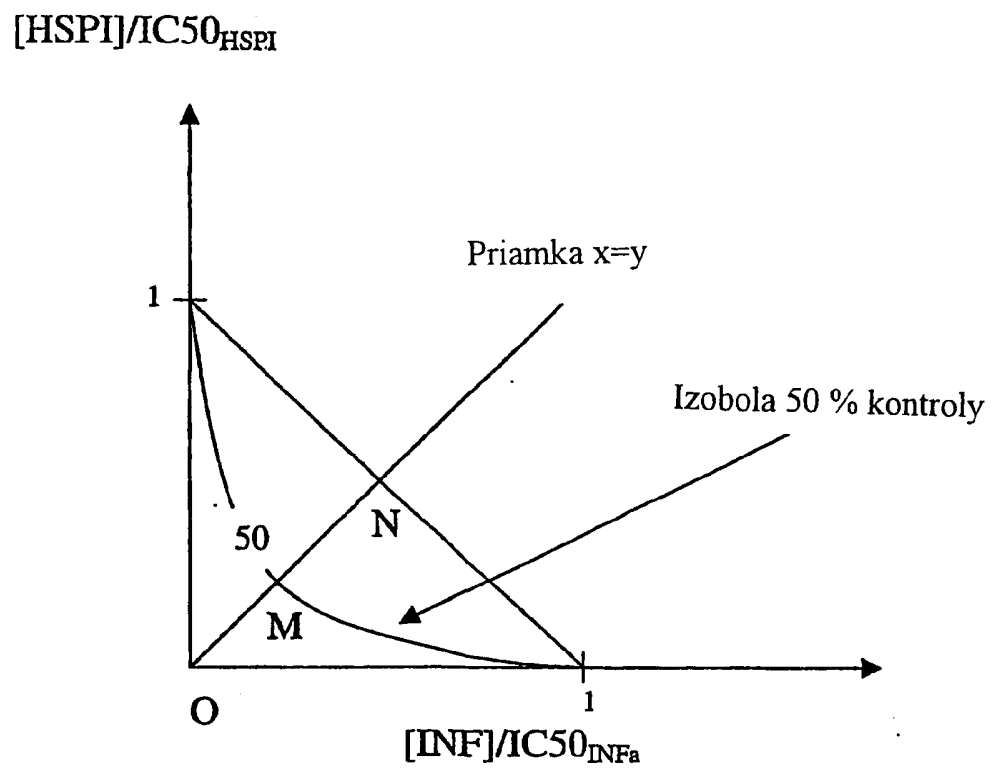
Kombinačná liečba interferénom alfa-2B a zlúčeninou CU



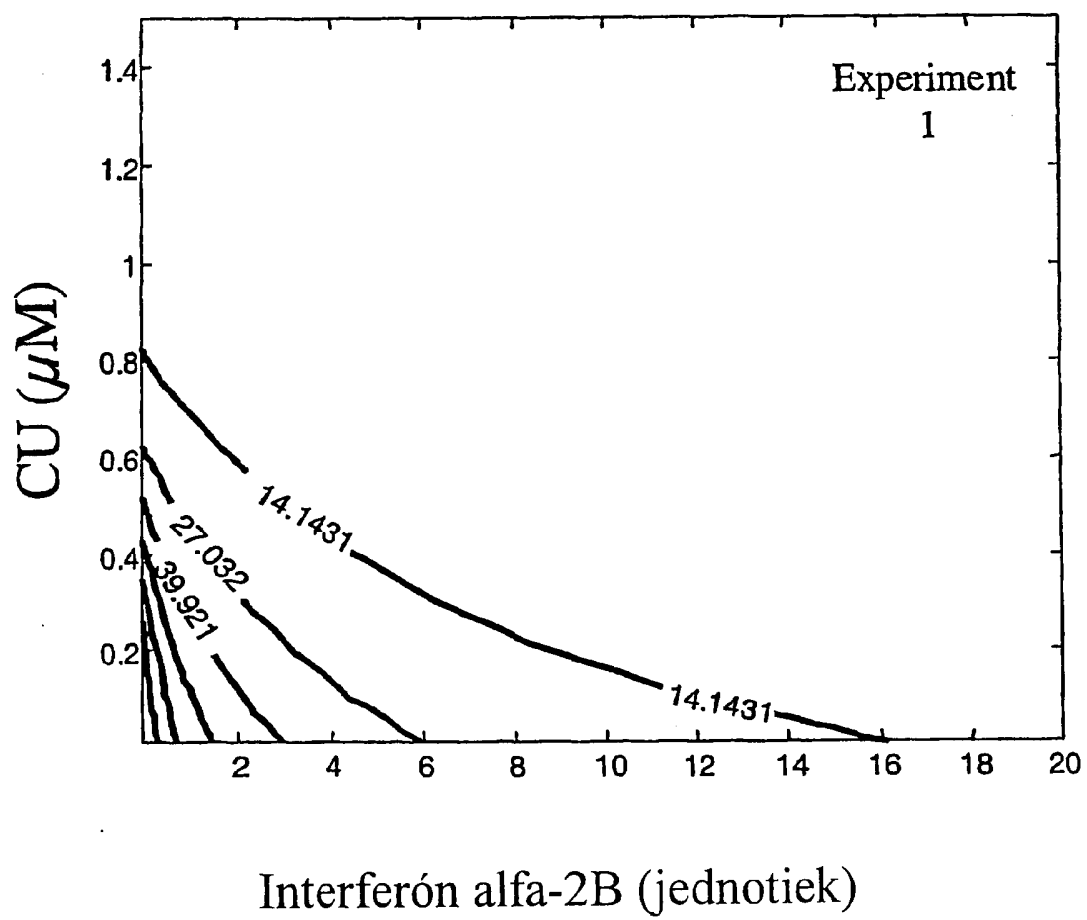
Obr. 2



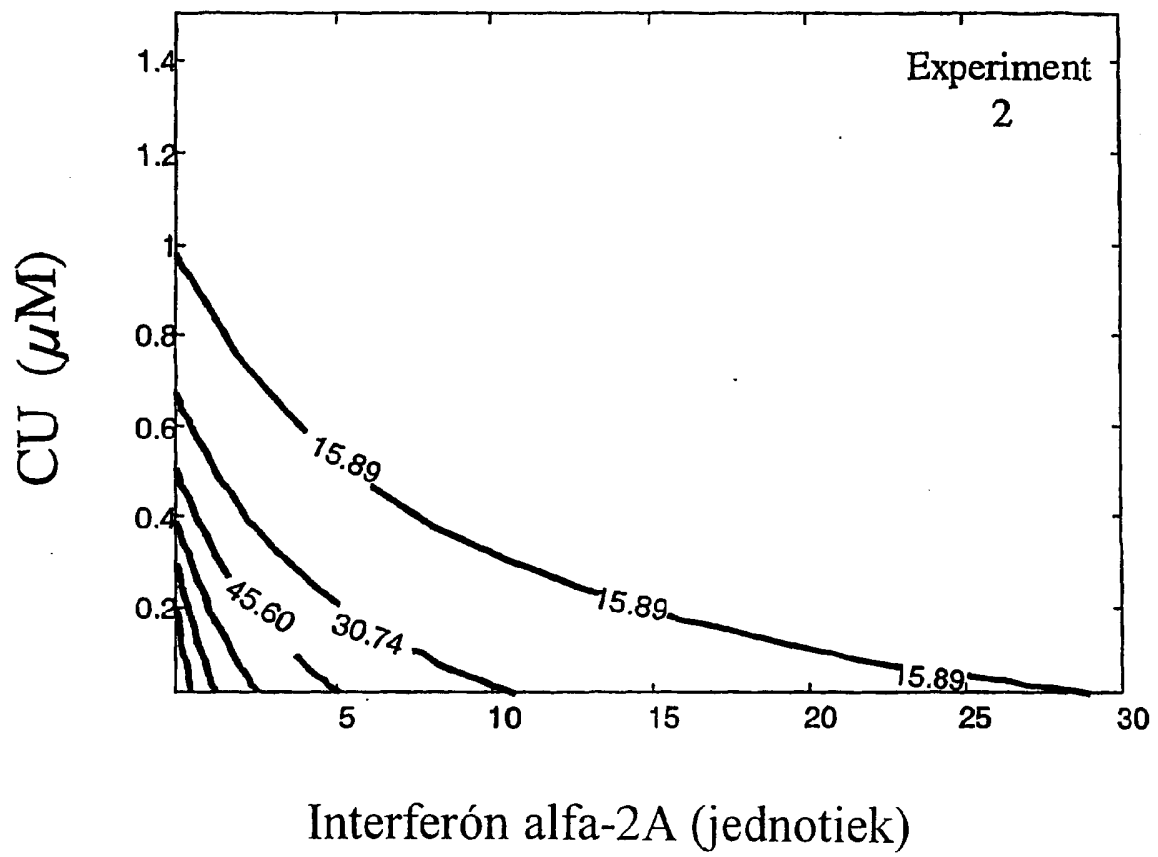
Obr. 3



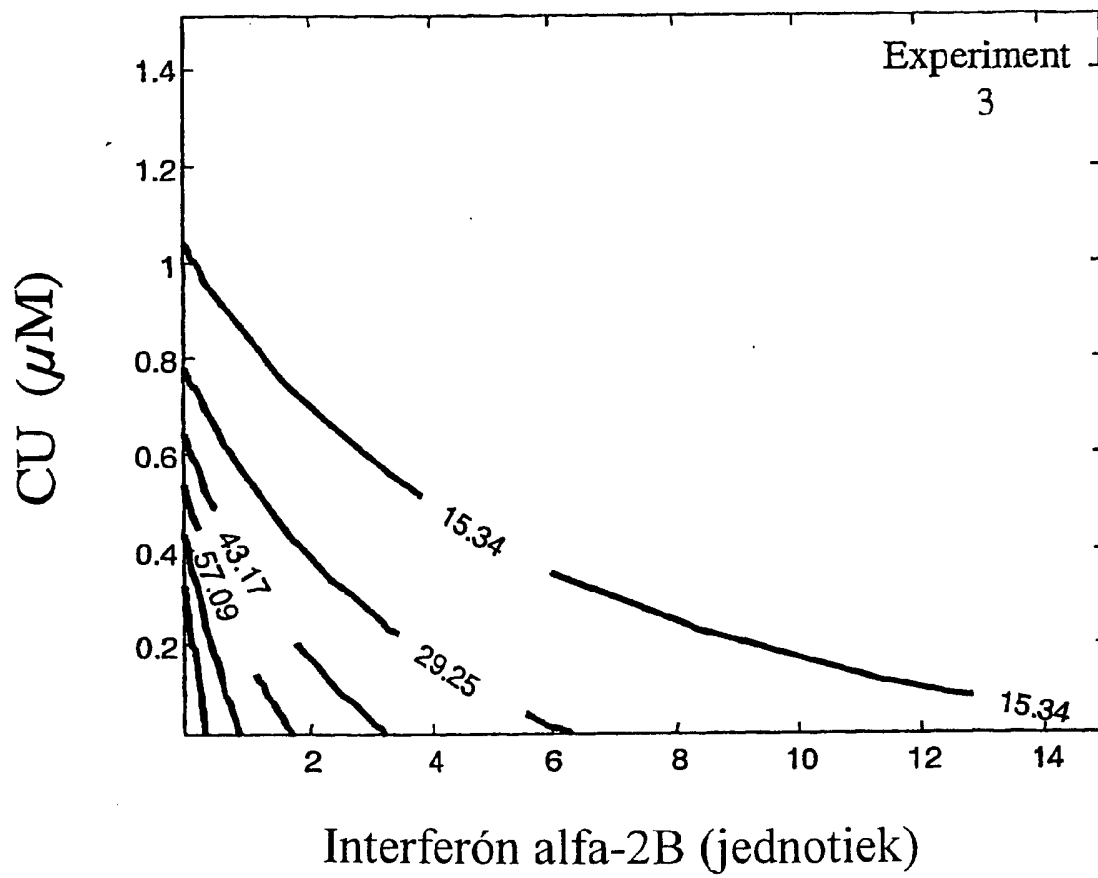
Obr. 4



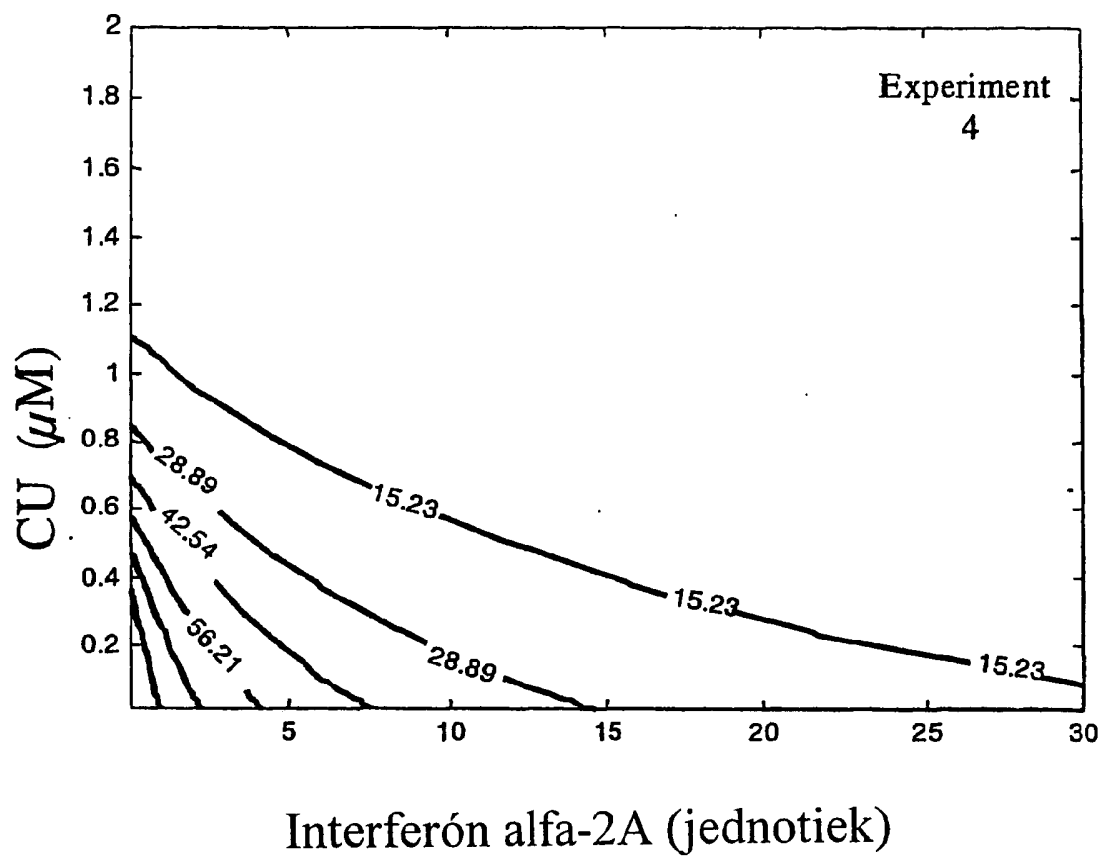
Obr. 5



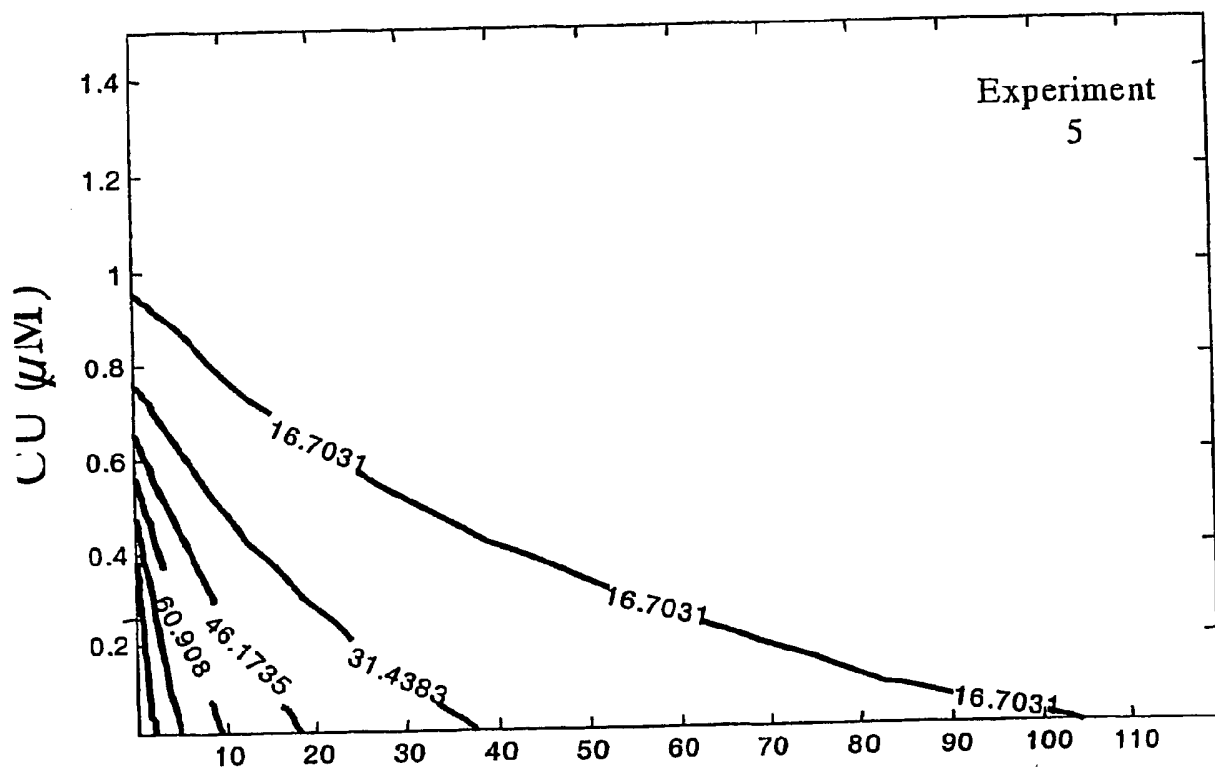
Obr. 6



Obr. 7

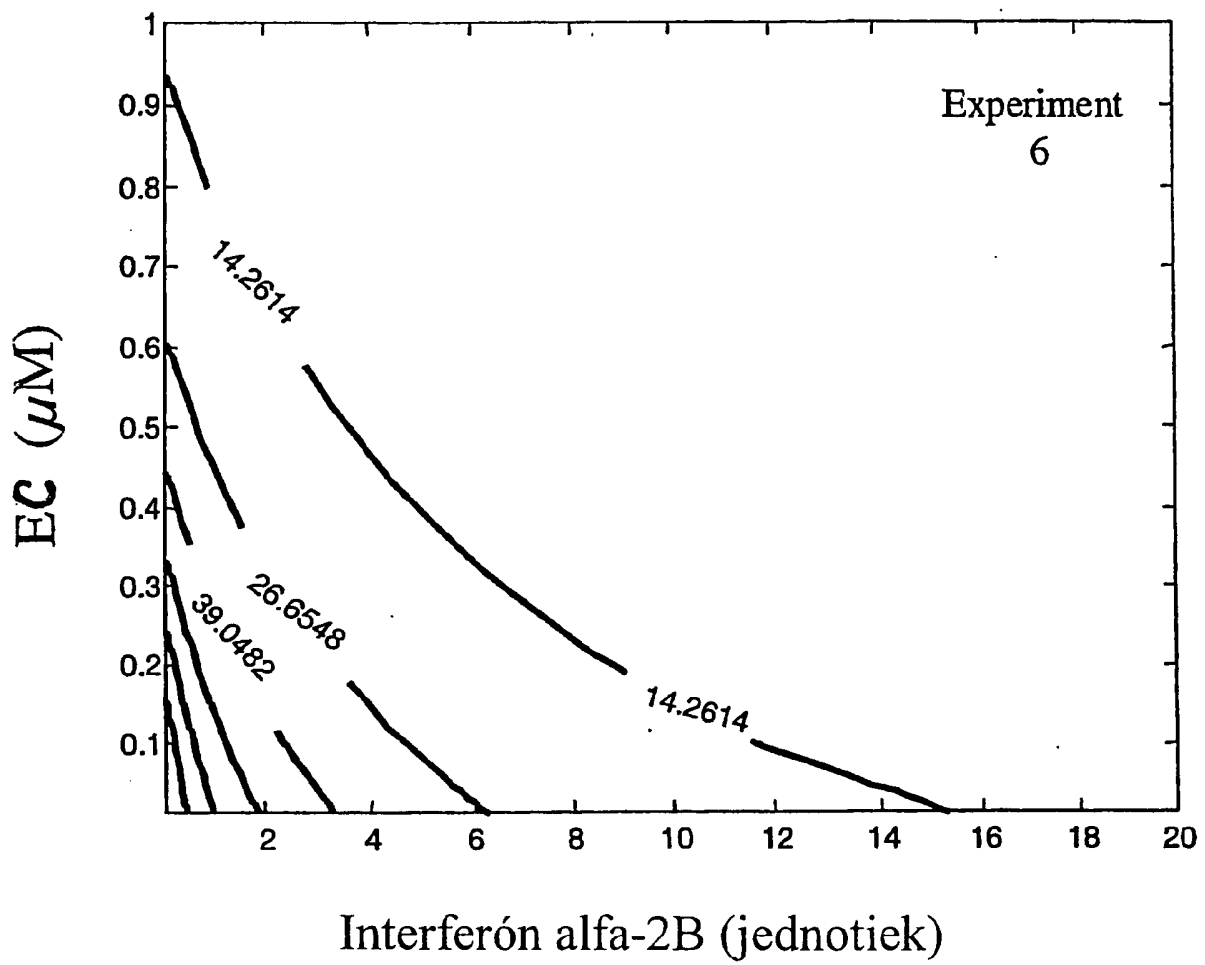


Obr. 8

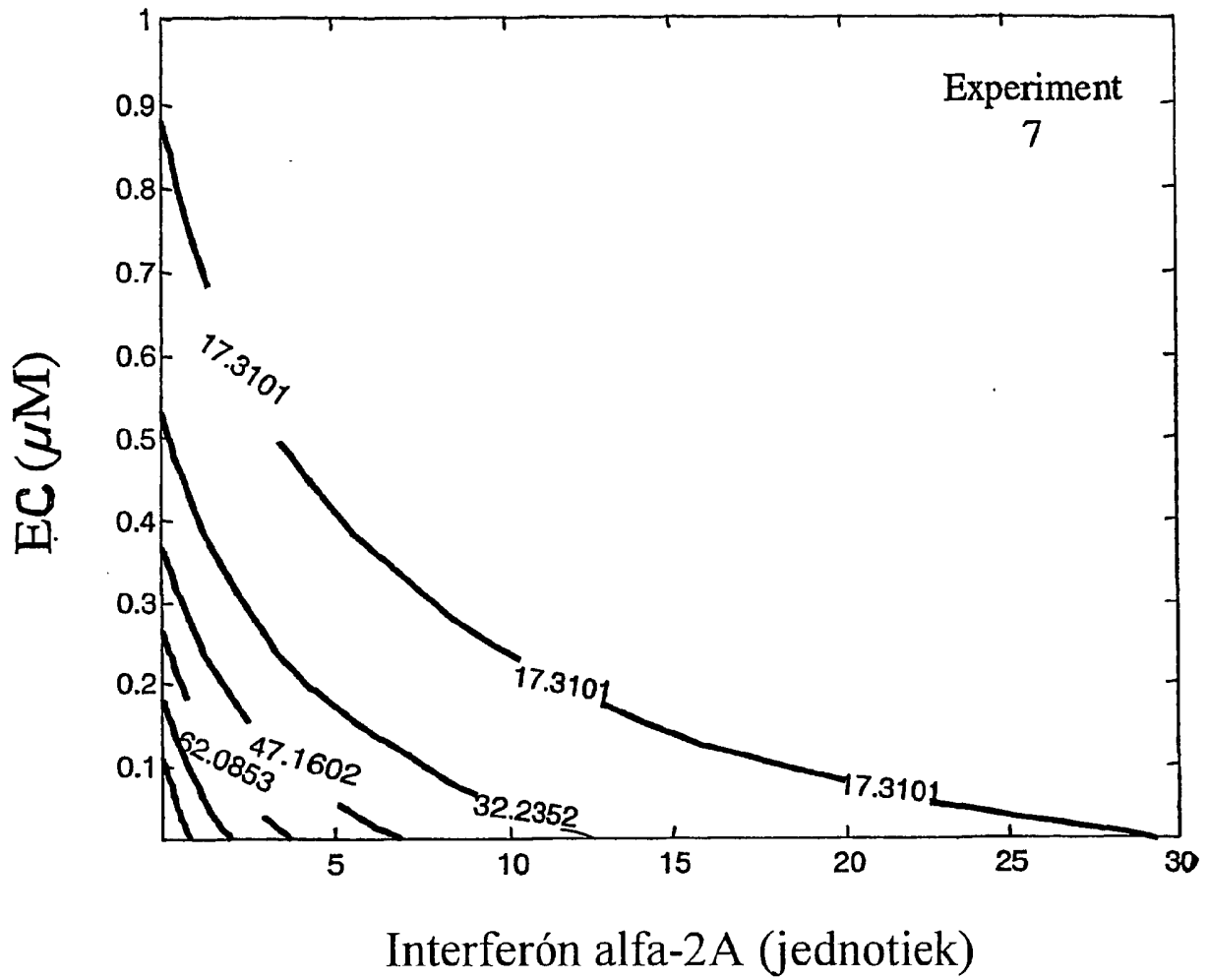


Ovčí interferón tau (jednotiek)

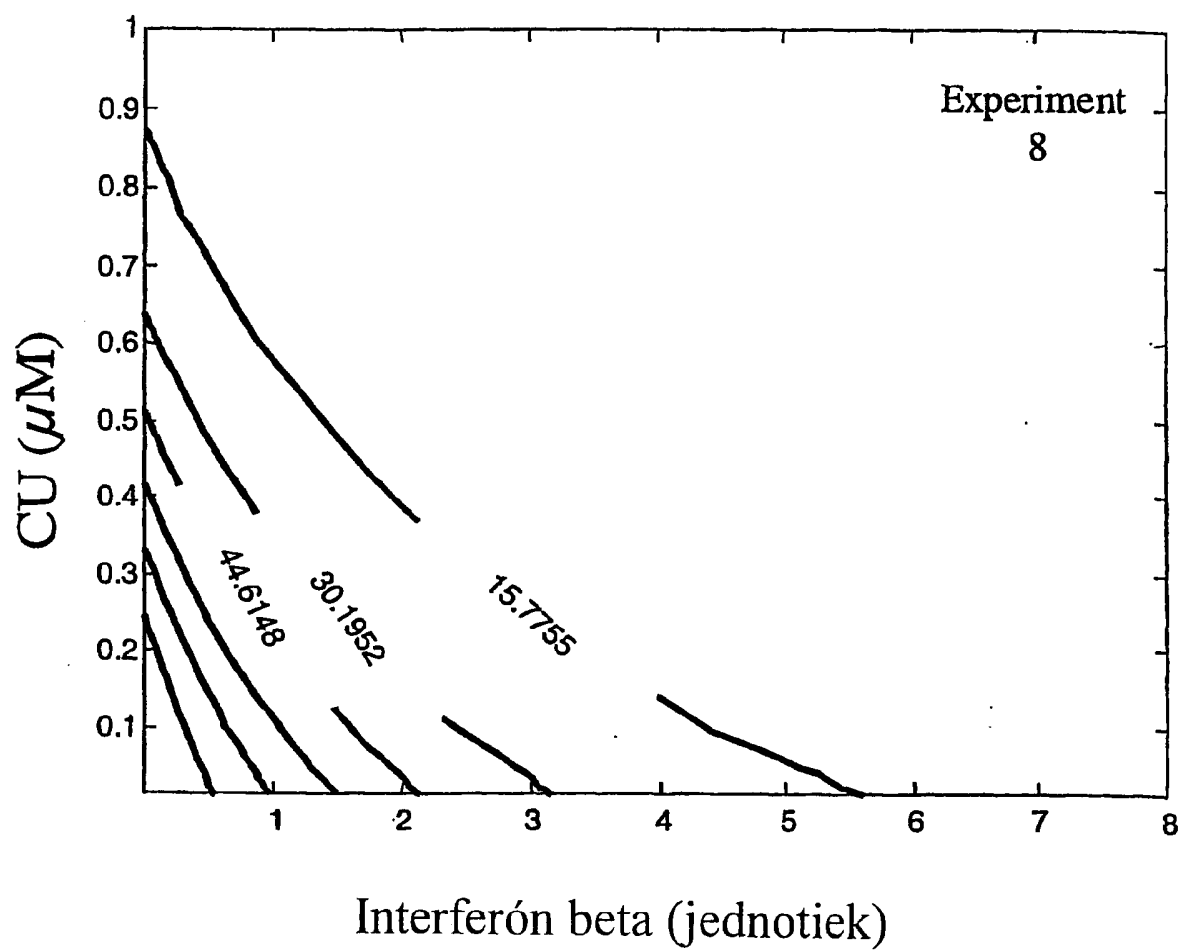
Obr. 9



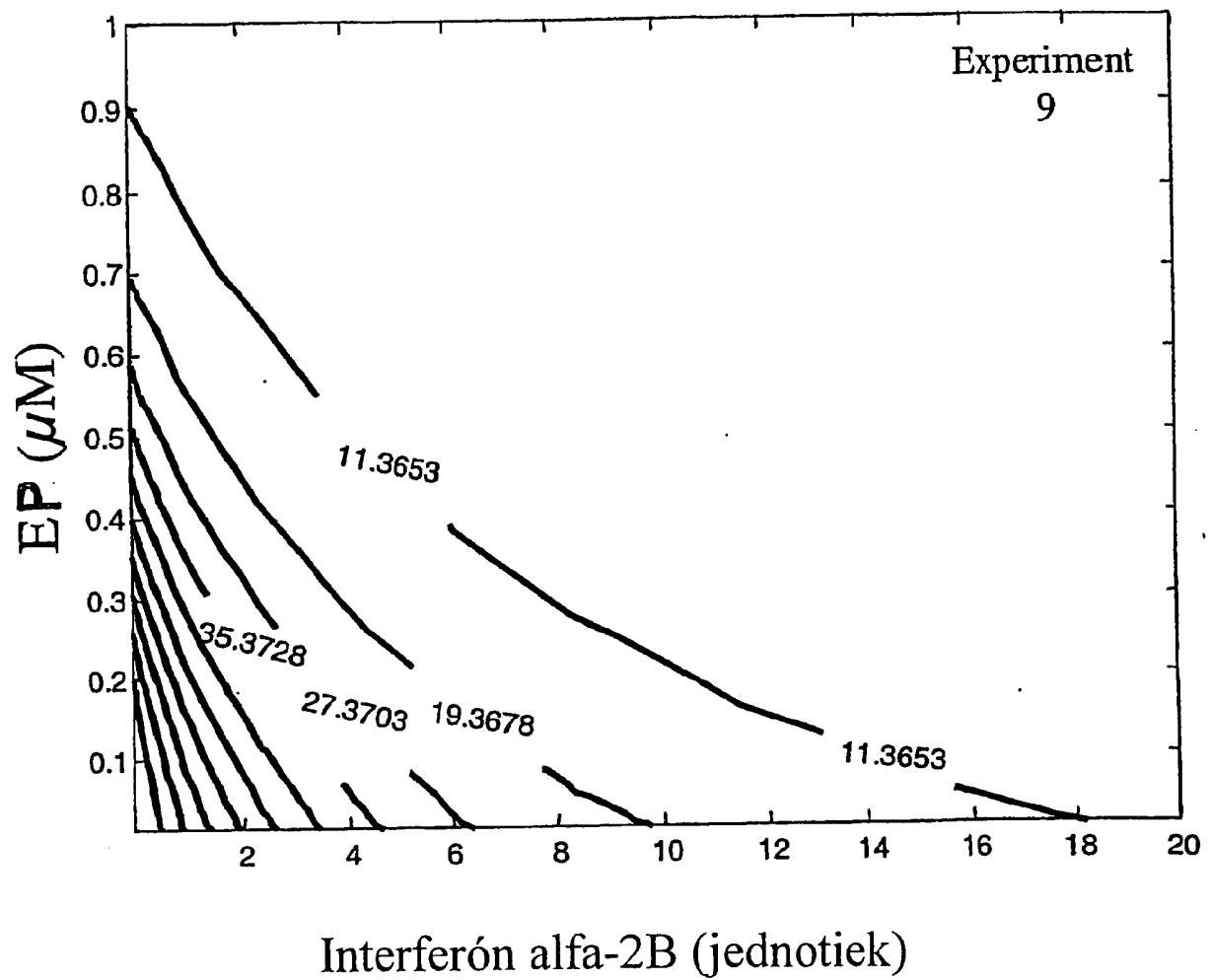
Obr. 10



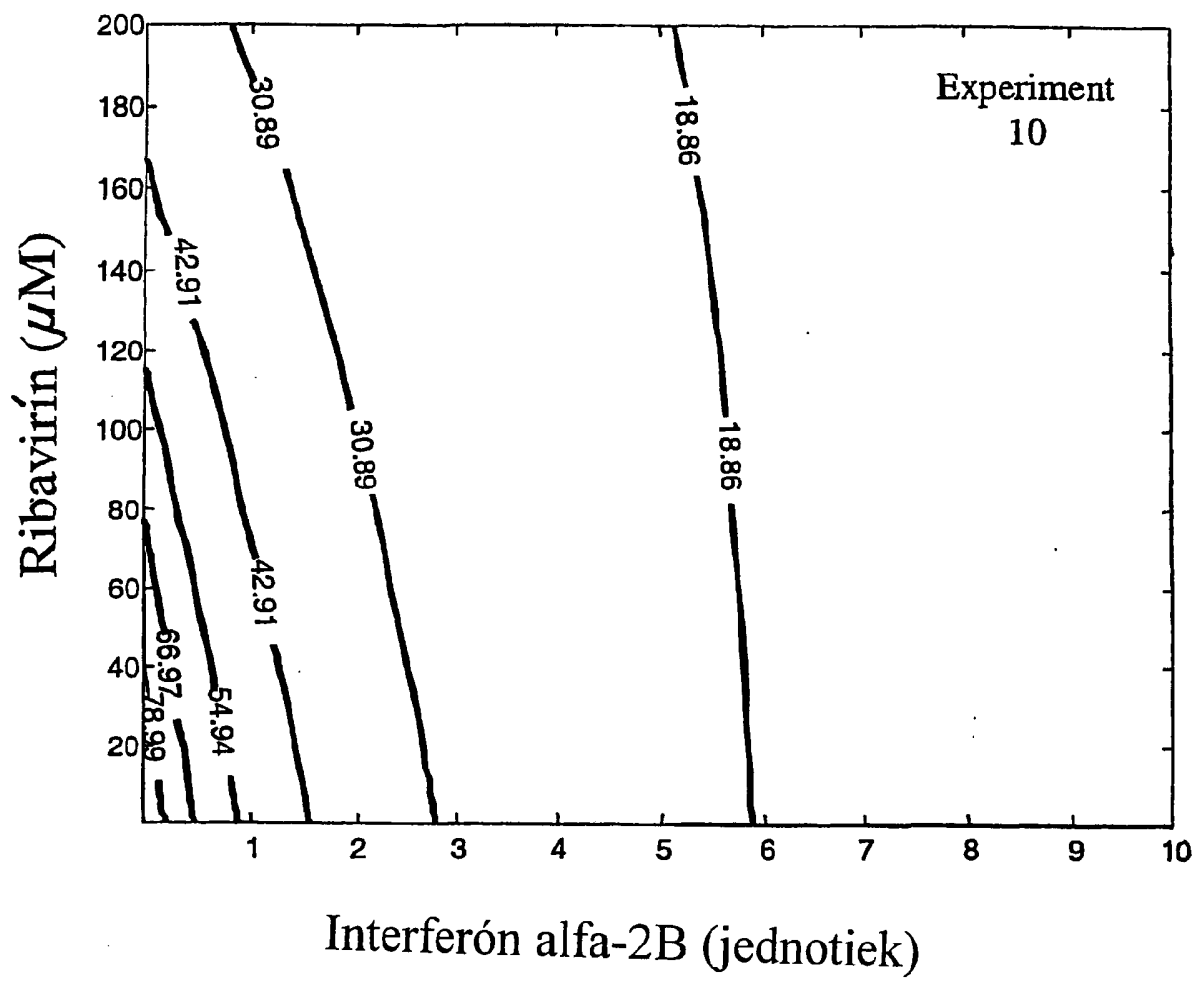
Obr. 11



Obr. 12

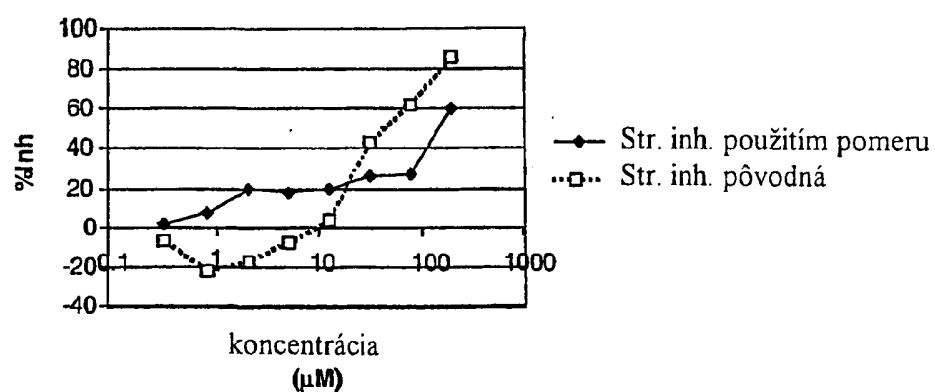


Obr. 13



Obr. 14

A Samotný Ribavirín



B Interferón alfa-2B samotný

