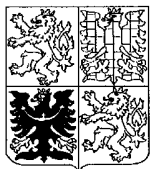


PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: 19.03.1999

(32) Datum podání prioritní přihlášky: 19.03.1998

(31) Číslo prioritní přihlášky: 1998/078770

(33) Země priority: US

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: 17.01.2001
(Věstník č. 1/2001)

(86) PCT číslo: PCT/US99/05919

(87) PCT číslo zveřejnění: WO99/47545

(21) Číslo dokumentu:

2000 - 3409

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 K 5/023	A 61 P 17/00
A 61 K 38/04	A 61 P 19/00
A 61 K 31/47	A 61 P 25/00
A 61 K 38/03	A 61 P 29/00
C 07 D 401/12	A 61 P 35/00
A 61 P 5/48	A 61 P 37/00
A 61 P 7/00	
A 61 P 9/00	

(71) Přihlašovatel:

VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED,
Cambridge, MA, US;

Způsoby přípravy těchto sloučenin.

(72) Původce:

Wannamaker Marion W., Stow, MA, US;
Bemis Guy W., Arlington, MA, US;
Charifson Paul S., Framingham, MA, US;
Lauffer David J., Stow, MA, US;
Mullican Michael D., Needham, MA, US;
Murcko Mark A., Holliston, MA, US;
Wilsom Keith P., Hopkinton, MA, US;
Janetka James W., Waltham, MA, US;
Davies Robert J., Cambridge, MA, US;
Grillot Anne-Laure, Cambridge, MA, US;
Shi Zhan, Shrewsbury, MA, US;
Forster Cornelia J., Pelham, NH, US;

(74) Zástupce:

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

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Inhibitory kaspázy a farmaceutická kompozice,
která je obsahuje**

(57) Anotace:

Nová třída sloučenin, které jsou inhibitory kaspázy, zejména enzymy konvertující interleukin-1b ("ICE"). Farmaceutické kompozice obsahující tyto sloučeniny. Sloučeniny a farmaceutické prostředky podle vynálezu jsou zejména velmi vhodné pro inhibici aktivity kaspázy a v důsledku toho je lze s výhodou použít jako činidel proti onemocněním zprostředkovaným interleukinem-1 ("IL-1"), apoptózou, faktorem vyvolávajícím interferon gama ("IGIF") a interferonem-g (IFN-g), včetně zánětlivých onemocnění, autoimunitních onemocnění, rozkladných onemocnění kostí, proliferativních poruch, infekčních onemocnění a degenerativních onemocnění. Způsoby inhibice aktivity kaspázy a potlačení produkce IGIF a IFN-g a způsoby léčby onemocnění zprostředkovaných interleukinem-1-, apoptózou, IGIF a IFN-g za použití sloučenin a kompozic podle vynálezu.

CZ 2000 - 3409 A3

Inhibitory kaspázy a farmaceutická kompozice, která je obsa-
huje

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká nové třídy sloučenin, které jsou inhibitory kaspázy, zejména enzymu konvertujícího interleukin-1 β („ICE“). Tento vynález se také týká farmaceutických prostředků obsahujících tyto sloučeniny. Sloučeniny a farmaceutické prostředky podle předkládaného vynálezu jsou zejména velmi vhodné pro inhibici aktivity kaspázy a v důsledku toho je lze s výhodou použít jako činidel proti onemocněním zprostředkovaným interleukinem-1 („IL-1“), apoptózou, faktorem vyvolávajícím interferon gama („IGIF“) a interferonem- γ („IFN“), včetně zánětlivých onemocnění, autoimunních onemocnění, rozkladných onemocnění kosti, proliferativních poruch, nakažlivých onemocnění a degenerativních onemocnění. Předkládaný vynález se také týká způsobu inhibice aktivity kaspázy a potlačení produkce IGIF a IFN- γ a způsobu léčby onemocnění způsobených interleukinem-1-, apoptózou, IGIF a IFN- γ za použití sloučenin a prostředků podle předkládaného vynálezu. Předkládaný vynález se také týká způsobu přípravy sloučenin podle vynálezu.

Dosavadní stav techniky

Interleukin 1 („IL-1“) je důležitým prozánětlivým a imunoregulačním proteinem, který stimuluje diferenciaci a proliferaci fibroblastů, produkci prostaglandinů, kolagenasy a fosfolipasy synoviálními buňkami a chondrocyty, degranulaci basofilů a eosinofilů a aktivaci neutrofilů (Oppenheim, J. H. a kol., Immunology Today, 7, str. 45 - 56 (1986)). Jako takový se podílí na patogenezi chronických a akutních zánětlivých a auto-

imunitních onemocnění. Například u revmatoidní arthritidy je IL-1 jak mediátorem zánětlivých symptomů, tak mediátorem rozpadu chrupavkového proteoglykanu v postiženém místě. Wood, D. D. a kol., *Arthritis Rheum.* 26, 975, (1983); Pettipher, E. J. a kol., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71, 295 (1986); Arend, W. P. a Dayer, J. M., *Arthritis Rheum.* 38, 151 (1995). IL-1 je také velmi účinným činidlem vstřebávání kostní tkáně. Jandiski, J. J., *J. Oral. Path.* 17, 145 (1988); Dewhirst, F. E. a kol., *J. Immunol.* 8, 2562 (1985). Alternativně se nazývá jako „aktivační faktor osteoklastu“ při destruktivních onemocněních kosti jako je osteoarthritis a mnohočetný myelom. Bataille, R. a kol., *Int. J. Clin. Lab. Res.* 21(4), 283 (1992). Při určitých proliferčních poruchách, jako je akutní myelogenní leukémie a mnohočetný myelom, může IL-1 podpořit růst a adhezi nádorových buněk. Bani, M. R., *J. Natl. Cancer Inst.* 83, 123 (1991); Vidal-Vanaclocha, F., *Cancer Res.* 54, 2667 (1994). Při těchto poruchách IL-1 také stimuluje vylučování jiných cytokinů, jako je IL-6, které mohou regulovat vývoj nádoru. (Tartour a kol., *Cancer Res.* 54, 6243 (1994). IL-1 je produkován převážně periferními krevními monocyty jako součást zánětlivé odpovědi a vyskytuje se ve dvou odlišných agonistických formách, IL-1 α a IL-1 β (Mosely, B. S. a kol., *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 84 str. 4572 - 4576 (1987); Lonnemann, G. a kol., *Eur. J. Immunol.*, 19, str. 1531 - 1536 (1989)).

IL-1 β je syntetizován jako biologicky neaktivní prekurzor, pIL-1 β . pIL-1 β postrádá konvenční vedoucí sekvenci (leader sequence) a není upravován signální peptidasou (March. C. J., *Nature*, 315, str. 641 - 647 (1985)). Místo toho je pIL-1 β štěpen enzymem konvertujícím interleukin-1 β („ICE“) mezi Asp-116 a Ala-117, čímž vzniká biologicky aktivní C-koncový fragment nacházející se v lidském séru a synoviální kapalině (Sleath,

P. R. a kol., J. Biol. Chem., 265, str. 14526 - 14528 (1992); A. D. Howard a kol., J. Immunol., 147, str. 2964 - 2969 (1991)). ICE je cysteinová proteáza primárně umístěná v monocytech. Převádí prekursor IL-1 β na maturovanou formu. Black, R. A. a kol., FEBS Lett., 247, str. 386-390 (1989); Kostura, M. J. a kol., Proc. Natl. Acad. Sci. United States of America, 86, str. 5227-5231 (1989). Úprava účinkem ICE je rovněž nutná pro transport maturovaného IL-1 β přes buněčnou membránu.

ICE (nebo kaspáza-1) je členem skupiny homologních enzymů nazývaných kaspázy. Tato homologa vykazují sekvenční podobnosti v oblastech aktivního místa enzymů. Tato homologa (kaspázy) zahrnují TX (nebo ICE_{rel-II} nebo ICH-2) (kaspáza-4) (Faucheu, a kol., EMBO J., 14, strana 1914 (1995); Kamens J., a kol., J. Biol. Chem., 270, str. 15250 (1995); Nicholson a kol., J. Biol. Chem., 270 15870 (1995)), TY (nebo ICE_{rel-III}) (kaspáza-5) (Nicholson a kol., J. Biol. Chem., 270, strana 15870 (1995); ICH-1 (nebo Nedd-2) (kaspáza-2) (Wang, L. a kol., Cell, 78, str. 739 (1994)), MCH-2 (kaspáza-6), (Fernandes-Alnemri, T. a kol., Cancer Res., 55, str. 2737 (1995), CPP32 (nebo YAMA nebo apopain) (kaspáza-3) (Fernandes-Alnemri, T. a kol., J. Biol. Chem., 269, str. 30761 (1994); Nicholson, D.W. a kol., Nature, 376, str. 37 (1995)), CMH-1 (nebo MCH-3) (kaspáza-7) (Lippke, a kol., J. Biol. Chem. 271(4), str. 1825-1828 (1996)); Fernandes-Alnemri, T. a kol., Cancer Res., (1995)), Mch5 (kaspáza-8) (Muzio, M. a kol., Cell 85(6), 817-827, (1996)), MCH-6 (kaspáza-9) (Duan, H. a kol., J. Biol. Chem., 271(34), str. 16720-16724 (1996)), Mch4 (kaspáza-10) (Vincenz, C. a kol., J. Biol. Chem., 272, str. 6578-6583 (1997); Fernandes-Alnemri, T. a kol., Proc. Natl. Acad. Sci. 93, str. 7464-7469 (1996)), Ich-3 (kaspáza-11) (Wang, S. a kol., J. Biol. Chem., 271, str. 20580-20587 (1996)), mCASP-12 (kaspáza-12), (Van de Craen, M.

a kol., FEBS Lett. 403, str. 61-69 (1997); Yuan, Y. a Miura, M. PCT přihláška WO95/00160 (1995)), ERICE (kaspáza-13), (Humke, E.W., a kol., J. Biol. Chem., 273(25) str. 15702-15707 (1998)), a MICE (kaspáza-14) (Hu, S. a kol., J. Biol. Chem., 273(45) str. 29648-29653 (1998)).

Každý z těchto homologů a také ICE samotný jsou schopny vyvolat apoptózu, pokud se nadměrně exprimují v transfekovaných buňkách. Inhibice jednoho nebo více těchto homologů inhibitorem peptidyl ICE Tyr-Val-Ala-Asp-chlormethylketonem vede k inhibici apoptózy u primárních buněk nebo buněčných kmenů. Lazebnik a kol., Nature, 371, str. 346 (1994).

Ukázalo se také, že kaspáza je zapojena do řízení programované buněčné smrti nebo apoptózy. Yuan, J. a kol., Cell, 75, str. 641-652 (1993); Miura, M. a kol., Cell, 75, str. 653-660 (1993); Nett-Fiordalisi, M. A. a kol., J. Cell. Biochem., 17B, str. 117 (1993). Zejména se má za to, že ICE nebo homologa ICE souvisí s regulací apoptosy u nerodegenerativních onemocnění, jako je Alzheimerova a Parkinsonova choroba (Marx, J. a M. Baringa, Science, 259, str. 760 - 762 (1993); Gagliardini, V. a kol., Science, 263, str. 826 - 828 (1994)). Léčebné aplikace pro inhibici apoptózy mohou zahrnovat léčbu Alzheimerovy nemoci, Parkinsonovy nemoci, mrtvice, infarktu myokardu, atrofie páteře a stárnutí.

Ukázalo se, že ICE zprostředkuje apoptózu (programovaná buněčná smrt) u určitých typů tkání. Steller, H., Science, 267, str. 1445 (1995); Whyte, M. a Evan, G., Nature, 376, str. 17 (1995); Martin, S.J. a Green, D.R., Cell, 82, str. 349 (1995); Alnemri, E.S., a kol., J. Biol. Chem., 270, str. 4312 (1995); Yuan, J. Curr. Opin, Cell Biol., 7, str. 211 (1995). Transgenní myš s přerušným ICE genem je deficientní při apoptóze

zprostředkované Fas (Kuida, K. a kol., Science 267, 2000 (1995)). Tato aktivita ICE je odlišná od aktivity jako enzymu pro zpracování pro-IL-1 β . Je možné, že u určitých typů tkání nemusí inhibice ICE ovlivňovat sekreci maturovaného IL-1 β , ale může inhibovat apoptózu.

Enzymaticky aktivní ICE byl již dříve popsán jako heterodimer složený ze dvou podjednotek, p20 a p10 (s molekulovou hmotností 20 kDa respektive 10 kDa). Tyto podjednotky jsou odvozeny od proenzymu o hmotnosti 45 kDa (p45) přes formu p30, pomocí aktivačního mechanismu, který je autokatalytický (Thornberry, N. A. a kol., Nature, 356, str. 768 - 774 (1992)). Proenzym ICE je rozdělen na několik funkčních domén: prodoménu (p14), podjednotku p22/20, polypeptidovou spojku a podjednotku p10 (Thornberry a kol., viz výše; Casano a kol., Genomics, 20, str. 474 - 481 (1994)).

p45 o plné délce byl charakterizován pomocí své cDNA-sekvence a aminokyselinové sekvence (mezinárodní patentové přihlášky PCT č. WO 91/15577 a WO 94/00154). Známé jsou i cDNA-sekvence a aminokyselinové sekvence p20 a p10 (Thornberry a kol., viz výše). Sekvenovány a klonovány byly rovněž myší a krysí ICE. Vykazují vysokou homologii aminokyselinové sekvence a sekvence nukleové kyseliny s lidským ICE (Miller, D. K. a kol., Ann. N.Y. Acad. Sci., 696, str. 133 - 148 (1993); Molineaux, S. M. a kol., Proc. Nat. Acad. Sci., 90, str. 1809-1813 (1993)). Pomocí rozlišení atomů za použití rentgenové krystalografie byla určena trojrozměrná struktura ICE. Wilson, K.P., a kol., Nature, 370, str. 270-275 (1994). Aktivní enzym se vyskytuje jako tetramer dvou p20 a dvou p10 podjednotek.

V nedávné době byly do konverze pro-IGIF na IGIF nebo do produkce IFN- γ *in vivo* zapojeny ICE a další členy skupiny ICE/

CED-3 (PCT patentová přihláška PCT/US96/20843, přihláška WO 97/22619, které jsou zde uvedeny jako odkaz). IGIF se syntetizuje *in vivo* jako prekurzor proteinu „pro-IGIF“.

Faktor vyvolávající interferon gama (IGIF) je přibližně 18-kDa polypeptid, který stimuluje vylučování interferonu gama (IFN γ) T-buňkami. IGIF je vylučován aktivovanými Kupfferovými buňkami a makrofágy *in vivo* a z těchto buněk je přenášen za stimulace endotoxinu. Tedy, sloučeniny, které potlačují vylučování IGIF, mohou být užitečné jako inhibitory takové stimulace buněk T, což může snížit hladinu vylučování IFN- γ těmito buňkami.

IFN- γ je cytokin s imunomodulačními účinky na různé imunní buňky. IFN- γ je zapojen zejména do aktivace makrofágu a výběru Th1 buněk (F. Belardelli, APMIS, 103, str. 161 (1995)). IFN- γ uplatňuje svůj účinek zejména pomocí modulace vylučování genů přes STAT a IRF dráhy (C. Schindler a J.E. Darnell, Ann. Rev. Biochem., 64, str. 621 (1995); T. Taniguchi, J. Cancer Res. Clin. Oncol., 121, str. 516 (1995)).

Myši, které mají nedostatek IFN- γ nebo jeho receptoru, mají mnohonásobné poruchy funkce imunních buněk a jsou odolné k endotoxickému šoku (S. Huang a kol., Science, 259, str. 1742 (1993); D. Dalton a kol., Science, 259, str. 1739 (1993); B. D. Car a kol., J. Exp. Med., 179, str. 1437 (1994)). Ukazuje se, že stejně jako IL-12, i IGIF vykazuje schopnost vyvolat produkci IFN- γ buňkami T (H. Okamura a kol., Infection and Immunity, 63, str. 3966 (1995); H. Okamura a kol., Nature, 378, str. 88 (1995); S. Ushio a kol., J. Immunol., 156, str. 4274 (1996)).

Ukázalo se, že IFN- γ přispívá k patologii spojené s různými zánětlivými, nakažlivými a autoimunními poruchami a onemocněními. Tedy, sloučeniny schopné potlačit vylučování IFN- γ by

mohly být využitelné pro zmírnění vlivů onemocnění spojených s IFN- γ .

Proto prostředky a způsoby schopné regulovat převení pro-IGIF na IGIF mohou být využitelné pro potlačení vylučování IGIF a IFN- γ *in vivo* a tedy pro zmírnění škodlivého vlivu těchto proteinů, které přispívají k poruchám a onemocněním člověka.

Inhibitory kaspázy představují třídu sloučenin vhodných pro kontrolu zánětů nebo apoptózy nebo obojího. Jsou popsány peptidové a peptidylové inhibitory ICE (PCT patentové přihlášky WO 91/15577, WO 93/05071, WO 93/09135, WO 93/12076, WO 93/14777, WO 93/16710, WO 95/35308, WO 96/30395, WO 96/33209 a WO 98/01133; Evropské patentové přihlášky 503 561, 547 699, 618 223, 623 592, a 623 606; a US patenty číslo 5,434,248, 5,710,153, 5,716,929, a 5,744,451). Ukázalo se, že tyto peptidylové inhibitory ICE blokují vylučování maturovaného IL-1 β na myším modelu zánětu (viz. výše) a potlačují růst leukemických buněk *in vitro* (Estrov a kol., Blood, 84, 380a (1994)). Avšak díky své peptidické povaze se tyto inhibitory vyznačují nežádoucími farmakologickými vlastnostmi, jako je špatná penetrace do buněk a buněčná aktivita, špatná absorpce při orálním podávání a rychlý metabolismus. (Plattner, J.J. a D.W.Norbeck, Drug Discovery Technologies, C. R. Clark a W. H. Moos (Ellis Horwood, Chichester, Anglie, 1990) str. 92-126. Tyto vlastnosti brání jejich využití jako účinných léčiv.

Je také známo, že ICE inhibují *in vitro* také nepeptidylové sloučeniny. PCT patentová přihláška WO 95/26958; US patent 5,552,400; Dolle a kol., J. Med. Chem., 39, str. 2438-2440 (1996).

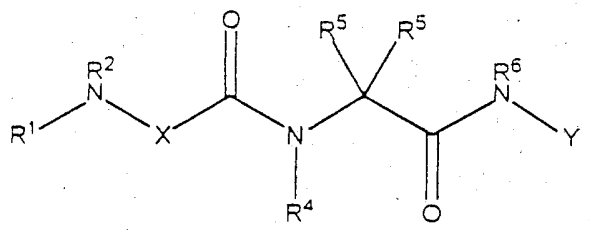
Není však jasné, zda tyto sloučeniny mají vhodný farmakologický profil pro terapeutické využití.

Existuje tedy potřeba sloučenin, které budou účinně inhibovat kaspázu a které budou mít výhodnou *in vivo* aktivitu pro použití jako činidel pro prevenci a léčbu chronických a akutních forem onemocnění zprostředkovaných IL-1, apoptózou, IGIF a IFN- γ , a také zánětlivých onemocnění, autoimunních onemocnění, rozkladných onemocnění kosti, proliferativních poruch, nakažlivých onemocnění a degenerativních onemocnění.

Podstata vynálezu

Předkládaný vynález poskytuje novou třídu sloučenin a jejich farmaceuticky přijatelných derivátů, které jsou využitelné jako inhibitory kaspázy, zejména inhibitory ICE. Tyto sloučeniny mohou být použity samotné nebo ve spojení s jinými léčebnými nebo profylaktickými činidly jako jsou antibiotika, imunomodulátory nebo jiná protizánětlivá činidla, pro léčbu nebo profylaxi onemocnění zprostředkovaných IL-1, apoptózou, IGIF nebo IFN- γ . V souladu s výhodným provedením jsou sloučeniny podle předkládaného vynálezu schopny vázat se na aktivní místo kaspázy a inhibovat aktivitu tohoto enzymu.

Předmětem podle předkládaného vynálezu je poskytnout novou třídu sloučenin obecného vzorce I, které mají výhodné *in vivo* profily:



kde jsou různé substituenty popsány podle předkládaného vynálezu.

Dalším předmětem podle předkládaného vynálezu je poskytnout farmaceutické kompozice, včetně mnohasložkových kompozic.

Předkládaný vynález také poskytuje způsoby použití a přípravy sloučenin podle předkládaného vynálezu a podobných sloučenin.

Podrobný popis vynálezu

Aby mohl být vynález lépe pochopen, následuje podrobný popis.

V předkládaném vynálezu se používají následující zkratky a definice.

Zkratky:

Ac ₂ O	anhydrid kyseliny octové
MeCn	acetonitril
AMC	aminomethylkumarin
n-Bu	normální butylová skupina
DMF	dimethylformamid
DIEA	N,N-diisopropylethylamin
DMA	N,N-dimethylacetamid
EDC	hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethyl- karbodiimidu
Et ₂ O	diethylether
EtOAc	ethylacetát
Fmoc	9-fluorenylmethoxykarbonyl
HBTU	O-benzotriazol-1-yl-N,N,N',N'- tetramethyluronium hexafluorofosfát
HOBT	hydrát 1-hydroxybenzotriazolu
MeOH	methanol
NMP	N-methylpyrrolidon
TFA	kyselina trifluoroctová
pNA	p-nitroanilin

Definice

Termín „kaspáza“ znamená enzym, který je členem skupiny enzymů, které zahrnují ICE (viz. H. Hara, Ntl. Acad. Sci., 94, str. 2007-2012 (1997)).

Termíny „HBV“, „HCV“, a „HGV“ znamenají virus hepatitidy-B, virus hepatitidy-C a virus hepatitidy-G.

Termín „ K_i “ znamená číselnou míru účinnosti sloučeniny inhibující aktivitu cílového enzymu, jako je ICE. Nižší hodnoty K_i znamenají vyšší účinnost. Hodnota K_i je odvozena pomocí úpravy experimentálně zjištěných údajů podle standardních rovnic pro kinetiku enzymů (viz. I. H. Segel, Enzyme Kinetics, Wiley-Interscience, 1975).

Termín „faktor indukující interferon gama“ nebo „IGIF“ znamená faktor, který je schopen vyvolat endogenní produkci IFN- γ .

Termín „inhibitor kaspázy“ znamená sloučeninu, která je schopna vykázat detekovatelnou inhibici jedné nebo více kaspáz. Termín „inhibitor ICE“ znamená sloučeninu, která je schopna inhibovat enzym ICE a popřípadě dále jednu nebo více dalších kaspáz. Inhibice ICE může být určena za použití postupů popsaných a uvedených jako odkazy.

Odborníci zjistili, že *in vivo* inhibitor enzymu není nutně *in vitro* inhibitorem enzymu. Například proléková forma sloučeniny typicky vykazuje nízkou nebo žádnou aktivitu při *in vitro* testech. Takové prolékové formy mohou být přeměněny pomocí metabolického nebo jiného biochemického postupu v těle pacienta za získání *in vivo* inhibitoru ICE.

Termín „cytokin“ znamená molekulu, která zprostředkuje interakce mezi buňkami.

Termín „stav“ znamená jakékoli onemocnění, poruchu nebo účinek, který způsobuje škodlivé biologické následky pro subjekt.

Termín „subjekt“ znamená živočicha nebo jednu nebo více buněk živočišného původu. S výhodou je živočichem savec, výhodněji člověk. Buňky mohou být v jakékoli formě, včetně, ale bez omezení, buněk ponechaných v tkáních, shluků buněk, imortalizovaných buněk, transfektovaných buněk nebo transformovaných buněk a buněk odvozených od živočichů, které jsou fyzikálně nebo fenotypicky pozměněné.

Termín „pacient“, jak je podle vynálezu používán, označuje libovolného savce, zejména člověka.

Termín „alkylová skupina“ je přímý nebo rozvětvený, nasycený alifatický uhlovodík obsahující 1 až 6 atomů uhlíku.

Termín „alkenylová skupina“ znamená přímý nebo rozvětvený nenasyčený uhlovodík obsahující 2 až 6 atomů uhlíku a nejméně jednu dvojnou vazbu.

Termín „alkinylová skupina“ znamená přímý nebo rozvětvený nenasyčený uhlovodík obsahující 2 až 6 atomů uhlíku a nejméně jednu trojnou vazbu.

Termín „cykloalkylová skupina“ znamená mono- nebo polycyklický, nearomatický uhlovodíkový kruhový systém, který může popřípadě obsahovat nenasyčené vazby v kruhovém systému. Mezi příklady patří cyklohexylová skupina, adamantylová skupina, norbornylová skupina a spirocyklopentylová skupina.

Termín „arylová skupina“ znamená mono- nebo polycyklický kruhový systém, který obsahuje 6, 10, 12 nebo 14 atomů uhlíku, ve kterém je alespoň jeden kruh aromatický. Arylové skupiny podle předkládaného vynálezu jsou popřípadě jednou nebo vícekrát

substituované skupinou R^{11} . Mezi příklady patří fenylová skupina, naftylová skupina a tetrahydronaftylová skupina.

Termín „heteroarylová skupina“ znamená mono- nebo polycyklický kruhový systém, který obsahuje 1 až 15 atomů uhlíku a 1 až 4 heteroatomy, přičemž je alespoň jeden z kruhů aromatický. Heteroatomy jsou atom síry, dusíku nebo kyslíku. Heteroarylové skupiny podle předkládaného vynálezu jsou popřípadě jednou nebo vícekrát substituované skupinou R^{11} .

Termín „heterocyklická skupina“ znamená mono- nebo polycyklický kruhový systém, který obsahuje 1 až 15 atomů uhlíku a 1 až 4 heteroatomy, kde mono- nebo polycyklický kruhový systém může popřípadě obsahovat nenasycené vazby, ale není aromatický. Heteroatomy jsou nezávisle na sobě atom síry, dusíku a kyslíku.

Termín „alkylarylová skupina“ znamená alkylovou skupinu, kde atom vodíku alkylové skupiny je nahrazen arylovou skupinou.

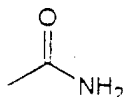
Termín „alkylheteroarylová skupina“ znamená alkylovou skupinu, kde atom vodíku alkylové skupiny je nahrazen heteroarylovou skupinou.

Termín „aminokyselinový postranní řetězec“ znamená jakoukoli skupinu připojenou k α uhlíku přírodní nebo nepřírodní aminokyseliny.

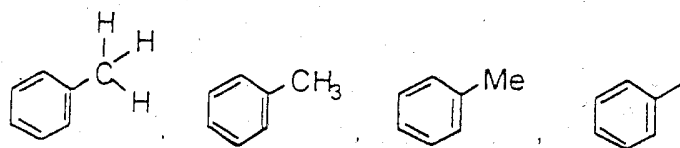
Termín „substituovaný“ znamená nahrazení atomu vodíku ve sloučenině substituující skupinou.

Termín „přímý řetězec“ znamená postupně nerozvětvený řetězec kovalentně vázaných atomů. Přímý řetězec může být substituovaný, ale tyto substituenty netvoří součást přímého řetězce.

V chemických vzorcích znamenají kulaté závorky způsob vazby v molekulách nebo skupinách. Závorky se používají zejména pro vyznačení: 1) že k příslušnému atomu je vázán více než jeden atom nebo skupina; 2) místa rozvětvení (tj. atom těsně před otevřením závorky je vázaný jak k atomu nebo skupině v závorkách, tak k atomu nebo skupině těsně za ukončením závorky). Příkladem prvního použití je skupina „-N(alkyl)₂“, která znamená, že jsou dvě alkylové skupiny vázané k atomu dusíku. Příkladem druhého použití je skupina „-C(O)NH₂“, která znamená, že karbonylová skupina a aminoskupina („NH₂“) jsou obě vázány k vyznačenému atomu uhlíku. Skupina -C(O)NH₂ může být znázorněna jinými způsoby, včetně následující struktury:



Substituenty mohou být znázorněny v různých formách. Tyto různé formy jsou odborníkům pracujícím v této oblasti známe a mohou se používat zaměnitelným způsobem. Například methylový substituent na fenylovém kruhu může být znázorněn v následujících formách:

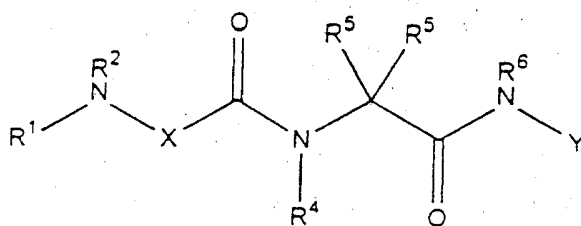


Různé formy substituentů, jako je methylová skupina, se podle vynálezu používají zaměnitelným způsobem.

Pokud je to nutné, jsou další definice uvedeny v popise.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu

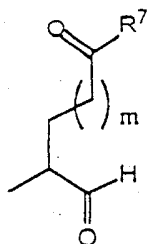
Sloučeninami podle provedení A podle předkládaného vynálezu jsou sloučeniny vzorce I:



kde:

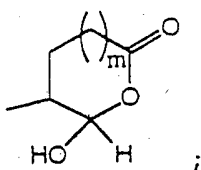
Y je

(a)



pod podmínkou, že pokud R^7 je hydroxylová skupina, potom Y může být také:

(b)



X je skupina $-C(R^3)_2-$ nebo skupina $-N(R^3)-$;

m je 0 nebo 1;

R^1 je atom vodíku, skupina $-C(O)R^8$, skupina $-C(O)C(O)R^8$, skupina $-S(O)_2R^8$, skupina $-S(O)R^8$, skupina $-C(O)OR^8$, skupina $-C(O)N(H)R^8$, skupina $-S(O)_2N(H)-R^8$, skupina $-S(O)N(H)-R^8$, skupina $-C(O)C(O)N(H)R^8$, skupina $-C(O)CH=CHR^8$, skupina $-C(O)CH_2OR^8$, skupina $-C(O)CH_2N(H)R^8$, skupina $-C(O)N(R^8)_2$, skupina $-S(O)_2N(R^8)_2$, skupina $-S(O)N(R^8)_2$, skupina $-C(O)C(O)N(R^8)_2$, skupina $-C(O)CH_2N(R^8)_2$, skupina $-CH_2R^8$, skupina $-CH_2$ -alkenyl- R^8 , nebo skupina $-CH_2$ -alkinyl- R^8 ;

R^2 je skupina $-H$ a každá skupina R^3 je nezávisle skupina $-H$, aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina alkenyl- R^9 , nebo skupina alkynyl- R^9 , nebo R^2 jedna skupina R^3 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku na alkylové nebo cykloalkylové skupině je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

R^4 je skupina $-H$ a každá skupina R^5 je nezávisle skupina $-H$, aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina alkenyl- R^9 , nebo skupina alkynyl- R^9 , nebo skupina R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku na alkylové nebo cykloalkylové skupině je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

R^6 je skupina $-H$;

R^7 je skupina $-OH$, skupina $-OR^8$, nebo skupina $-N(H)OH$;

každá skupina R^8 je nezávisle -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -arylová skupina, -heteroarylová skupina, -heterocyklylová skupina, -alkylcykloalkylová skupina, -alkylarylová skupina, -alkylheteroarylová skupina nebo -alkylheterocyklylová skupina,

kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku na alkylové nebo cykloalkylové skupině je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

každá skupina R^9 je nezávisle -arylová skupina, -heteroarylová skupina, cykloalkylová skupina, nebo -heterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku na alkylové nebo cykloalkylové skupině je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

každá skupina R^{10} je nezávisle skupina $-OH$, skupina $-SH$, skupina $-F$, skupina $-Cl$, skupina $-Br$, skupina $-I$, skupina $-NO_2$, skupina $-CN$, skupina $-NH_2$, skupina $-CO_2H$, skupina $-C(O)NH_2$, skupina $-N(H)C(O)H$, skupina $-N(H)C(O)NH_2$, -perfluoralkylová skupina, -O-alkylová skupina, -O-arylová skupina, -O-alkylarylová skupina, -N(H)alkylová skupina, -N(H)arylová skupina, -N(H)-alkylarylová skupina, skupina $-N(alkyl)_2$, $-C(O)N(H)alkylová$ skupina, skupina $-C(O)N(alkyl)_2$, $-N(H)C(O)alkylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)alkylová$ skupina, skupina $-N(H)C(O)N(alkyl)_2$, -S-alkylová skupina, -S-arylová skupina, -S-alkylarylová skupina, $-S(O)_2alkylová$ skupina, $-S(O)alkylová$ skupina, $-C(O)alkylová$ skupina, skupina $-CH_2NH_2$, $-CH_2N(H)alkylová$ skupina, nebo skupina $-CH_2N(alkyl)_2$, -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -arylová skupina, -heteroarylová skupina, -heterocyklylová skupina, -alkylcykloalkylová skupina, -alkylarylová skupina, -alkylheteroarylová skupina, nebo -alkylheterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku -arylové

skupiny nebo -heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou R^{11} a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku je popřípadě nahrazen skupinou R^1 ; a

každá skupina R^{11} je nezávisle skupina -OH, skupina -SH, skupina -F, skupina -Cl, skupina -Br, skupina -I, skupina -NO₂, skupina -CN, skupina -NH₂, skupina -CO₂H, skupina -C(O)NH₂, skupina -N(H)C(O)H, skupina -N(H)C(O)NH₂, -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -perfluoralkylová skupina, -O-alkylová skupina, -O-arylová skupina, -O-alkylarylová skupina, -N(H)-alkylová skupina, -N(H)arylová skupina, -N(H)-alkylarylová skupina, skupina -N(alkyl)₂, -C(O)N(H)alkylová skupina, skupina -C(O)N(alkyl)₂, -N(H)C(O)alkylová skupina, -N(H)C(O)N(H)alkylová skupina, skupina -N(H)C(O)N(alkyl)₂, -S-alkylová skupina, -S-arylová skupina, -S-alkylarylová skupina, -S(O)₂alkylová skupina, -S(O)alkylová skupina, -C(O)alkylová skupina, skupina -CH₂NH₂, -CH₂N(H)alkylová skupina, nebo skupina -CH₂N(alkyl)₂.

V alternativní formě provedení A:

R^1 je H, skupina - R^8 , skupina -C(O) R^8 , skupina -C(O)C(O) R^8 , skupina -S(O)₂ R^8 , skupina -S(O) R^8 , skupina -C(O)OR⁸, skupina -C(O)N(H) R^8 , skupina -S(O)₂N(H)- R^8 , skupina -S(O)N(H)- R^8 , skupina -C(O)C(O)N(H) R^8 , skupina -C(O)CH=CHR⁸, skupina -C(O)CH₂OR⁸, skupina -C(O)CH₂N(H) R^8 , skupina -C(O)N(R^8)₂, skupina -S(O)₂N(R^8)₂, skupina -S(O)N(R^8)₂, skupina -C(O)C(O)N(R^8)₂, skupina -C(O)-CH₂N(R^8)₂, skupina -CH₂ R^8 , skupina -CH₂-alkenyl- R^8 , nebo skupina -CH₂-alkinyl- R^8 ;

R^2 je skupina -H a každá skupina R^3 je nezávisle skupina -H, aminokyselinový postranní řetězec, skupina - R^8 , skupina alkenyl- R^9 , nebo skupina alkinyl- R^9 , nebo každá skupina R^3 , společně s atomem, ke kterému je vázána, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, nebo R^2 a

jedna skupina R^3 , společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové skupiny nebo cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

každá skupina R^{10} je nezávisle skupina $-\text{OH}$, skupina $-\text{SH}$, skupina $-\text{F}$, skupina $-\text{Cl}$, skupina $-\text{Br}$, skupina $-\text{I}$, skupina $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, skupina $-\text{NH}_2$, skupina $-\text{CO}_2\text{H}$, skupina $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, skupina $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{H}$, skupina $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, -perfluoralkylová skupina, -O-alkylová skupina, -O-arylová skupina, -O-alkylarylová skupina, -N(H)alkylová skupina, -N(H)arylová skupina, -N(H)-alkylarylová skupina, skupina $-\text{N}(\text{alkyl})_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{alkylová}$ skupina, skupina $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{alkyl})_2$, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{alkylová}$ skupina, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{O-alkylová}$ skupina, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{Oarylová}$ skupina, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{Oalkyl-arylová}$ skupina, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{Oheteroarylová}$ skupina, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{O-alkylheteroarylová}$ skupina, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{Ocykloalkylová}$ skupina, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{alkylová}$ skupina, skupina $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{alkyl})_2$, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{arylová}$ skupina, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{alkylarylová}$ skupina, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{heteroarylová}$ skupina, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{alkylheteroarylová}$ skupina, $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})\text{cykloalkylová}$ skupina, -S-alkylová skupina, -S-arylová skupina, -S-alkylarylová skupina, $-\text{S}(\text{O})_2\text{alkylová}$ skupina, $-\text{S}(\text{O})\text{alkylová}$ skupina, $-\text{C}(\text{O})\text{alkylová}$ skupina, skupina $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{N}(\text{H})\text{alkylová}$ skupina, nebo skupina $-\text{CH}_2\text{N}(\text{alkyl})_2$, -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -arylová skupina, -heteroarylová skupina, -heterocyklylová skupina, -alkylcykloalkylová skupina, -alkylarylová skupina, -alkylheteroarylová skupina, nebo -alkylheterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$

a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku je popřípadě nahrazený skupinou $-R^1$; a

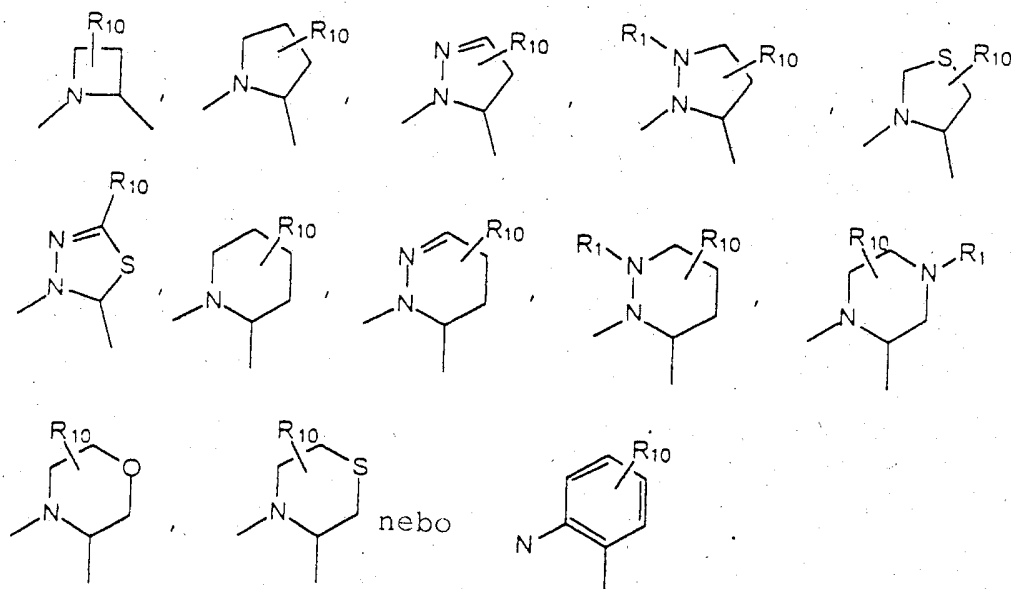
další substituenty jsou definovány výše.

S výhodou ve výše uvedených provedeníh:

m je 0;

R^2 je $-H$; jedna skupina R^3 je $-H$ druhá skupina R^3 je skupina $-R^9$, skupina $-alkenyl-R^9$, nebo skupina $-alkinyl-R^9$; nebo

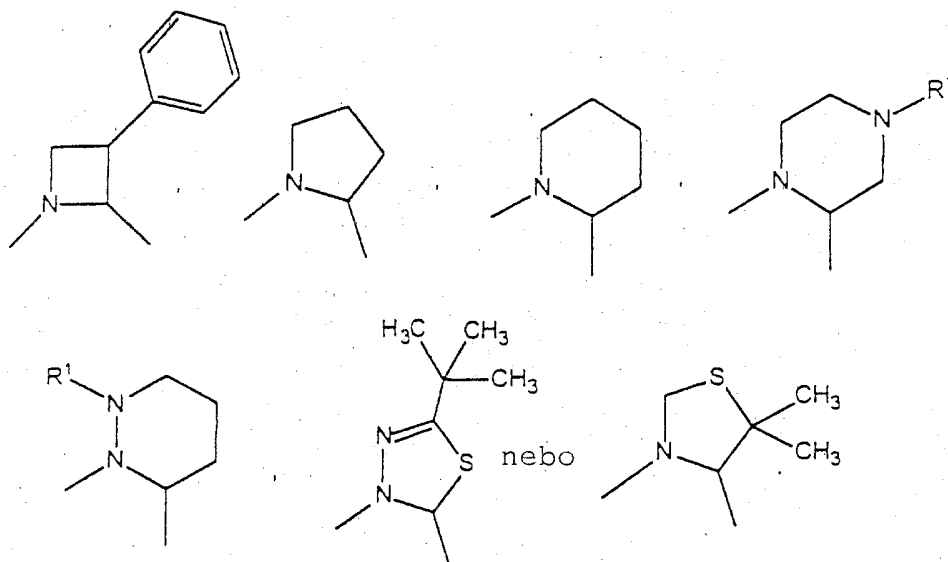
R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové nebo cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je nahrazen skupinou R^{11} a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou R^1 , kde kruhovým systémem je:



V alternativním výhodném provedení X je skupina $C(R^3)_2$, nebo R^3 je aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina alkenyl- R^9 , nebo skupina alkynyl- R^9 .

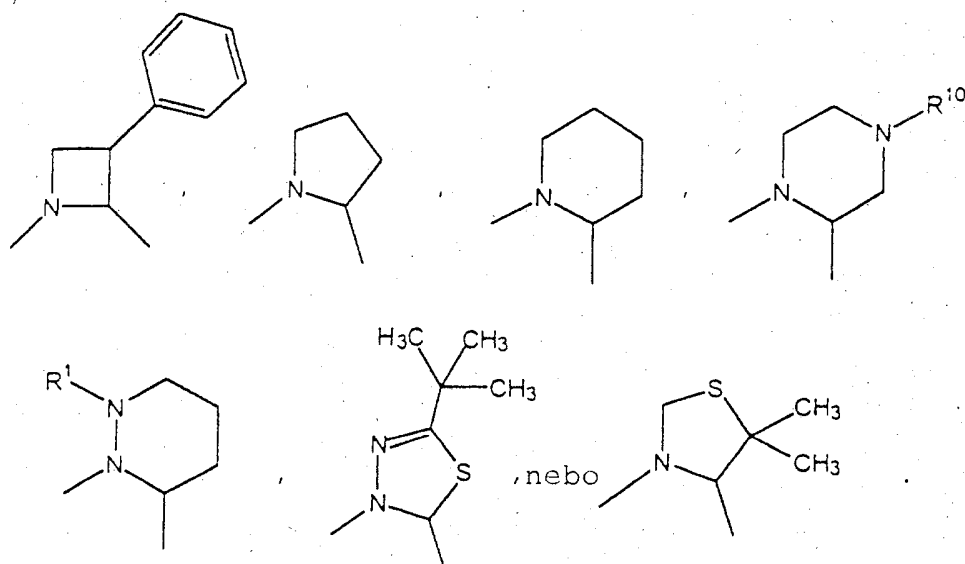
Výhodněji jedna skupina R^3 je $-H$ a druhá skupina R^3 je -alkylová skupina; nebo

R^4 jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický heterocyklický kruhový systém, kde jakýkoli atom vodíku vázaný k atomu uhlíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou R^{10} a jakýkoli atom vodíku vázaný k atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou R^1 , vybranou ze skupiny, kterou tvoří:



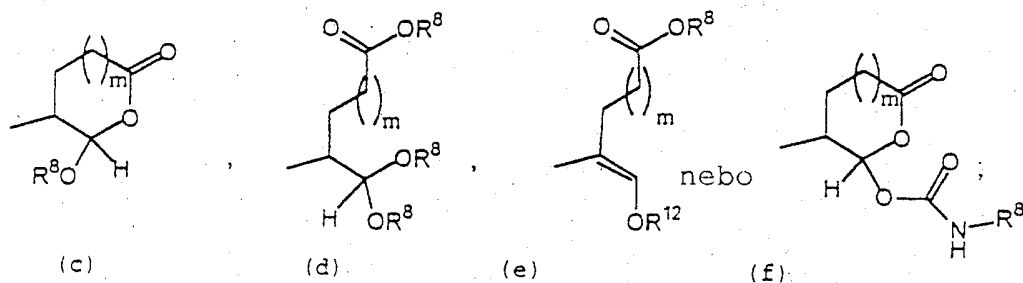
Nejvýhodněji je jedna skupina R^3 atom vodíku a druhá skupina R^3 je skupina $-C(H)(CH_3)_2$ nebo $-C(CH_3)_3$; a

R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, kde jakýkoli atom vodíku vázaný k atomu uhlíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou R^{10} a jakýkoli atom vodíku vázaný k atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou R^1 vybranou ze skupiny, kterou tvoří:

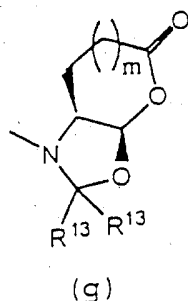


V alternativním nejvýhodnějším provedení jedna skupina R³ je atom vodíku a druhá skupina R³ je methylová skupina, skupina -C(H)(CH₃)₂ nebo skupina -C(CH₃)₃, a R⁴ a R⁵ jsou přímo definovány výše.

Podle dalšího provedení B předkládaný vynález poskytuje sloučeninu vzorce I, kde Y je:



pod podmínkou, že pokud R⁶ není atom vodíku, R⁶ a Y, společně s atomem dusíku, ke kterému jsou vázány, tvoří kruh (g):



R¹² je -C(O)alkylová skupina, -C(O)cykloalkylová skupina, -C(O)alkenylová skupina, -C(O)alkylarylová skupina, -C(O)-

alkylheteroarylová skupina, $-C(O)$ heterocyklylová skupina, nebo $-C(O)$ alkylheterocyklylová skupina;

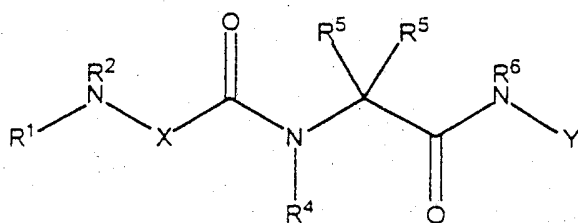
R^{13} je $-H$, $-alkylová$ skupina, $-arylová$ skupina, $-alkylarylová$ skupina nebo $-alkylheteroarylová$ skupina; a

ostatní substituenty jsou popsány výše.

S výhodou v (c), (d), (e), nebo (f), R^8 je methylová skupina, ethylová skupina, n -propylová skupina, isopropylová skupina, cyklopentylová skupina, fenetylová skupina nebo benzylová skupina.

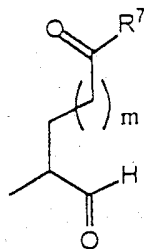
Výhodné definice pro další jednotlivé složky provedení B jsou stejné, jako bylo uvedeno výše pro A.

Výhodné provedení C podle předkládaného vynálezu poskytuje sloučeninu vzorce I:



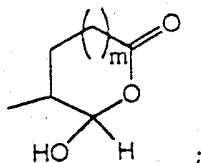
kde Y je:

(a)



nebo

(b)



m je 0 nebo 1;

X je skupina $-C(R^3)_2$

R^1 je H, skupina $-R^8$, skupina $-C(O)R^8$, skupina $-C(O)C(O)R^8$, skupina $-S(O)_2R^8$, skupina $-S(O)R^8$, skupina $-C(O)OR^8$, skupina $-C(O)N(H)R^8$, skupina $-S(O)_2N(H)-R^8$, $-S(O)N(H)-R^8$, skupina $-C(O)-C(O)N(H)R^8$, skupina $-C(O)CH=CHR^8$, skupina $-C(O)CH_2OR^8$, skupina $-C(O)CH_2N(H)R^8$, skupina $-C(O)N(R^8)_2$, skupina $-S(O)_2N(R^8)_2$, skupina $-S(O)N(R^8)_2$, skupina $-C(O)C(O)N(R^8)_2$, skupina $-C(O)CH_2N(R^8)_2$, skupina $-CH_2R^8$, skupina $-CH_2$ -alkenyl- R^8 , nebo skupina $-CH_2$ -alkinyl- R^8 ;

R^2 je -H a každá skupina R^3 je nezávisle -H, aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina alkenyl- R^9 , nebo skupina alkinyl- R^9 , nebo každá skupina R^3 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové nebo cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

R^4 je -H každá skupina R^5 je nezávisle -H, aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina -alkenyl- R^9 , nebo skupina -alkinyl- R^9 , nebo R^4 jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové nebo cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny

je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

R^6 je $-H$;

R^7 je skupina $-OH$, skupina $-OR^8$, skupina $-N(H)OH$, nebo skupina $-N(H)S(O)_2R^8$;

každá skupina R^8 je nezávisle -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -arylová skupina, -heteroarylová skupina, -heterocyklylová skupina, -alkylcykloalkylová skupina -alkylarylová skupina, -alkylheteroarylová skupina, nebo -alkylheterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové nebo cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

každá skupina R^9 je nezávisle -arylová skupina, -heteroarylová skupina, cykloalkylová skupina, nebo -heterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové nebo cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

každá skupina R^{10} je nezávisle skupina $-OH$, skupina $-SH$, skupina $-F$, skupina $-Cl$, skupina $-Br$, skupina $-I$, skupina $-NO_2$, skupina $-CN$, skupina $-NH_2$, skupina $-CO_2H$, skupina $-C(O)NH_2$, skupina $-N(H)C(O)H$, skupina $-N(H)C(O)NH_2$, -perfluoralkylová skupina, -O-alkylová skupina, -O-arylová skupina, -O-alkylary-

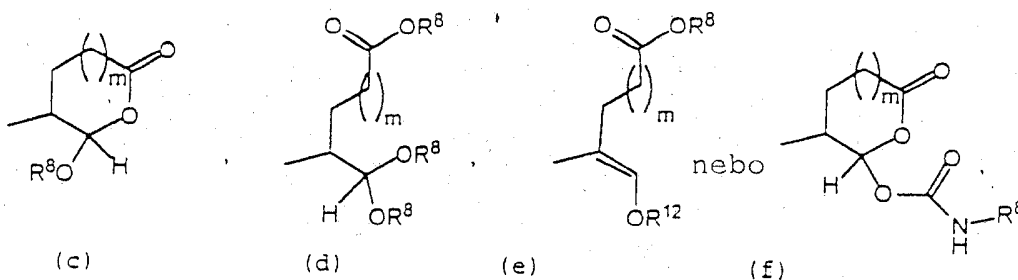
lová skupina, -N(H)alkylová skupina, -N(H)arylová skupina, -N(H)-alkylarylová skupina, skupina -N(alkyl)₂, -C(O)N(H)alkylová skupina, skupina -C(O)N(alkyl)₂, -N(H)C(O)alkylová skupina, -N(H)C(O)Oalkylová skupina, -N(H)C(O)Oarylová skupina, -N(H)C(O)Oalkylarylová skupina, -N(H)C(O)Oheteroarylová skupina, -N(H)C(O)Oalkylheteroarylová skupina, -N(H)C(O)Ocykloalkylová skupina, -N(H)C(O)N(H)alkylová skupina, skupina -N(H)-C(O)N(alkyl)₂, -N(H)C(O)N(H)arylová skupina, -N(H)C(O)N(H)-alkylarylová skupina, -N(H)C(O)N(H)heteroarylová skupina, -N(H)C(O)N(H)alkylheteroarylová skupina, -N(H)C(O)N(H)cykloalkylová skupina, -S-alkylová skupina, -S-arylová skupina, -S-alkylarylová skupina, -S(O)₂alkylová skupina, -S(O)alkylová skupina, -C(O)alkylová skupina, skupina -CH₂NH₂, -CH₂N(H)alkylová skupina, nebo skupina -CH₂N(alkyl)₂, -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -arylová skupina, -heteroarylová skupina, -heterocyklylová skupina, -alkylcykloalkylová skupina -alkylarylová skupina, -alkylheteroarylová skupina, nebo -alkylheterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou R¹¹ a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku je popřípadě nahrazen skupinou R¹; a

každá skupina R¹¹ je nezávisle skupina -OH, skupina -SH, skupina -F, skupina -Cl, skupina -Br, skupina -I, skupina -NO₂, skupina -CN, skupina -NH₂, skupina -CO₂H, skupina -C(O)NH₂, skupina -N(H)C(O)H, skupina -N(H)C(O)NH₂, -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -perfluoralkylová skupina, -O-alkylová skupina, -O-arylová skupina, -O-alkylarylová skupina, -N(H)alkylová skupina, -N(H)arylová skupina, -N(H)-alkylarylová skupina, skupina -N(alkyl)₂, -C(O)N(H)alkylová skupina, skupina -C(O)N(alkyl)₂, -N(H)C(O)alkylová skupina, -N(H)C(O)N(H)alkylová skupina, skupina -N(H)C(O)N(alkyl)₂, -S-alkylová skupina, -S-arylová skupina, -S-alkylarylová skupina, -S(O)₂alkylová sku-

pina, $-S(O)$ alkylová skupina, $-C(O)$ alkylová skupina, skupina $-CH_2NH_2$, $-CH_2N(H)$ alkylová skupina, nebo skupina $-CH_2N(alkyl)_2$;

pod podmínkou, že pokud jedna skupina R^3 je skupina $-H$, potom druhá skupina R^3 není skupina $-H$.

Další výhodné provedení D podle předkládaného vynálezu poskytuje sloučeninu vzorce I, kde Y je:



R^{12} je $-C(O)$ alkylová skupina, $-C(O)$ cykloalkylová skupina, $-C(O)$ alkenylová skupina, $-C(O)$ alkylarylová skupina, $-C(O)$ alkylheteroarylová skupina, $-C(O)$ heterocyklylová skupina, nebo $-C(O)$ alkylheterocyklylová skupina; a

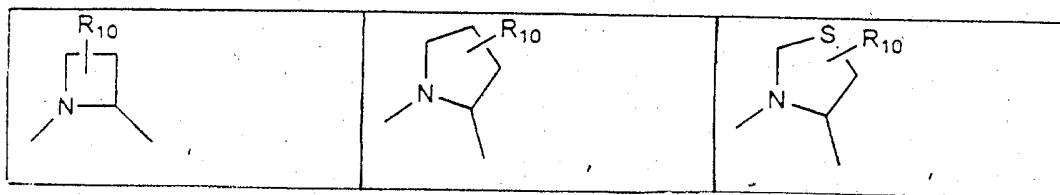
ostatní substituenty jsou popsány výše kromě toho, že obě skupiny R^3 mohou být skupina $-H$.

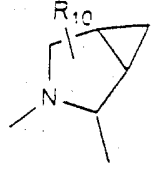
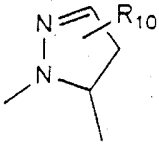
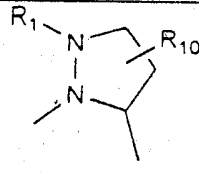
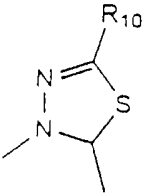
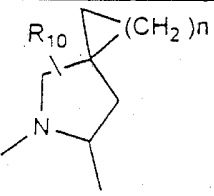
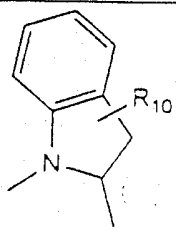
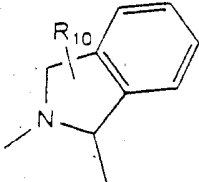
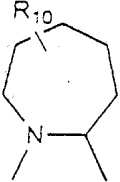
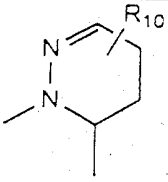
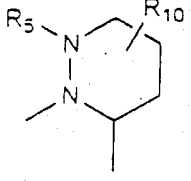
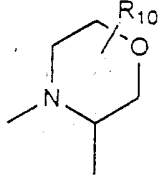
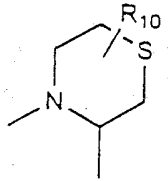
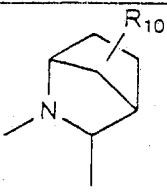
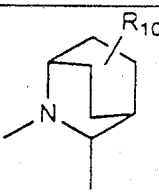
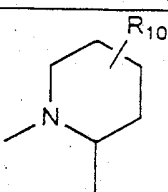
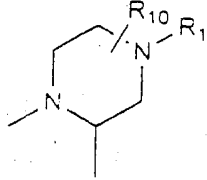
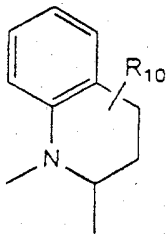
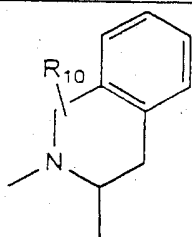
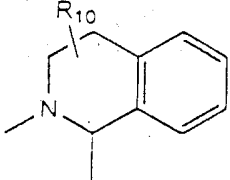
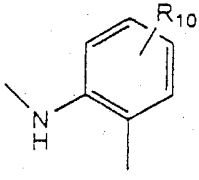
Ve všech provedeních A-D jsou výhodné sloučeniny, kde:

R^1 je skupina $-C(O)R^8$ nebo skupina $-C(O)(O)R^8$;

R^2 a jedna skupina R^3 jsou skupina $-H$ a druhá skupina R^3 je aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina alkenyl- R^9 , nebo skupina alkinyl- R^9 ; nebo

R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém vybraný ze skupiny, kterou tvoří:

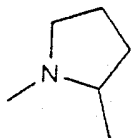


pod podmínkou, že všechny kruhové systémy jsou popřípadě substituované jednou nebo více skupinami R^{10} .

Alternativně jsou výhodnými sloučeninami provedení A-D sloučeniny, kde R^3 je atom vodíku a další skupina R^3 je methylová skupina, isopropylová skupina, terc.butylová skupina, skupina $-CH_2SR^8$, skupina $-CH_2SO_2R^8$, skupina $-CH_2CH_2SR^8$, skupina $-CH_2CH_2SOR^8$.

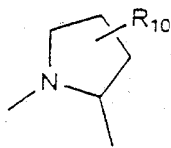
Dále jsou výhodnými sloučeninami provedení A-D sloučeniny, kde R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém:



a druhá skupina R^5 je atom vodíku; nebo

jedna skupina R^3 je atom vodíku a druhá skupina R^3 je methylová skupina.

Alternativně jsou výhodnými sloučeninami provedení A-D sloučeniny, kde R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém:

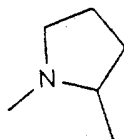


a druhá skupina R^5 je atom vodíku.

Ve výše uvedeném alternativním provedení je R^{10} s výhodou 4-fluorová skupina nebo 4,4-difluorová skupina.

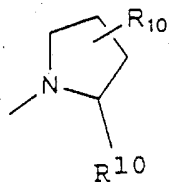
Nejvýhodnějšími sloučeninami podle předkládaného vynálezu jsou sloučeniny, kde R^3 je methylová skupina; a

R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém:



a druhá skupina R^5 je atom vodíku.

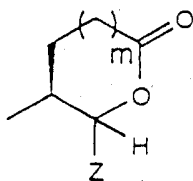
Alternativně jsou nejvýhodnějšími sloučeninami provedení A-D sloučeniny, kde R^3 je methylová skupina; a R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomem y, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém:



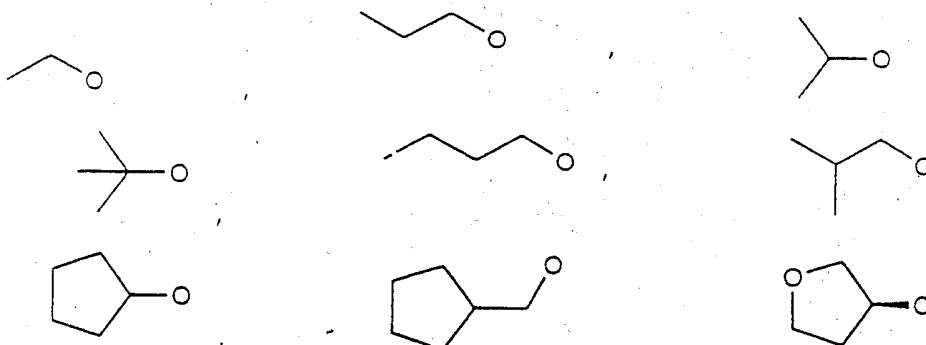
a druhá skupina R^5 je atom vodíku; a

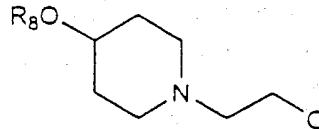
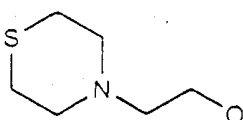
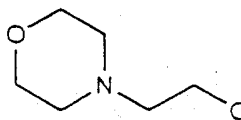
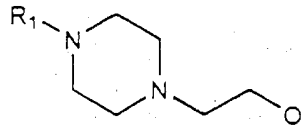
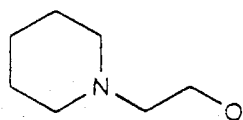
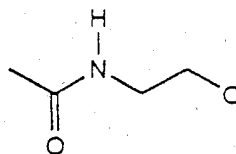
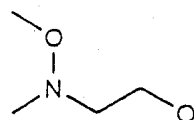
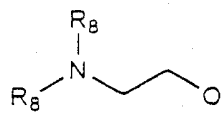
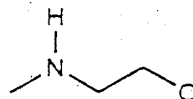
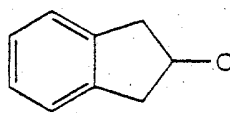
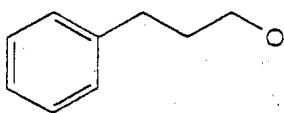
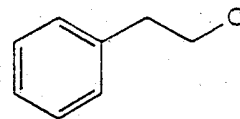
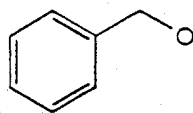
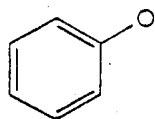
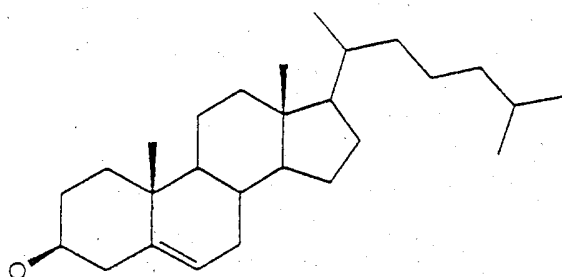
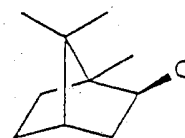
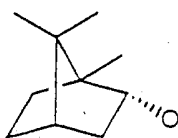
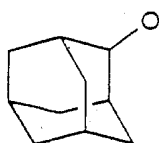
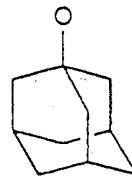
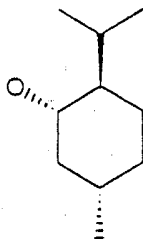
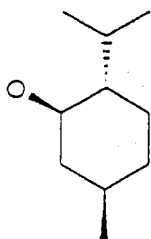
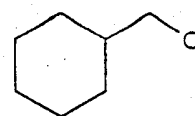
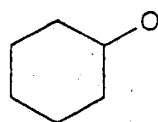
R^{10} je 4-fluoroskupina nebo 4,4-difluoroskupina.

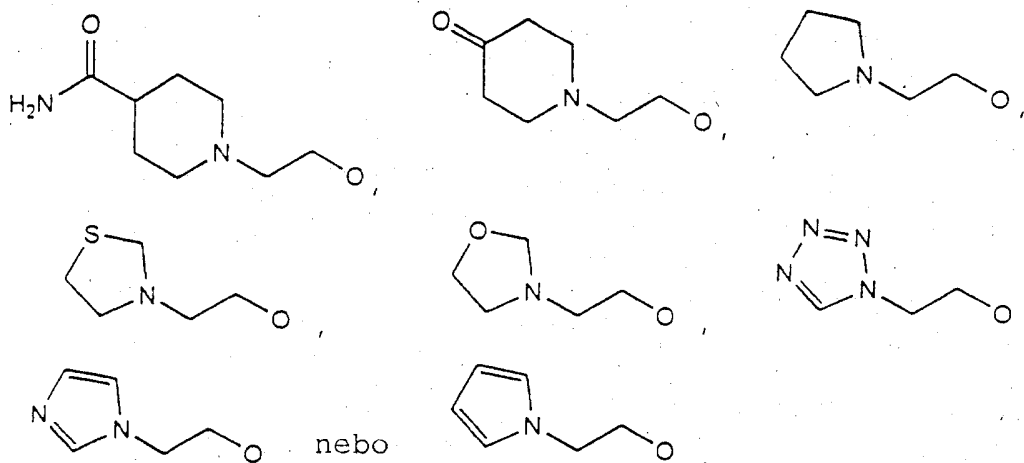
Výhodnými sloučeninami provedení (B) nebo (D) jsou sloučeniny, kde Y je:



kde Z je skupina $-OR^8$ a Z je skupina: CH_3O ,







Specifické sloučeniny podle předkládaného vynálezu zahrnují příklady 5a-5bd, 7a-7at, 9a-9g, 15a-15f, 16a-16b, 17a-17e, 18a-18f, 20a-20t, 23a-23i, 24a-24e, 25a-25e, 26a-26h, 27a-27n, 28a-28c, 29a-29s, 32a-32e, 34, G1, G2, 41, 42, 45, 46, 51, 52, 56, 57, 60, 61, 64, 65, 68, 69, 72, 73, 76-93, 98a-z, aa-az, a ba-bb, 101, 102a, 102b, 108a-d, 110, 111, 116a-h, 120a a b, 121, 122 a-v, a 123 a-c, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mohou obsahovat jeden nebo více „asymetrických“ atomů uhlíku a mohou se tedy vyskytovat ve formě racemátů nebo racemických směsí, jednotlivých enantiomerů, diastereomerních směsí a jednotlivých diastereomerů. Všechny stereogenní atomy uhlíku mohou mít R nebo S konfiguraci. Ačkoli mohou být specifické sloučeniny a struktury uvedené jako příklady podle předkládaného vynálezu znázorněny v určité stereochemické konfiguraci, vynález zahrnuje také sloučeniny a struktury, které mají také opačnou stereochemii na daném chirálním centru a dále také jejich směsi.

Všechny tyto isomerní formy těchto sloučenin jsou záměrně součástí podle předkládaného vynálezu, stejně jako jejich farmaceuticky přijatelné deriváty.

Termín „farmaceuticky přijatelný derivát“ znamená farmaceuticky přijatelné soli, estery nebo soli těchto esterů sloučenin podle předkládaného vynálezu nebo jakékoli jiné sloučeniny, které jsou po podávání pacientovi schopné poskytnout (přímo nebo nepřímo) sloučeninu podle předkládaného vynálezu nebo její aktivní metabolit nebo zbytek.

Farmaceuticky přijatelné soli sloučenin podle předkládaného vynálezu zahrnují například soli odvozené od farmaceuticky přijatelných anorganických a organických kyselin a bazí. Příklady vhodných kyselin zahrnují kyselinu chlorovodíkovou, kyselinu bromovodíkovou, kyselinu sírovou, kyselinu dusičnou, kyselinu chloristou, kyselinu fumarovou, kyselinu maleinovou, kyselinu fosforečnou, kyselinu glykolovou, kyselinu mléčnou, kyselinu salicylovou, kyselinu jantarovou, kyselinu p-toluen-sulfonovou, kyselinu vinnou, kyselinu octovou, kyselinu citronovou, kyselinu methansulfonovou, kyselinu mravenčí, kyselinu benzoovou, kyselinu malonovou, kyselinu naftalen-2-sulfonovou a kyselinu benzensulfonovou. Další kyseliny, jako je kyselina šťavelová, přestože nejsou samotné farmaceuticky přijatelné, mohou se použít při přípravě solí vhodných jako meziprodukty při přípravě sloučenin podle vynálezu a jejich farmaceuticky přijatelných kyselých adičních solí. Soli odvozené od příslušných bazí zahrnují soli alkalických kovů (například sodíku), soli kovů alkalických zemin (například hořčíku), amoniové soli a soli $N-(alkyl)_4^+$ obsahující v každé alkylové části 1 až 4 atomy uhlíku.

Předkládaný vynález také předpokládá „kvarternizaci“ skupin obsahujících bazické atomy dusíku sloučenin podle vynálezu. Bazické atomy dusíku se mohou kvarternizovat jakýmkoli činidlem známým odborníkům pracujícím v této oblasti, přičemž mezi tato činidla patří například nižší alkyhalogenidy, jako jsou

methyly, ethyl, propyl a butylchloridy, bromidy a jodidy; dialkylsulfáty, včetně dimethyl, diethyl, dibutyl a diamylsulfátů; halogenidy s dlouhým řetězcem, jako jsou decyl, lauryl, myristyl a stearylchloridy, bromidy a jodidy a arylalkylhalogenidy včetně benzyl a fenethylbromidů. Pomocí takovéto kvarternizace se mohou získat produkty rozpustné nebo dispergovatelné v oleji nebo ve vodě.

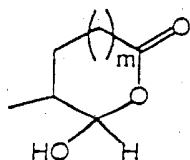
Pokud jsou sloučeniny mnohokrát substituované, každý substituent může být vybrán nezávisle na ostatních substituentech, pokud taková kombinace poskytne stabilní sloučeninu.

Kombinacemi substituentů a proměnných podle předkládaného vynálezu jsou pouze ty, které vedou ke vzniku stabilních sloučenin. Termín „stabilní“ znamená sloučeniny, které mají dostatečnou stabilitu, aby umožňovala výrobu a podávání savcům pomocí způsobů známých v této oblasti. Typicky jsou tyto sloučeniny stabilní při teplotě 40 °C nebo nižší, v nepřítomnosti vlhkosti nebo jiných chemicky reaktivních podmínek, alespoň jeden týden.

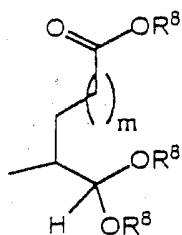
Výhodné sloučeniny podle předkládaného vynálezu se mohou po orálním podání snadno absorbovat do krevního řečiště pacienta. Tato orální využitelnost umožňuje použití těchto sloučenin jako vynikajících činidel pro léčení a prevenci onemocnění zprostředkovaných IL-1-, apoptózou, IGIF nebo IFN- γ orálním podáváním.

Je třeba poznamenat, že sloučeniny podle předkládaného vynálezu mohou existovat v různých rovnovážných formách, v závislosti na podmínkách, mezi které patří výběr rozpouštědla, pH, a další podmínky, které jsou odborníkům pracujícím v této oblasti známy. Předkládaný vynález výslovně zahrnuje všechny takové formy. Zejména se může mnoho sloučenin podle před-

kládaného vynálezu (zvláště sloučeniny obsahující aldehydovou nebo ketonovou skupinu a karboxylovou kyselinovou skupinu v Y) vyskytovat ve formě poloacetalu nebo hydrátu. Například sloučeniny podle provedení A jsou ve formě poloacetalu, když Y je:

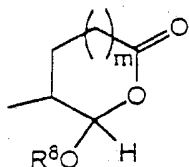


V závislosti na výběru rozpouštědla a dalších podmínek, které jsou odborníkům v této oblasti známe, mohou být sloučeniny také ve formě hydrátů, acyloxyacetalů, acetalů nebo enolů. Sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou v hydratované formě, když Y je:

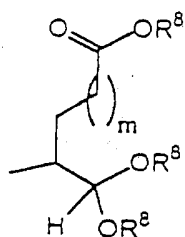


a R^8 je atom vodíku;

ve formě acyloxyacetalu, když Y je:

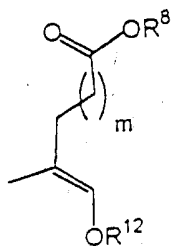


ve formě acetalu, když Y je:



a R^3 je jiné, než atom vodíku;

a ve formě enolů, když Y je:



Dále je třeba poznamenat, že rovnovážné formy sloučenin podle předkládaného vynálezu mohou zahrnovat tautomerní formy. Všechny takové formy jsou výslovně součástí podle předkládaného vynálezu.

Sloučeniny vzorce I se mohou syntetizovat za použití běžných způsobů. S výhodou se tyto sloučeniny běžně syntetizují ze snadno dostupných výchozích látek.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu se mohou připravit za použití způsobů popsaných podle předkládaného vynálezu. Jak bude odborníkům pracujícím v této oblasti zřejmé, tyto způsoby sami o sobě neznamenají, že je sloučeniny popsané a nárokované podle předkládaného vynálezu možné syntetizovat pouze tímto způsobem. Další způsoby budou odborníkům pracujícím v této oblasti zřejmé. Dále se mohou různé syntetické kroky vedoucí k požadovaným sloučeninám popsané podle vynálezu provádět v zaměněném pořadí.

Je třeba poznamenat, že sloučeniny podle předkládaného vynálezu se mohou modifikovat příslušnými funkčními skupinami za účelem zlepšení jejich určitých biologických vlastností. Tyto modifikace jsou odborníkům pracujícím v této oblasti známe a patří mezi ně úpravy zvyšující biologickou penetraci do daného biologického systému (například krevního, lymfatického systému, centrálního nervového systému), zvyšující orální biolo-

gickou využitelnost, zvyšující rozpustnost, aby bylo možné injekční podávání, změni metabolismus nebo změně rychlost vylučování. Dále se mohou sloučeniny změnit do forem proléčiva tak, že požadovaná sloučenina vznikne v těle pacienta jako důsledek působení metabolických nebo biochemických procesů na proléčivu. Takové formy proléčiv typicky vykazují malou nebo žádnou aktivitu při *in vitro* testech. Mezi některé příklady proléčiv patří ketalové, acetalové, oximové, iminové a hydrazonové formy sloučenin, které obsahují ketonové nebo aldehydové skupiny, zejména pokud se vyskytují ve skupině Y sloučenin podle předkládaného vynálezu. Mezi další příklady proléčiv patří poloketalové, poloacetalové, acyloxyketalové, acyloxyacetalové, ketalové, acetalové a enolové formy, které jsou popsány podle předkládaného vynálezu.

Kompozice a způsoby

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou inhibitory kaspázy a zejména inhibitory ICE. Sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou tedy schopné zasáhnout a inhibovat onemocnění zprostředkovaná IL-1, apoptózou, IGIF a IFN- γ a tedy omezovat aktivitu tohoto proteinu při zánětlivých onemocněních, autoimunních onemocněních, destruktivních kostních onemocněních, proliferativních onemocněních, infekčních onemocněních a degenerativních onemocněních. Sloučeniny podle předkládaného vynálezu například inhibují konverzi prekursoru IL-1 β na maturovaný IL-1 β pomocí inhibice ICE. Protože je ICE esenciální pro vznik maturovaného IL-1, inhibice tohoto enzymu účinně blokuje iniciaci fyziologických účinků a symptomů zprostředkovaných IL-1, jako jsou záněty, pomocí inhibice vzniku maturovaného IL-1. Tedy pomocí inhibice aktivity prekursoru IL-1 β sloučeniny podle předkládaného vynálezu účinně fungují jako inhibitory IL-1.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu také inhibují konverzi pro-IGIF na aktivní, maturovaný IGIF pomocí inhibice ICE. Protože je ICE esenciální pro vznik maturovaného IGIF, inhibice ICE účinně blokuje vznik fyziologických účinků a symptomů zprostředkovaných IGIF, pomocí inhibice vzniku maturovaného IGIF. IGIF je tedy esenciální pro vznik IFN- γ . ICE tedy účinně blokuje vznik fyziologických účinků a symptomů zprostředkovaných IFN- γ pomocí inhibice vzniku maturovaného IGIF a tedy produkce IFN- γ .

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou překvapivě biologicky využitelné ve srovnání s peptidylovými inhibitory, které jsou popsány například v EP 618 223, EP 623 592, WO 93/09135, WO 93/16710, US patentu číslo 5,434,248, WO 95/35308 nebo WO 96/33209.

Farmaceutické kompozice a způsoby podle předkládaného vynálezu budou tedy vhodné pro kontrolu aktivity kaspázy *in vivo*. Kompozice a způsoby podle předkládaného vynálezu budou tedy vhodné pro kontrolu hladiny IL-1, IGIF nebo IFN- γ *in vivo* pro léčení nebo zpomalení postupu, závažnosti nebo účinku onemocnění zprostředkovaných IL-1, apoptózou, IGIF nebo IFN- γ , včetně onemocnění, poruch nebo účinků.

Farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu obsahují sloučeninu vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl a farmaceuticky přijatelný nosič. Tyto kompozice mohou popřípadě obsahovat další terapeutické činidlo. Tato činidla zahrnují protizánětlivá činidla, inhibitor matricové metaloproteázy, inhibitor lipoxygenázy, antagonistu cytokinu, imunosupresivum, protirakovinné činidlo, antivirové činidlo, cytokin, růstový faktor, imunomodulátor, prostaglandin nebo sloučeninu proti hyperproliferaci cév, vynález se však neomezuje pouze na tyto

příklady.

Termín „farmaceuticky přijatelný nosič“ zahrnuje netoxický nosič, který se může podávat pacientovi společně se sloučeninou podle předkládaného vynálezu a který neruší její farmakologickou aktivitu.

Farmaceuticky přijatelné nosiče, které se mohou použít ve farmaceutických kompozicích podle předkládaného vynálezu, zahrnují iontoměniče, aluminu, stearát hlinitý, lecitin, sérové proteiny, jako je lidský sérový albumin, pufrovací látky, jako jsou fosfáty, glycin, kyselinu sorbovou, sorban draselný, částečné směsi glyceridu nasycených rostlinných mastných kyselin, vodu, soli nebo elektrolyty, jako je protaminsulfát, hydrogenfosforečnan sodný, hydrogenfosforečnan draselný, chlorid sodný, soli zinku, koloidní oxid křemičitý, trikřemičitan hořečnatý, polyvinylpyrrolidon, látky založené na celulóze, polyethylenglykol, sodnou sůl karboxymethylcelulózy, polyakryláty, vosky, blokové polymery polyethylen-polyoxypropylen, lanolin a samoemulgační systémy pro dodávání léku (SEEDS), jako jsou α -tokoferol, polyethylenglykol 1000 sukcinát, nebo další podobné polymerní doručovací materice.

Ve farmaceutických kompozicích obsahujících pouze sloučeninu z provedení A-D jako aktivní složku, mohou způsoby podávání těchto kompozic dále zahrnovat krok podávání dalšího činidla tomuto pacientovi. Tato činidla zahrnují protizánětlivá činidla, inhibitor matricové metaloproteázy, inhibitor lipoxxygenázy, antagonistu cytokinu, imunosupresivum, protirakovinné činidlo, antivirové činidlo, cytokin, růstový faktor, imunomodulátor, prostaglandin nebo sloučeninu proti cévní hyperproliferaci, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady.

Termín „farmaceuticky přijatelné množství“ znamená množství

účinné při léčení nebo zlepšení onemocnění zprostředkovaných IL-1, apoptózou, IGIF nebo IFN- γ u pacienta. Termín „profylakticky účinné množství“ znamená množství účinné při prevenci nebo zmírnění onemocnění zprostředkovaných IL-1, apoptózou, IGIF nebo IFN- γ u pacienta.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu se mohou použít běžným způsobem při kontrole hladiny IGIF a IFN- γ *in vivo* a pro léčení onemocnění nebo snížení postupu nebo závažnosti účinků, které jsou zprostředkovány IL-1, apoptózou, IGIF nebo IFN- γ . Tyto způsoby léčení, jejich dávkovací hladiny a režimy mohou být vybrány odborníkem pracujícím v této oblasti z dostupných způsobů a technik.

Například se může sloučenina podle předkládaného vynálezu kombinovat s farmaceuticky přijatelnými přísadami pro podávání pacientovi trpícímu onemocněním zprostředkovaným IL-1, apoptózou, IGIF nebo IFN- γ farmaceuticky přijatelným způsobem a v množství účinném pro snížení závažnosti tohoto onemocnění.

Alternativně se mohou sloučeniny podle předkládaného vynálezu použít v kompozicích a způsobech pro léčení a ochranu pacientů proti onemocněním zprostředkovaným IL-1, apoptózou, IGIF nebo IFN- γ po delší dobu. Sloučeniny se mohou v těchto prostředcích použít buď samotné nebo společně s jinými sloučeninami podle předkládaného vynálezu způsobem, který odpovídá běžnému použití inhibitorů enzymů ve farmaceutických kompozicích. Například se může sloučenina podle předkládaného vynálezu kombinovat s farmaceuticky přijatelnými přísadami, které jsou běžné pro použití ve vakcínách a mohou se podávat v profylakticky účinných množstvích pro ochranu pacientů po delší časový úsek proti onemocněním zprostředkovaným IL-1, apoptózou, IGIF nebo IFN- γ .

Sloučeniny vzorce I se mohou také podávat společně s jinými inhibitory kaspázy nebo ICE, čímž se zvýší účinek léčení nebo profylaxe proti různým onemocněním zprostředkovaným IL-1, apoptózou, IGIF nebo IFN- γ .

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu se mohou dále použít v kombinaci buď s běžnými protizánětlivými činidly nebo s inhibitory matricové metaloproteázy, inhibitory lipogenázy a antagonisty cytokinů jinými než IL-1 β .

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu se mohou také podávat v kombinaci s imunomodulátory (například jako je bropirimin, antihumánní protilátka interferonu alfa, IL-2, GM-CSF, methioninenkefalin, interferon alfa, diethyldithiokarbamát, nádorový nekrózní faktor, naltrexon a EPO), s prostaglandiny nebo protivirovými činidly (například jako je 3TC, polysulfatované polysacharidy, ganciclovir, ribavirin, acyclovir, interferon alfa, trimethotrexate a fancyclovir) nebo proléčivý těchto nebo podobných sloučenin pro prevenci nebo léčbu symptomů onemocnění zprostředkovaných IL-1, jako jsou záněty.

Pokud se sloučeniny podle předkládaného vynálezu podávají při kombinované terapii s jinými činidly, mohou se pacientovi podávat postupně nebo současně. Alternativně mohou farmaceutické nebo profylaktické kompozice podle předkládaného vynálezu obsahovat kombinaci sloučeniny vzorce I a dalšího terapeutického nebo profylaktického činidla.

Farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu se mohou podávat perorálně, parenterálně, pomocí inhalačního spreje, místně, rektálně, nasálně, bukálně, vaginálně nebo pomocí implantovaného zásobníku. Výhodné je perorální podávání. Farmaceutické kompozice podle vynálezu mohou obsahovat jakékoli běžné netoxické farmaceuticky přijatelné nosiče, přísady nebo

vehikula. V některých případech se může pH kompozice upravit pomocí farmaceuticky přijatelných kyselin, bazí nebo pufrů, čímž se zvýší stabilita formulované sloučeniny nebo její dodávací formy. Termín parenterální zahrnuje podle předkládaného vynálezu subkutánní, intrakutánní, nitrožilní, intramuskulární, intraartikulární, intrasynoviální, intrasternální, intratekální, intralesionální a intrakraniální injekční nebo infuzní techniky.

Farmaceutické kompozice mohou být buď ve formě sterilních injektovatelných přípravků, například sterilních injektovatelných vodných nebo olejových suspenzí. Tyto suspenze mohou být formulovány pomocí technik, které jsou odborníkům pracujícím v této oblasti známe, za použití vhodných dispergujících nebo zvlhčujících činidel (jako je například Tween 80) a suspendujících činidel. Sterilní injektovatelné přípravky mohou být také sterilní injektovatelné roztoky nebo suspenze v netoxických parenterálně přijatelných ředidlech nebo rozpouštědlech, například jako je roztok v 1,3-butandiolu. Mezi přijatelná vehikula a rozpouštědla, která se mohou použít, patří mannitol, voda, Ringerův roztok a izotonický roztok chloridu sodného. Dále se jako rozpouštědlo nebo suspendující médium používají sterilní, fixované oleje. Pro tento účel se mohou použít jakékoli směsi fixovaných olejů, včetně syntetických mono- nebo diglyceridů. Při přípravě injekčních prostředků jsou vhodné mastné kyseliny, jako je kyselina olejová a její glyceridové deriváty, jako jsou přírodní, farmaceuticky přijatelné oleje, jako je olivový olej nebo ricínový olej, zejména jejich polyethoxylované formy. Tyto olejové roztoky nebo suspenze mohou také obsahovat ředidla nebo dispergační činidla na bázi alkoholů s dlouhým řetězcem, které jsou popsány například v Pharmacopoeia Helvetica, nebo podobné alkoholy.

Farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu se mohou podávat perorálně v jakékoli perorálně přijatelné dávkovací formě včetně tobolek, tablet a vodných suspenzí a roztoků, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady. V případě tablet pro perorální použití se obvykle používají laktóza a kukuřičný škrob. Typicky se také přidávají lubrikační činidla, jako je stearat hořečnatý. Pro perorální podávání ve formě tobolek jsou vhodnými ředidly laktóza a sušený kukuřičný škrob. Pokud se perorálně podávají vodné suspenze a roztoky a propylenglykol, aktivní činidlo se smísí s emulgačním nebo suspendujícím činidlem. Pokud je to nutné, mohou se přidat určitá sladidla a/nebo příchutě a/nebo barviva.

Farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu se mohou také podávat ve formě čípků pro rektální podávání. Tyto kompozice se mohou připravit smísením sloučeniny podle předkládaného vynálezu s vhodnou nedráždivou přísadou, která je pevná při teplotě místnosti, ale kapalná při rektální teplotě a proto taje v rektu za uvolnění aktivních složek. Mezi takové látky patří kakaové máslo, včelí vosk a polyethylenglykoly.

Místní podávání farmaceutických kompozic podle předkládaného vynálezu je zvláště vhodné, pokud se léčí místa nebo orgány, které jsou snadno dostupné pro místní aplikaci. Pro místní aplikaci na pokožku se mohou farmaceutické kompozice formulovat do formy vhodných mastí obsahujících aktivní sloučeniny suspendované nebo rozpuštěné v nosiči. Nosiče pro místní podávání sloučenin podle předkládaného vynálezu zahrnují minerální oleje, kapalná vazelína, bílá vazelína, propylenglykol, sloučenina polyoxyethylen polyoxypropylen, emulgační vosk a voda, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady. Alternativně může být farmaceutická kompozice formulována do formy mléka nebo krému obsahujícího aktivní sloučeninu suspendovanou nebo

rozpuštěnou v nosiči. Mezi vhodné nosiče patří minerální olej, sorbitanmonostearát, polysorbát 60, cetylestery vosků, cetearylalkohol, 2-oktyldodekanol, benzylalkohol a voda, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady. Farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu se mohou také místně aplikovat do dolní části intestinálního traktu pomocí rektálních čípkových prostředků nebo vhodného klystýrového prostředku. Předmětem podle předkládaného vynálezu jsou také místně aplikované transdermální náplasti.

Farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu se mohou také podávat pomocí nosního aerosolu nebo inhalačně. Tyto kompozice se připraví podle postupů, které jsou odborníkům v oblasti farmaceutických prostředků známy a mohou se připravit jako roztoky v salinu, za použití benzylalkoholu nebo jiné vhodné konzervační látky, látky podporující absorpci pro zvýšení biologické využitelnosti, fluorovaných uhlovodíků a/nebo jiných solubilizačních nebo dispergačních činidel, která jsou odborníkům pracujícím v této oblasti známa.

Při monoterapii pro prevenci a léčení onemocnění zprostředkovaných IL-1, apoptózou, IGIF a IFN- γ , mezi která patří zánětlivá onemocnění, autoimunní onemocnění, destrukční onemocnění kostí, proliferativní onemocnění, infekční onemocnění, degenerativní onemocnění, nekrotická onemocnění, zánětlivá peritonitida, osteoartritida, akutní pankreatitida, chronická pankreatitida, astma, syndrom dýchacího stresu dospělých, glomerulonefritida, revmatoidní artritida, systémový lupus erythematosus, skleroderma, chronická thyroditida, Gravesova nemoc, autoimunní gastritida, diabetes mellitus závislý na insulinu (typ 1), autoimunní hemolytická anemie, autoimunní neutropenie, trombocytopenie, chronická aktivní hepatitida, myastenia gravis, zánětlivá střevní onemocnění, Crohnova

nemoc, psoriáza, atopická dermatitida, onemocnění štěp vs. hostitel, osteoporóza, onemocnění kostí spojená s mnohočetným myelomem, leukémie a podobná onemocnění, myelodysplastický syndrom, akutní myelogenní leukemie, chronická myelogenní leukemie, metastatická melanom, Kaposiho sarkom, mnohočetný myelom, sepse, septický šok, Shigellosa, Alzheimerova nemoc, Parkinsonova nemoc, mozková ischemie, ischemie myokardu, spinální muskulární atrofie, mnohočetná skleróza, encefalitida související s AIDS, stárnutí, vypadávání vlasů, neurologické poškození způsobené mrtvicí, ulcerativní kolitida, infekční hepatitida, mladický diabetes, lišej, akutní dermatomyositida, ekzém, primární cirrhosa, uveitida, Behcetova nemoc, atopické kožní onemocnění, čistá aplasie červených krvinek, aplastická anémie, amyotrofní laterální skleróza, nefrotický syndrom a systémová onemocnění nebo onemocnění s účinkem lokalizvaným na játrech nebo jiných orgánech, která mají zánětlivou nebo apoptotickou složku způsobenou přebytkem konzumovaného alkoholu v potravinách nebo virem, jako je HBV, HCV, HGV, virus žluté horečky, virus dengue a virus japonské encefalitidy, jsou vhodné dávkovací ladiny mezi 0,01 až 100 mg/kg tělesné hmotnosti za den, s výhodou 0,5 až 75 mg/kg tělesné hmotnosti za den a nejvýhodněji 1 až 50 mg/kg tělesné hmotnosti za den aktivní složky sloučeniny podle vynálezu.

Typicky se farmaceutické kompozice podle předkládaného vynálezu podávají 1 až 5krát denně nebo alternativně jako kontinuální infuze. Toto podávání se může použít při chronické i akutní terapii. Množství aktivní složky, která se může kombinovat s nosičem za vzniku jednotlivé dávkovací formy, se bude měnit podle léčeného pacienta a konkrétního způsobu podávání. Typický přípravek bude obsahovat 5 až 95 % hmotnostních aktivní složky. S výhodou takový prostředek obsahuje 20 až 80 % aktivní složky.

Pokud kompozice podle předkládaného vynálezu obsahuje kombinaci sloučeniny vzorce I a jedné nebo více dalších terapeutických nebo profylaktických látek, budou jak sloučenina, tak další činidlo přítomny v dávkové hladině 10 až 80 % dávky normálně používané při monoterapii.

Po zlepšení stavu pacienta se může, pokud je to nutné, podávat pacientovi udržovací dávka sloučeniny, kompozice nebo kombinace podle předkládaného vynálezu. Potom se může dávka nebo frekvence podávání nebo obojí snížit, jako funkce symptomů, na hladinu, při které se udržuje zlepšený stav a pokud se symptomy zmírní na požadovanou hladinu, léčení se může ukončit. Může být však nutné pacienty občasné léčit po dlouhou dobu při jakémkoli opakování onemocnění nebo symptomů.

Jak bude odborníkům v této oblasti zřejmé, je možné použít nižší nebo vyšší dávky, než bylo uvedeno výše. Specifické dávkování a režimy léčby pro každého konkrétního pacienta budou záviset na různých faktorech, včetně aktivity specifické použité sloučeniny, věku, tělesné hmotnosti, celkového zdravotního stavu, času podávání, rychlosti vylučování, kombinace léků, závažnosti a průběhu onemocnění a dispozice pacienta k onemocnění a úsudku ošetřujícího lékaře.

Onemocnění zprostředkovaná IL-1 nebo apoptózou, která je možné léčit nebo předcházet sloučeninami podle předkládaného vynálezu, zahrnují zánětlivá onemocnění, autoimunní onemocnění, poruchy proliferace, infekční onemocnění a degenerativní onemocnění. Onemocnění zprostředkovaná apoptózou, která je možné léčit nebo předcházet sloučeninami podle předkládaného vynálezu, zahrnují degenerativní onemocnění, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady.

Zánětlivá onemocnění zprostředkovaná IL-1 nebo apoptózou, kte-

rá lze léčit nebo předcházet, zahrnují osteoartritidu, akutní pankreatitidu, chronickou pankreatitidu, astma, a syndrom dýchacího stresu dospělých, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady. Zánětlivá onemocnění s výhodou zahrnují osteoartritidu nebo akutní pankreatitidu.

Autoimunní onemocnění zprostředkovaná IL-1 nebo apoptózou, která lze léčit nebo předcházet, zahrnují glomerulonefritidu, revmatoidní artritidu, systémový lupus erythematosus, skleroderma, chronickou thyroitidu, Gravesovu nemoc, autoimunní gastritidu, diabetes mellitus závislý na insulinu (typu I), autoimunní hemolytickou anemii, autoimunní neutropenii, trombocytopenii, chronickou aktivní hepatitidu, myasthenii gravis, mnohočetnou sklerózu, zánětlivé střevní onemocnění, Crohnovu nemoc, psoriázu, atopickou dermatitidu, a onemocnění štěp vs. hostitel, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady. S výhodou autoimunní onemocnění zahrnují revmatoidní artritidu, zánětlivé střevní onemocnění, Crohnovu nemoc, psoriázu, nebo atopickou dermatitidu.

Destruktivní onemocnění kostí zprostředkovaná IL-1 nebo apoptózou, která lze léčit nebo předcházet, zahrnují osteoporózu a kostní onemocnění spojené s mnohočetným myelomem, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady.

Proliferativní onemocnění zprostředkovaná IL-1 nebo apoptózou, která lze léčit nebo předcházet, zahrnují leukémii a podobná onemocnění, jako je myelodysplastický syndrom, akutní myelogenní leukémie, chronická myelogenní leukémie, metastatický melanom, Kaposiho sarkom a mnohočetný myelom, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady.

Infekční onemocnění zprostředkovaná IL-1 nebo apoptózou, která lze léčit nebo předcházet, zahrnují sepsi, septický šok a Shi-

gellózu, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady.

Degenerativní nebo nekrotická onemocnění zprostředkovaná IL-1 nebo apoptózou, která lze léčit nebo předcházet sloučeninami podle předkládaného vynálezu, zahrnují Alzheimerovu nemoc, Parkinsonovu nemoc, mozkovou ischemii a ischemii myokardu, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady. Degenerativním onemocněním je s výhodou Alzheimerova nemoc.

Degenerativní onemocnění zprostředkovaná IL-1 nebo apoptózou, která lze léčit nebo předcházet sloučeninami podle předkládaného vynálezu, zahrnují Alzheimerovu nemoc, Parkinsonovu nemoc, mozkovou ischemii, ischemii myokardu, spinální svalovou atrofii, mnohočetnou sklerózu, encefalitidu související s AIDS, encefalitidu související s HIV, stárnutí, vypadávání vlasů, a neurologické poškození způsobené mrtvicí, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady.

Pomocí sloučenin podle předkládaného vynálezu se mohou léčit další onemocnění, která mají zánětlivou nebo apoptotickou složku. Těmito onemocněními mohou být systémová onemocnění nebo onemocnění s účinkem lokalizovaným v játrech nebo jiných orgánech a mohou být způsobena například nadměrnou konzumací alkoholu v potravinách nebo viry, jako jsou HBV, HCV, HGV, virus žluté horečky, virus dengue a virus Japonské encefalitidy.

Onemocnění zprostředkovaná IGIF nebo IFN- γ , která se mohou léčit nebo předcházet pomocí sloučenin podle předkládaného vynálezu, zahrnují zánětlivá onemocnění, infekční, autoimunní, proliferativní, neurodegenerativní a nekrotické stavy, vynález se však neomezuje poze na tyto příklady.

Zánětlivá onemocnění zprostředkovaná IGIF nebo IFN- γ , která se

mohou léčit nebo předcházet pomocí sloučenin podle předkládaného vynálezu, zahrnují osteoartritidu, akutní pankreatitidu, chronickou pankreatitidu, astma, revmatoidní artritidu, zánětlivé střevní onemocnění, Crohnovu nemoc, ulcerativní kolitidu, mozkovou ischemii, ischemii myokardu a syndrom dýchacího stresu dospělých, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady. Zánětlivá onemocnění s výhodou zahrnují revmatoidní artritidu, ulcerativní kolitidu, Crohnovu nemoc, hepatitidu nebo syndrom dýchacího stresu dospělých.

Infekční onemocnění zprostředkovaná IGIF nebo IFN- γ , která se mohou léčit nebo předcházet pomocí sloučenin podle předkládaného vynálezu, zahrnují hepatitidu, sepse, septický šok a Shigellosu, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady.

Autoimunní onemocnění zprostředkovaná IGIF nebo IFN- γ , která se mohou léčit nebo předcházet pomocí sloučenin podle předkládaného vynálezu, zahrnují glomerulonefritidu, systémový lupus erythematosus, skleroderma, chronickou thyroitidu, Gravesovu nemoc, autoimunní gastritidu, diabetes mellitus závislý na insulinu (typu I), mladický diabetes, autoimunní hemolytickou anemii, autoimunní neutropenii, trombocytopenii, myasthenii gravis, mnohočetnou sklerózu, psoriázu, lichenplanus, onemocnění štěp vs. hostitel, akutní dermatomyositidu, ekzém, primární cirrhosu, hepatitidu, uveitidu, Behcetovu nemoc, atopické kožní onemocnění, čistou aplasii červených krvinek, aplastickou anemii, amyotrofní laterální sklerózu, a nefrotický syndrom, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady. S výhodou autoimunní onemocnění zahrnují glomerulonefritidu, diabetes mellitus závislý na insulinu (typu I), mladický diabetes, psoriázu, onemocnění štěp vs. hostitel nebo hepatitidu.

Výhodnější onemocnění, která lze léčit nebo předcházet, zahr-

nují revmatoidní arthritidu, zánětlivé střevní onemocnění, včetně Crohnovy nemoci a ulcerativní kolitidy, zánětlivou peritonitidu, septický šok, pankreatitidu, traumatickou mozkovou příhodu, odmítnutí transplantovaného orgánu, osteoarthritis, astma, psoriázu, Alzheimerovu nemoc, atopickou dermatitidu nebo leukémie a podobná onemocnění, jako je myelodysplastický syndrom nebo mnohočetný myelom.

Podle jednoho provedení tedy předkládaný vynález poskytuje způsob léčení nebo prevence onemocnění zprostředkovaného IL-1 nebo apoptózou u pacienta, přičemž způsob zahrnuje krok podávání jakékoli sloučeniny, farmaceutické kompozice nebo požadované kombinace popsané podle vynálezu a farmaceuticky přijatelného nosiče pacientovi.

Další provedení podle předkládaného vynálezu poskytuje způsob potlačení produkce IGIF u pacienta, kdy způsob zahrnuje krok podávání jakékoli sloučeniny, farmaceutické kompozice nebo požadované kombinace popsané podle vynálezu a farmaceuticky přijatelného nosiče pacientovi.

Ještě další provedení podle předkládaného vynálezu poskytuje způsob snížení produkce IFN- γ u pacienta, kdy způsob zahrnuje krok podávání jakékoli sloučeniny, farmaceutické kompozice nebo požadované kombinace popsané podle vynálezu a farmaceuticky přijatelného nosiče pacientovi.

Ačkoli je předkládaný vynález zaměřen na použití sloučenin podle předkládaného vynálezu pro prevenci a léčení onemocnění zprostředkovaných IL-1, apoptózou, IGIF a IFN- γ , sloučeniny podle předkládaného vynálezu se mohou také použít jako inhibiční činidla pro další cysteinové proteázy.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou také vhodné jako

komerční reagenty, které se účinně váží ke kaspáze nebo jiným cysteinovým proteázám, mezi které patří ICE, vynález se však neomezuje pouze na tento příklad. Jako komerční reagenty se mohou sloučeniny podle předkládaného vynálezu a jejich deriváty použít pro blokování proteolýzy cílového peptidu při biochemických nebo buněčných testech na ICE a homologa ICE nebo se mohou derivatizovat tak, že se váží ke stabilní pryskyřici jako vazebnému substrátu pro použití při afinitní chromatografii. Tato a další použití, která charakterizují komerční inhibitory cysteinových proteáz, budou odborníkům pracujícím v této oblasti zřejmá.

Aby mohl být vynález lépe pochopen, jsou připojeny následující příklady. Tyto příklady slouží pouze pro ilustraci a rozhodně je nelze považovat za omezení rozsahu předkládaného vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

Podmínky analytické vysokotlaké chromatografie (HPLC):

Kolona: C-18, velikost částic: 5 μ , velikost pórů: 100 Å,

Velikost kolony: 4,6 x 150 mm

Rozpouštědlo A: 0,1 % TFA/1 % MeCN/98,9 % voda

Rozpouštědlo B: 0,1 % TFA/99,9 % MeCN

Gradient: A ku B během 20 minut při průtoku 1 ml/min

Kolona : Kyano, velikost částic: 5 μ , velikost pórů: 100 Å,

Velikost kolony: 4,6 x 150 mm,

Rozpouštědlo A: 0,1 % TFA/1 % MeCN/98,9 % voda

Rozpouštědlo B: 0,1 % TFA/99,9 % MeCN

Gradient: A/B = 99 %/1 % ku 50 %/50 % během 20 minut při průtoku 1 ml/min

HPLC hmotová spektrální analýza:

Hmotová spektrální analýza: Všechna hmotová spektrální data se měří za použití hmotového spektrometru Micromass Quattro II triple quadrupole (Beverly, MA) opatřeného kapalinokružným elektronsprejovým ionizačním zdrojem. Hmotový spektrometr je spojen s HPLC systémem vyrobeným společností Hewlett-Packard (HP1100). Automatickým samplerem systému je kapalinový manipulátor Gilson 215 (Middleton, WI). Celé zařízení se kontroluje pomocí software MassLynx od společnosti Micromass.

Hmotová spektrální analýza se provádí pomocí kapalinové chromatografie-MS pro určení čistoty za současného potvrzení molekulové hmotnosti. V případech, kdy se čistota vzorku určí jinými způsoby, se místo úplné chromatografické analýzy použije průtoková nástřiková analýza (FIA). Shromáždí se všechny případy jak pozitivních, tak negativních iontových spekter.

Podmínky získání hmotového spektra: Při všech experimentech byl hmotový spektrometr konfigurován v elektronsprejovém módu s kapalinokružnou odečtovou elektrodou. Pro snížení průtoku z HPLC na 40 % původního průtoku se použil separátor toku. Teplota u vstupu byla nastavena na 140 °C a průtok sušícího plynu byl nastaven na maximální signál. Rozlišení hmotového spektrometru bylo nastaveno na 0,65 amu FWHM a data se odečítala centroidním způsobem. Při pozitivním iontovém módu bylo kuželové napětí nastaveno na 25 V, kapilární napětí na 3,8 kV. Při negativním iontovém módu bylo kuželové napětí nastaveno na 25 V, kapilární napětí na 3,5 kV. Jak při pozitivním, tak při negativním iontovém módu byl čas získání úplného spektra 1 s při spínacím čase 0,25 sekundy mezi skeny. Rozsah hmoty skenovaný při očekávané molekulové hmotnosti nižší než 350 amu byl 70 až 500 m/z, zatímco u molekul s očekávanou

hmotností vyšší než 350 amu byl skenovaný poměr hmoty k náboji 200-1000 m/z.

Podmínky chromatografie: Kapalinová chromatografie se provádí za použití YMC AQ C18 kolony (150 mm x 3 mm při 5 μ m částicích a velikosti pórů 120 Å). Při analýze se MeCN s 0,2 % kyseliny mravenčí smísí s vodou s 0,2 % kyseliny mravenčí za vzniku elučního gradientu. Profil gradientu se skládá z výchozích 15 % MeCN:voda a množství MeCN se zvyšuje lineárně během 10 minut na 90 %. Tato koncentrace se udržuje konstantní 2 minuty a potom se nastaví výchozí podmínky. Během celé analýzy je průtok 0,9 ml/min.

Podmínky průtokové nástřikové analýzy: Při získávání FIA údajů se použije směs 1:1 vody a acetonitrilu (přičemž obě kapaliny obsahují 0,2 % kyseliny mravenčí). Průtok se nastaví na 0,3 ml/min.

¹H-NMR

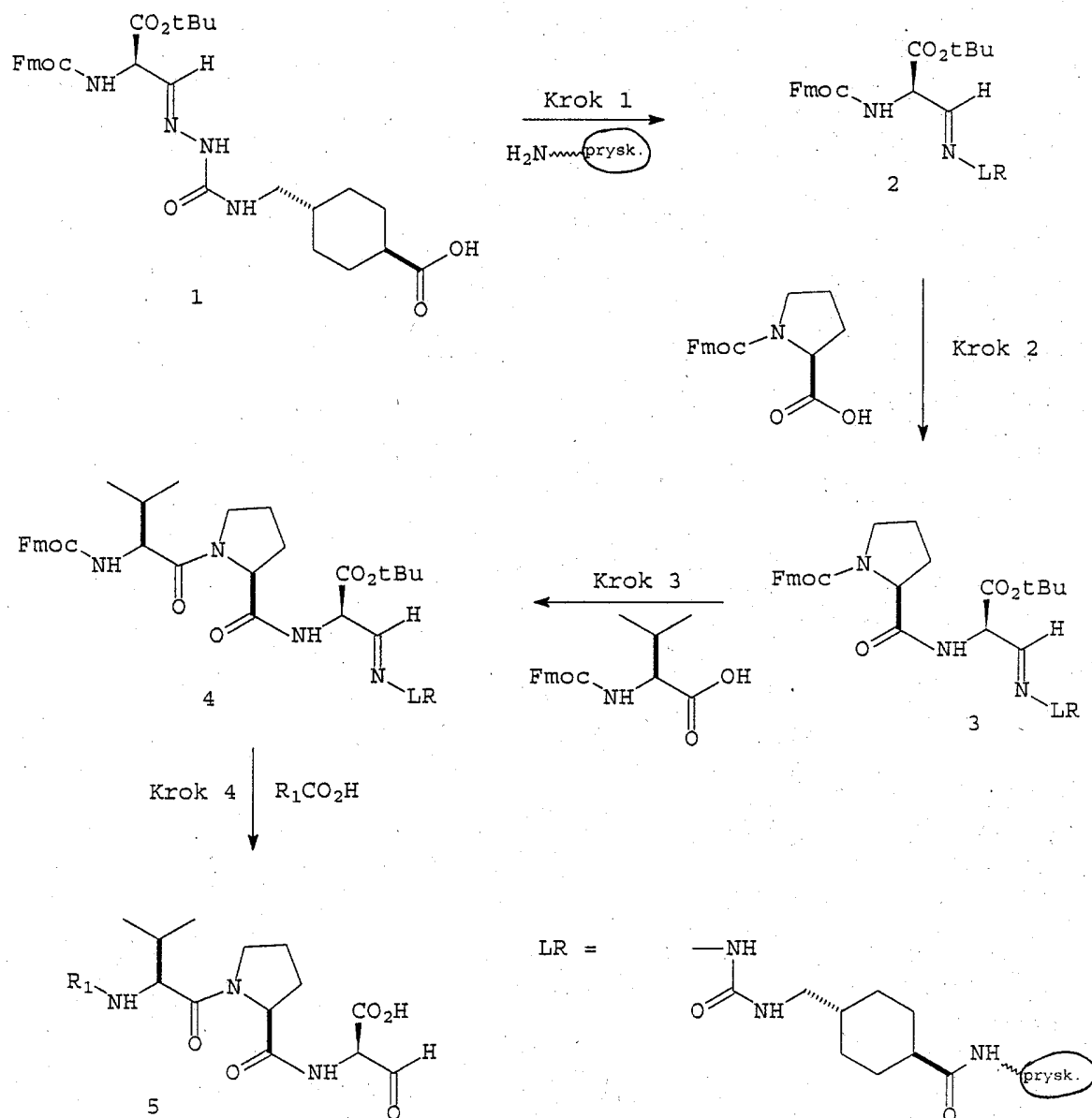
Všechna ¹H NMR spektra se získají za použití NMR spektrometru Bruker Instruments AMX-500 v daném rozpouštědle.

Způsoby syntézy

Obecný postup pro přípravu sloučeniny vzorce I, provedení C (Schémata I až VI)

Postup při přípravě analogů 5a-5bd

Schéma I



Ve schématech I-VIII znamená proměnná LR připojení pryskyřice a je definovaná tak, jak je popsáno ve schématu I výše.

Krok 1: 6,7 g (0,8 mmol/gram vsádky, 5,36 mmol) pryskyřice obsahující hydrochlorid 4-methylbenzhydylaminu (schéma I) se promyje 3x50 ml dimethylformamidu, 3x50 ml 10% DIEA/DMF a 3x50 ml N-methylpyrrolidinonu. K suspenzi promyté pryskyřice v 25 ml NMP se postupně přidá 3,5 g (1,1 ekvivalentu, 5,90 mmol)

sloučeniny vzorce 1, 3,1 ml (3,33 ekvivalentu, 17,70 mmol) DIEA, 797 mg (1,1 ekvivalentu, 5,90 mmol) hydrátu 1-hydroxybenzotriazolu a 2,24 g (1,1 ekvivalentu, 5,90 mmol) O-benzotriazol-N,N,N,N'-tetramethyluroniumhexafluorofosfátu (HBTU). Sloučenina vzorce 1 se připraví podle postupu popsaneho v literatuře A.M. Murphy a kol., J. Am. Chem. Soc, 114, strany 3156-3157 (1992). Směs se míchá při teplotě místnosti přes noc za použití ramenového míchadla.

Získaná směs se filtruje a pryskyřice se promyje dimethylformamidem, potom se reaguje s 12 ml 20% roztoku anhydridu kyseliny octové v dimethylformamidu 30 minut při teplotě místnosti. Směs se filtruje a pryskyřice se postupně promyje 2x50 ml dimethylformamidu, 50 ml methanolu, 2x50 ml směsi dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, 50 ml methanolu a 3x50 ml dichlormethanu. Po sušení ve vakuu se získá 9,0 g pryskyřice 2 (0,48 mmol/gram navážky).

Krok 2: K 4,5 g pryskyřice 2 (0,48 mmol/gram, 2,16 mmol) se přidá 25 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu. Suspenze se míchá 5 minut při teplotě místnosti a potom se odstraní rozpouštědlo. Postup se opakuje po 20 minutách. Pryskyřice se potom postupně promyje 2x40 ml dimethylformamidu, 40 ml methanolu, 2x40 ml dichlormethanu, 40 ml methanolu a 40 ml NMP. K suspenzi pryskyřice v 40 ml NMP se postupně přidá 2,92 g N-Fmoc-prolinu (4 ekvivalenty, 8,64 mmol), 3,0 ml DIEA (8 ekvivalentů, 17,28 mmol), 1,17 HOBt (4 ekvivalenty, 8,64 mmol) a 3,27 g HBTU (4 ekvivalenty, 8,64 mmol). Směs se míchá při teplotě místnosti přes noc a rozpouštědlo se odstraní. Tento kondenzační postup se zopakuje po 3 hodinách. Pryskyřice se potom postupně promyje 2x40 ml dimethylformamidu, 40 ml methanolu, 2x40 ml směsi dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, 40 ml methanolu a 3x40 ml dichlormethanu a krátce se suší

ve vakuu za získání pryskyřice 3.

Krok 3: Suspenze pryskyřice 3 v 25 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu se míchá 5 minut při teplotě místnosti. Ze suspenze se odstraní rozpouštědlo. Postup se zopakuje po 20 minutách. Pryskyřice se postupně promyje 2x40 ml dimethylformamidu, 40 ml methanolu, 2x40 ml dichlormethanu, 40 ml methanolu, a 2x40 ml NMP. K suspenzi pryskyřice v 40 ml NMP se postupně přidá 2,93 g N-Fmoc-valinu (4 ekvivalenty, 8,64 mmol), 3,0 ml DIEA (8 ekvivalentů, 17,28 mmol), 1,17 g HOBt (4 ekvivalenty, 8,64 mmol), a 3,2 g HBTU (4 ekvivalenty, 8,64 mmol). Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Tento kondenzační postup se zopakuje po 3 hodinách. Pryskyřice se potom promyje 2x40 ml dimethylformamidu, 40 ml methanolu, 2x40 ml směsi dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, 40 ml methanolu a 3x40 ml dichlormethanu a suší se ve vakuu za získání pryskyřice 4 (0,45 mmol/gram).

Krok 4: K 0,05mmol podílu pryskyřice 4 se přidají 2 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu. Suspenze se míchá 5 minut při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Postup se zopakuje po 20 minutách. Získaná pryskyřice se potom postupně promyje 3x5 ml dimethylformamidu, 5 ml methanolu a 3x5 ml NMP. Potom se přidá požadovaná karboxylová kyselina (4 ekvivalenty, 0,2 mmol), potom 0,8 ml 0,25M roztoku HOBt v NMP, 0,14 ml DIEA (8 ekvivalentů, 0,4 mmol) a 0,8 ml 0,25M roztoku HBTU v NMP. Směs se míchá při teplotě místnosti přes noc a rozpouštědlo se odstraní. Pryskyřice se promyje postupně 2x5 ml dimethylformamidu, 5 ml methanolu, 2x5 ml směsi dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, 5 ml methanolu a 3x5 ml dichlormethanu a suší se ve vakuu. K pryskyřici se potom přidá 2ml část 95% roztoku kyseliny trifluoroctové ve vodě. Směs se míchá 1 hodinu při teplotě místnosti a filtruje se. Filtrát se

odpaří a zbytek se převede do směsi acetonitrilu a vody a čistí se pomocí preparativní vysokotlaké kapalinové chromatografie za získání sloučenin 5a-5bd.

Pokud není uvedeno jinak, získané produkty, podmínky analytické HPLC, HPLC retenční časy, čistota produktu a hmotová spektrální data získaná v příkladech 5a-5bd, 7a-7at, 9a-9g, 15a-15f, 16a-16b, 17a-17e, 18a-18f, 20a-20t, 23a-23i, 24a-24e, 25a-25e, 26a-26h, 27a-27n, 28a-28c, 29a-29s, 32a-32e jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: Fyzikální údaje pro vybrané příklady

Př.	Výtěžek (mg)	HPLC gradient/ čas (min)	Retenční čas (min)	Čistota (%)	Hmot. sp. (M+H nebo M+Na)
5a	1,0	5-45%/10'	4,66	92	475,2
5b	1,0	5-45%/10'	6,86	85	457,2
5c	4,0	5-45%/10'	5,98	85	469,2
5d	1,5	5-45%/10'	6,82	95	467,5
5e	1,0	5-45%/10'	5,52	95	418,2
5f	0,6	5-45%/10'	4,28	93	434,2
5g	6,4	10-60%/10'	8,57	97	504,7 (+Na)
5h	15,6	10-60%/10'	4,51	99	459,2
5i	6,6	5%-90%/10'	9,34	90	506,1
5j	5,1	5%-90%/10'	10,04	95	506,1
5k	10,7	5%-90%/10'	8,64	85	520,1
5l	6,6	5%-90%/10'	8,72	85	540,1
5m	6,8	5%-90%/10'	7,89	85	502,0
5n	1,9	5%-0%/10'	6,46	85	494,1
5o	3,8	5%-90%/10'	7,04	85	506,1
5p	6,8	5%-90%/10'	11,62	95	576,0
5q	2,2	5%-90%/10'	9,72	90	508,1
5r	3,8	5%-90%/10'	7,27	85	462,1
5s	4,3	5%-90%/10'	6,46	90	470,1
5t	5,9	5%-60%/9' 60%-90 %/2'	10,27	90	486,2
5u	3,1	5%-60%/9' 60%-90 %/2'	9,09	80	522,1
5v	1,0	5%-60%/9' 60%-90%/2'	11,63	85	502,2
5w	10,3	5%-60%/9' 60%-90%/2'	8,75	95	470,2

20.10.00

Př.	Výtěžek (mg)	HPLC gradient/ čas (min)	Retenční čas (min)	Čistota (%)	Hmot. sp. (M+H nebo M+Na)
5x	8,8	5%-60%/9' 60%-90%/2'	8,88	95	565,1
5y	6,6	5%-60%/9' 60%-90%/2'	12,32	95	518,2
5z	10,2	5%-60%/9' 60%-90%/2'	12,63	95	502,2
5aa	2,5	5%-60%/9' 60%-90%/2'	9,57	95	554,1
5ab	7,8	5%-60%/9' 60%-90%/2'	10,54	85	538,2
5ac	1,4	5%-60%/9' 60%-90%/2'	9,28	95	476,2
5ad	5,3	5%-60%/9' 60%-90%/2'	6,51	85	469,2
5ae	4,3	5%-60%/9' 60%-90%/2'	9,81	95	551,1
5af	0,9	5%-60%/9' 60%-90%/2'	9,98	90	547,4
5ag	5,7	5%-60%/9' 60%-90%/2'	10,31	90	526,2
5ah	1,4	5%-60%/9' 60%-90%/2'	8,13	85	542,1
5ai	10,9	10%-90%/10'	5,88	85	584,2
5aj	4,2	10%-90%/10'	5,89	90	556,2
5ak	7,8	10%-90%/10'	5,54	85	568,3
5al	8,4	10%-90%/10'	6,25	95	516,2
5am	7,6	10%-90%/10'	6,49	95	474,3
5an	6,2	10%-90%/10'	6,00	95	500,2
5ao	9,4	10%-90%/10'	6,68	95	581,3
5ap	6,4	10%-90%/10'	4,30	90	500,3
5aq	5,2	10%-90%/10'	6,45	95	559,2
5ar	1,4	10%-90%/10'	5,38	90	561,3
5as	16,2	10%-90%/10'	4,25	95	475,2
5at	15,4	10%-90%/10'	6,68	95	560,3
5au	5,9	10%-90%/10'	6,70	90	498,3
5av	4,1	10%-90%/10'	5,13	85	531,2
5aw	5,5	10%-90%/10'	6,53	85	570,3
5ax	14,0	10%-90%/10'	6,26	90	557,3
5ay	10,4	10%-90%/10'	6,52	90	510,3
5az	9,2	10%-90%/10'	5,96	95	522,3
5ba	8,5	10%-90%/10'	6,69	95	562,3
5bb	4,6	10%-90%/10'	6,00	85	520,2
5bc	8,8	10%-90%/10'	4,96	90	546,2

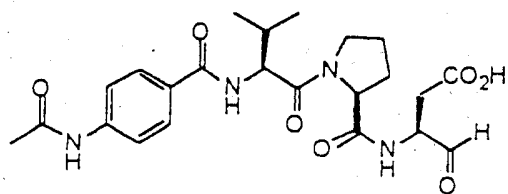
Př.	Výtěžek (mg)	HPLC gradient/ čas (min)	Retenční čas (min)	Čistota (%)	Hmot. sp. (M+H nebo M+Na)
5bd	8,2	10%-90%/10'	8,01	95	536,3
7a	2,1	5-45%/10'	5,28	86	440,2
7b	1,7	5-45%/10'	4,12	94	390,2
7c	0,5	5-45%/10'	4,04	94	434,2
7d	1,1	5-45%/10'	4,29	95	441,2
7e	1,1	5-45%/10'	3,28	98	447,2
7f	1,0	5-45%/10'	3,96	97	420,2
7g	11,0	10%-90%/10'	4,00	95	483,4
7h	6,0	10%-90%/10'	4,90	95	439,3
7i	12,0	10%-90%/10'	6,40	95	474,3
7j	6,6	10%-90%/10'	4,50	95	461,4
7k	4,0	10%-90%/10'	5,40	95	480,4
7l	8,6	10%-90%/10'	2,61	95	435,3
7m	6,0	10%-90%/10'	4,29	95	438,4
7n	15,4	10%-90%/10'	2,00	85	433,4
7o	8,4	10%-90%/10'	4,01	90	470,0
7p	3,0	10%-90%/10'	4,61	95	434,4
7q	5,7	10%-90%/10'	3,89	95	434,3
7r	8,8	10%-90%/10'	2,94	95	425,3
7s	10,5	10%-90%/10'	3,89	90	433,4
7t	6,9	10%-90%/10'	2,45	85	419,3
7u	11,6	10%-90%/10'	1,98	85	433,3
7v	4,6	10%-90%/10'	4,60	95	489,4
7w	13,8	10%-90%/10'	4,20	95	453,3
7x	6,0	10%-90%/10'	3,90	95	483,2
7y	12,0	10%-90%/10'	5,40	95	489,2
7z	10,0	10%-90%/10'	5,40	95	517,2
7aa	11,0	10%-90%/10'	5,30	95	453,8
7ab	10,0	10%-90%/10'	5,60	95	595,1
7ac	3,9	10-60%/10'	4,59	88	469,2
7ad	13,0	5-45%/10'	4,48	88	415,2
7ae	4,9	5-45%/10'	4,37	88	426,2
7af	20,6	5-45%/10,0'	4,68	86	405,3
7ag	14,9	5-45%/10'	4,78	82	406,3
7ah	9,5	5-45%/10'	7,40	91	447,3 (+Na)
7ai	10,8	5-45%/10'	9,21	95	480,8 (+Na)
7aj	8,3	5-45%/10'	9,14	92	481,1 (+Na)
7ak	13,6	5-45%/10'	8,05	96	464,8 (+Na)
7al	8,1	5-45%/10'	7,04	91	448,8 (+Na)
7am	7,8	5-45%/10'	8,54	90	480,4 (+Na)
7an	4,3	5-45%/10'	7,48	88	460,9 (+Na)
7ao	13,5	5-45%/10'	7,45	92	460,7 (+Na)
7ap	2,5	5-45%/10'	6,52	93	440,3 (+Na)

Př.	Výtěžek (mg)	HPLC gradient/ čas (min)	Retenční čas (min)	Čistota (%)	Ident. sp. (M+H nebo M+Na)
7aq	1,4	5-45%/10'	3,30	84	405,2
7ar	15,10	5-45%/10'	3,79	97	413,30
7as	15,70	5-45%/10'	5,50	88	441,30
7at	22,20	5-45%/10'	4,49	94	415,30
9a	0,5	10-60%/10'	7,08	98	527,4(+Na)
9b	1,2	10-60%/10'	8,31	93	570,5(+Na)
9c	2,5	10-60%/10'	8,46	97	569,6
9d	1,2	10-60%/10'	7,22	85	562,1
9e	0,4	10-60%/10'	7,86	95	543,2(+Na)
9f	4,3	10-60%/10'	8,11	96	542,5
9g	2,1	10-60%/10'	7,18	93	526,3
15a	1,0	10%-60%/10'	5,76	95	477,6
15b	3,9	10%-60%/10'	6,32	91	483,8
15c	2,9	10%-90%/10'	3,30	85	463,3
15d	1,3	10%-90%/10'	4,26	95	531
15e	1,0	10%-90%/10'	3,10	85	482,3
15f	1,2	10%-90%/10'	3,60	95	484,6
16a	2,5	10%-90%/10'	2,80	95	456,3
16b	6,0	10%-90%/10'	1,90	95	454,2
17a	1,0	10%-90%/10'	3,30	85	496,8
17b	1,1	10%-90%/10'	3,62	85	498,3
17c	2,3	10%-90%/10'	5,80	95	573,2
17d	1,6	10%-90%/10'	1,60	95	525,1
17e	1,5	10%-90%/10'	2,62	95	526,3
18a	1,0	10%-90%/10'	3,90	95	528,3
18b	1,2	10%-90%/10'	5,27	95	562,3
18c	2,2	10%-90%/10'	4,09	95	499,2
18d	1,5	10%-90%/10'	3,78	95	498,3
18e	1,2	10%-90%/10'	4,78	95	541,3
18f	7,1	10%-90%/10'	3,84	98	526,1
20a	2,0	5-45%/10'	6,95	91	483,2
20b	1,3	5-45%/10'	7,58	99	482,2
20c	2,5	10%-90%/10'	5,89	85	483,3
20d	4,3	10%-90%/10'	4,09	90	471,3
20e	3,6	10%-90%/10'	4,65	95	455,3
20f	12,2	10%-90%/10'	3,25	95	518,3
20g	12,1	10%-90%/10'	5,01	90	487,2
20h	3,3	10%-90%/10'	4,30	90	533,2
20i	5,0	10%-90%/10'	4,16	90	485,2
20j	1,3	10%-90%/10'	3,45	85	531,2
20k	9,7	10%-90%/10'	5,41	90	516,2
20l	3,8	10%-90%/10'	3,73	85	504,2
20m	6,6	10%-90%/10'	4,52	90	488,2

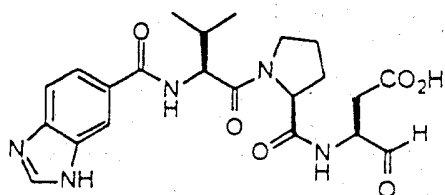
Př.	Výtěžek (mg)	HPLC gradient/ čas (min)	Retenční čas (min)	Čistota (%)	Hmot. sp. (M+H nebo M+Na)
20n	1,8	10%-90%/10'	2,85	90	551,2
200	7,0	10%-90%/10'	4,70	95	520,2
20p	1,2	10%-90%/10'	4,00	95	566,2
20q	2,3	10%-90%/10'	4,93	95	481,3
20r	3,6	10%-90%/10'	4,45	95	519,3
20s	3,0	10%-90%/10'	4,18	95	552,2
20t	6,0	10%-90%/10'	3,80	90	517,4
23a	21,0	10-60%/10'	8,11	99	495,4
23b	25,0	10-60%/10'	8,94	99	539,8(+Na)
23c	26,0	10-60%/10'	8,55	99	539,9(+Na)
23d	12,6	10%-90%/10'	3,90	85	453,3
23e	8,3	10%-90%/10'	5,16	85	501,3
23f	12,5	10%-90%/10'	3,41	80	425,3
23g	1,5	10%-90%/10'	3,34	85	452,3
23h	8,4	10%-90%/10'	3,84	90	451,3
23i	9,0	10%-90%/10'	3,78	85	469,4
24a	1,1	10-60%/12'	8,76	90	480,5
24b	3,1	10-60%/10'	5,14	90	375,4
24c	7,2	10-60%/10'	10,33	96	531,0
24d	3,4	10-60%/10'	6,51	95	426,5(+Na)
24e	6,9	10-60%/10'	7,22	99	455,5
25a	1,9	5-45%/10'	5,38	85	455,2
25b	1,5	5-45%/10'	6,90	97	483,2
25c	1,0	5-45%/10'	8,09	94	497,2
25d	12,8	5-45%/10'	5,75	88%	453,3
25e	9,5	5-45%/10'	7,76	90%	495,2
26a	10,2	5-45%/10'	7,36	95	455,1(+Na)
26b	1,1	5-45%/10'	7,38	89	476,3
26c	13,8	5-45%/10'	8,13	98	483,2
26d	2,3	5-45%/10'	10,35	99	503,0
26e	12,8	5-45%/10'	11,11	99	523,2
26f	13,2	10-60%/10'	12,11	99	545,0
26g	0,7	10-60%/10'	10,89	87	523,2
26h	4,4	10-60%/10'	11,62	99	545,8
27a	5,0	10%-90%/10'	4,42	95	475,3
27b	16,4	10-60%/10'	5,20	92	505,1
27c	2,7	5-45%/10'	7,50	82	476,6(+Na)
27d	1,6	5-45%/12'	8,70	90	503,2
27e	4,4	5-45%/12'	7,80	82	489,2
27f	1,2	5-45%/12'	6,95	85	476,3
27g	2,5	5-45%/12'	6,67	82	510,1
27h	1,1	5-45%/12'	8,49	95	524,1
27i	0,9	5-45%/12'	7,34	90	484,3

20.10.00

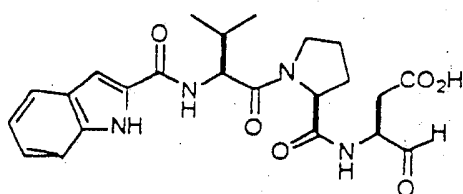
Př.	Výtěžek (mg)	HPLC gradient/ čas (min)	Retenční čas (min)	Čistota (%)	Hmot. sp. (M+H nebo M+Na)
27j	4,3	5-45%/12'	5,77	82	470,3
27k	1,3	5-45%/12'	5,33	95	551,1
27l	16,6	5-45%/10'	5,90	91	477,2
27m	7,0	5-45%/10'	7,70	93	494,2
27n	15,1	5-45%/10'	3,99	86	466,2
28a	1,2	5-45%/10'	5,91	86	487,1
28b	0,5	5-45%/10'	6,86	98	486,1
28c	1,5	5-45%/10'	7,47	93	515,1
29a	4,5	5-45%/12'	8,21	98	392
29b	28,0	5-45%/12'	11,80	96	443,3
29c	1,7	5-45%/10'	3,73	97	415,2
29d	1,7	5-45%/10'	4,62	89	414,2
29e	0,6	5-45%/10'	4,94	85	436,2
29f	1,1	5-45%/10'	6,23	97	442,2
29g	1,7	5-45%/10'	6,39	90	457,2
29h	0,7	5-45%/10'	3,56	92	408,2
29i	0,7	5-45%/10'	6,50	96	431,2
29j	0,4	5-45%/10'	7,24	89	445,2
29k	1,6	5-45%/10'	7,07	90	456,2
29l	0,9	5-45%/10'	3,08	99	408,2
29m	1,5	10-60%/10'	6,68	90	406,3
29n	6,4	10-60%/10'	4,27	87%	422,3
29o	8,4	10-60%/10'	4,42	86%	422,3
29p	13,2	10-60%/10'	5,62	83%	450,3
29q	15,1	5-45%/10'	3,79	97%	413,3
29r	15,7	5-45%/10'	5,50	88%	441,3
29s	19,9	5-45%/10'	4,30	95%	394,3
32a	7,7	5-60%/20'	14,2	90	469,3
32b	4,0	5-60%/20'	13,4	85	485,1 (+Na)
32c	2,5	5-60%/20'	11,1	90	459,3
32d	3,0	5-60%/20'	8,19	95	471,3
32e	4,9	5-60%/20'	14,2	90	486,2



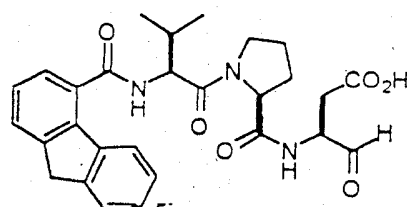
5a



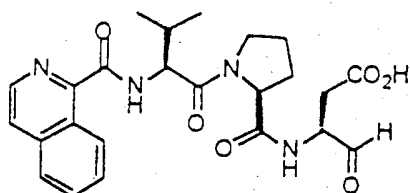
5h



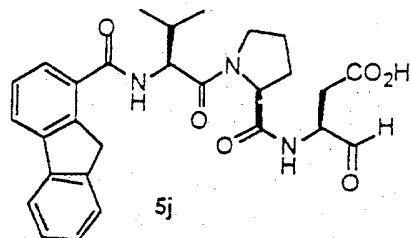
5b



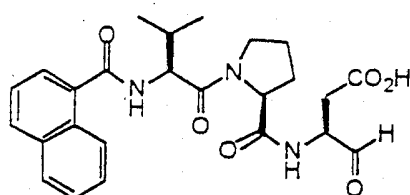
5i



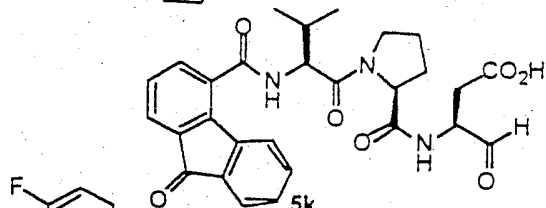
5c



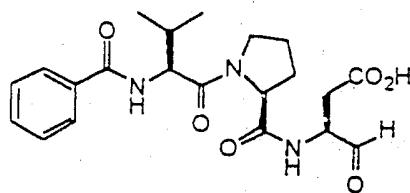
5j



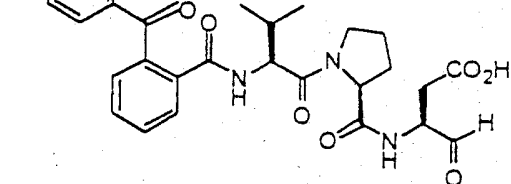
5d



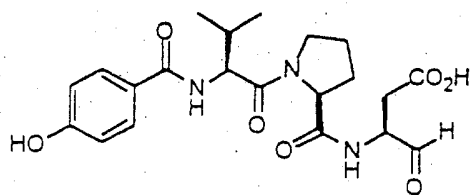
5W



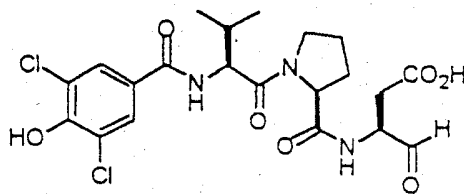
5e



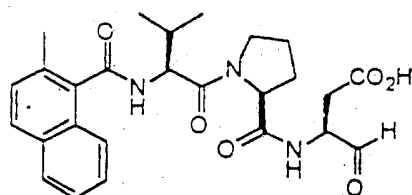
51



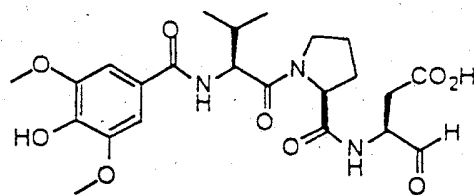
5f



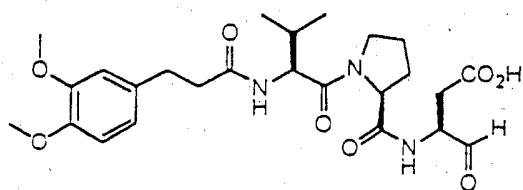
5m



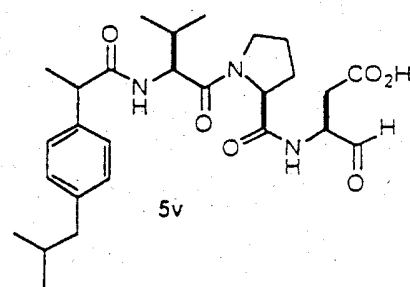
5g



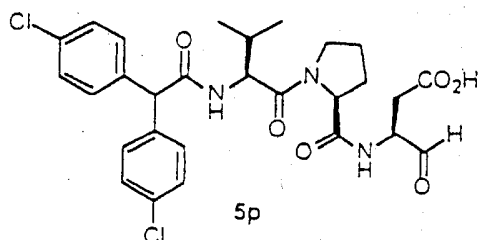
5n



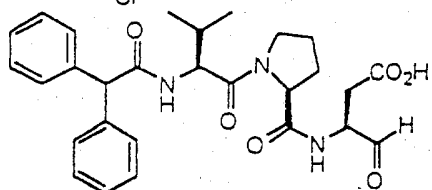
5o



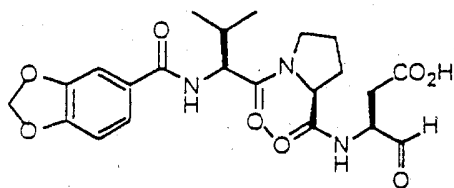
5v



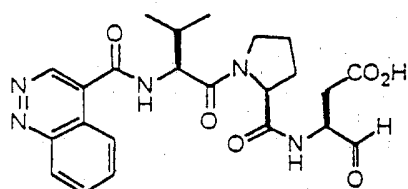
5p



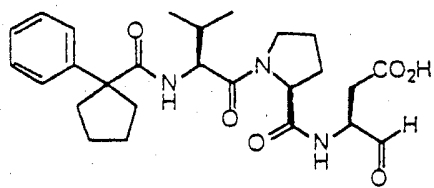
5q



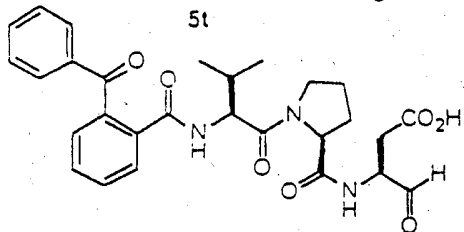
5r



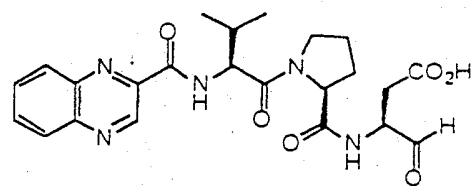
5s



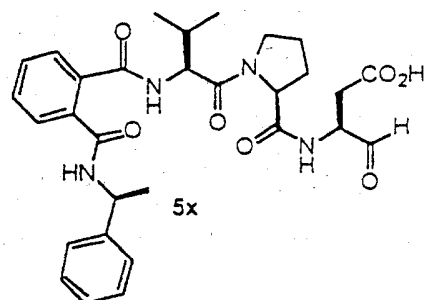
5t



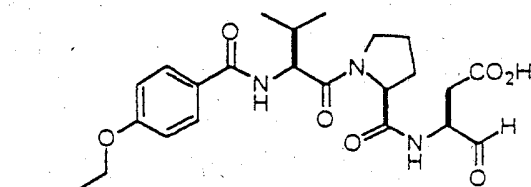
5u



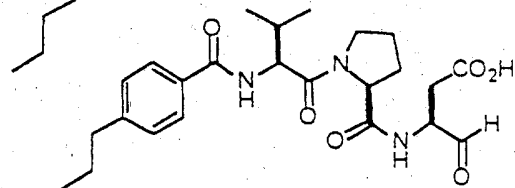
5w



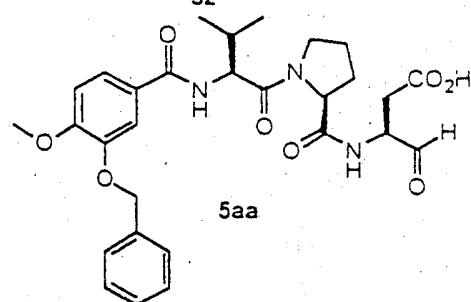
5x



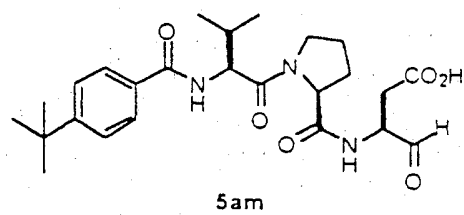
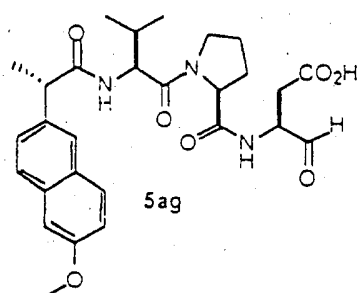
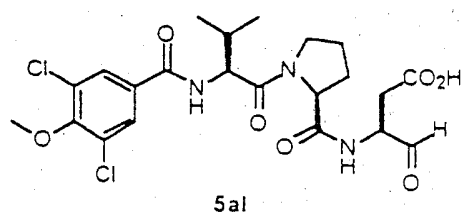
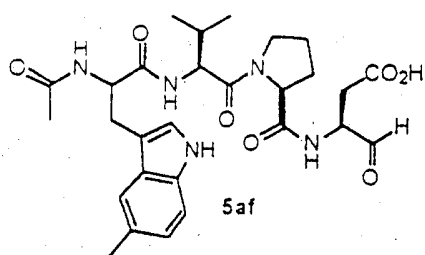
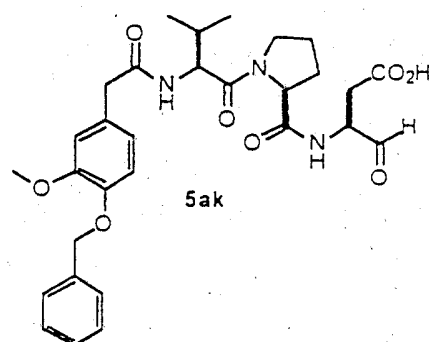
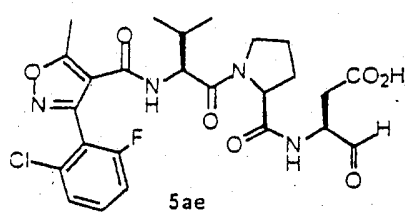
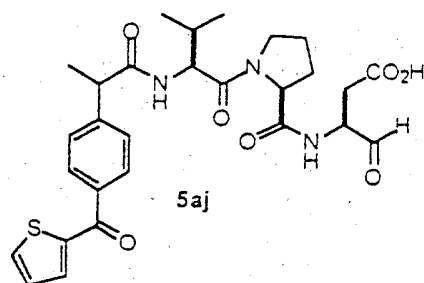
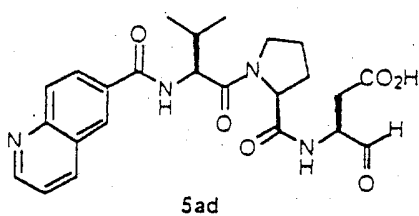
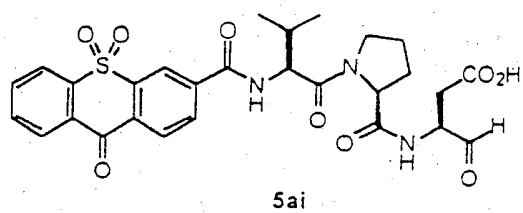
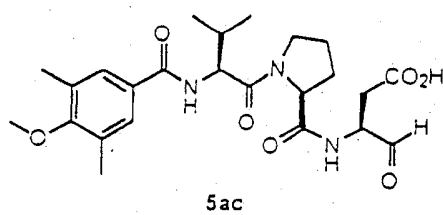
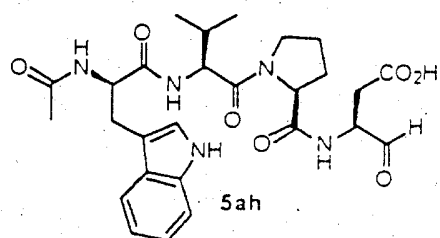
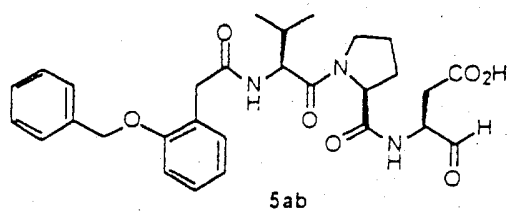
5y

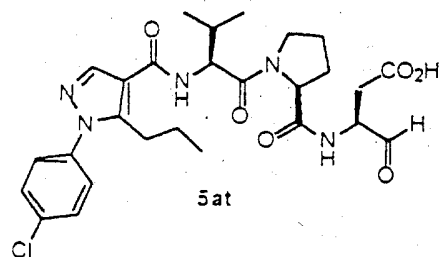
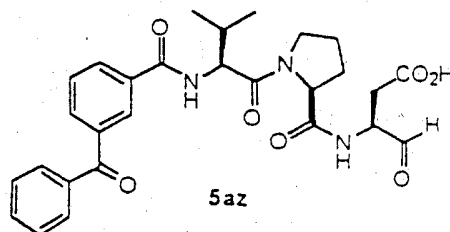
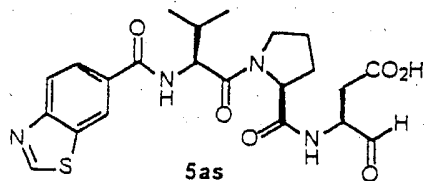
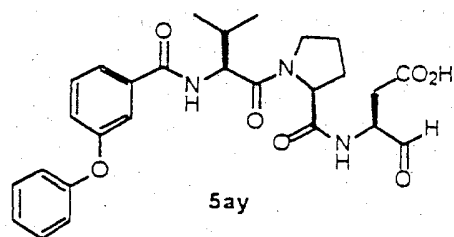
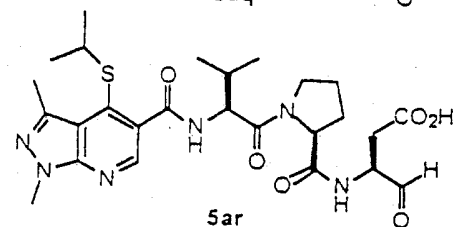
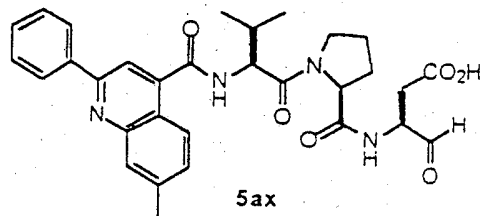
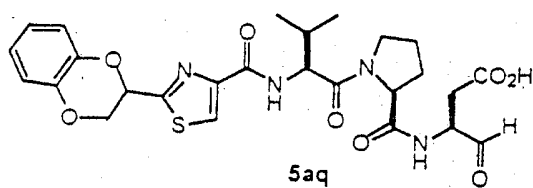
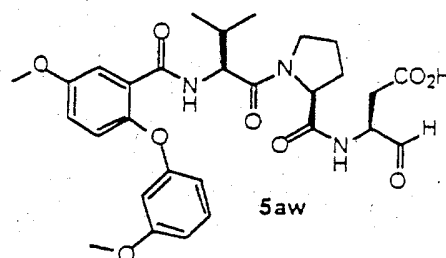
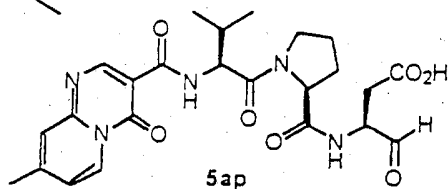
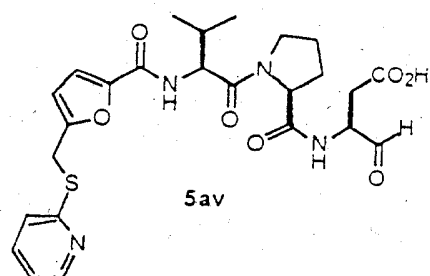
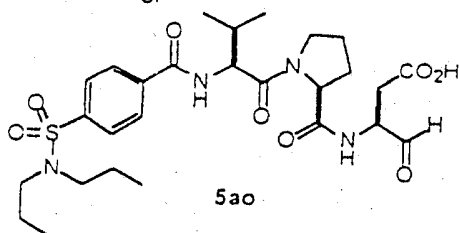
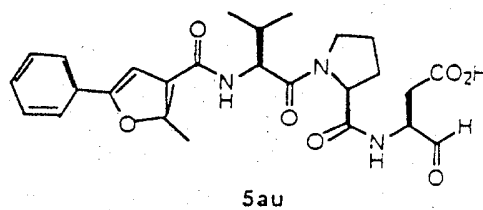
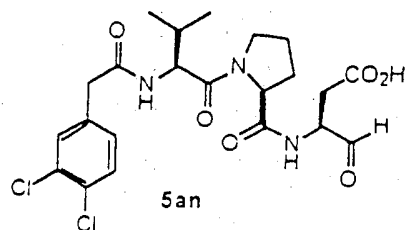


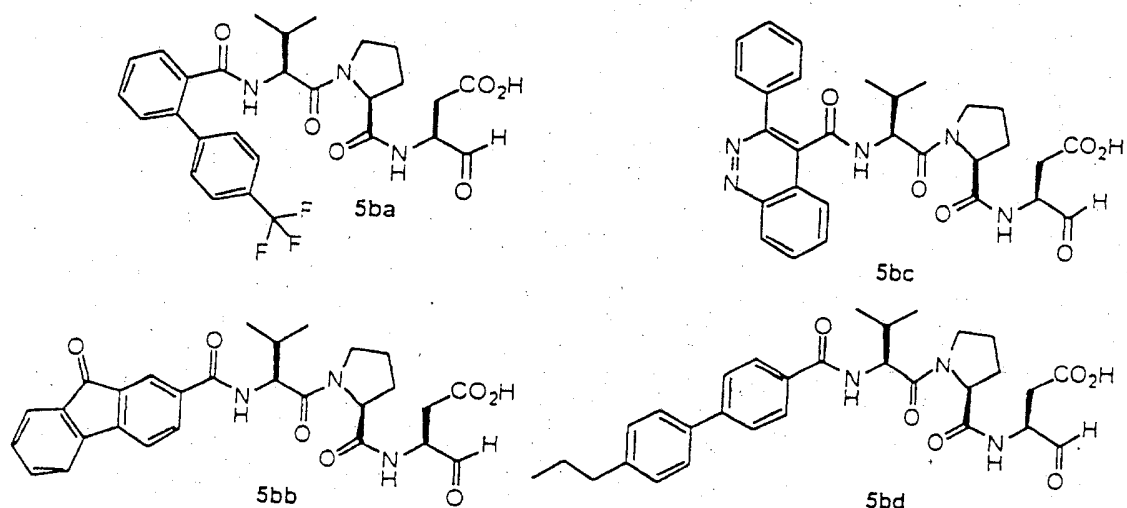
5z



5aa

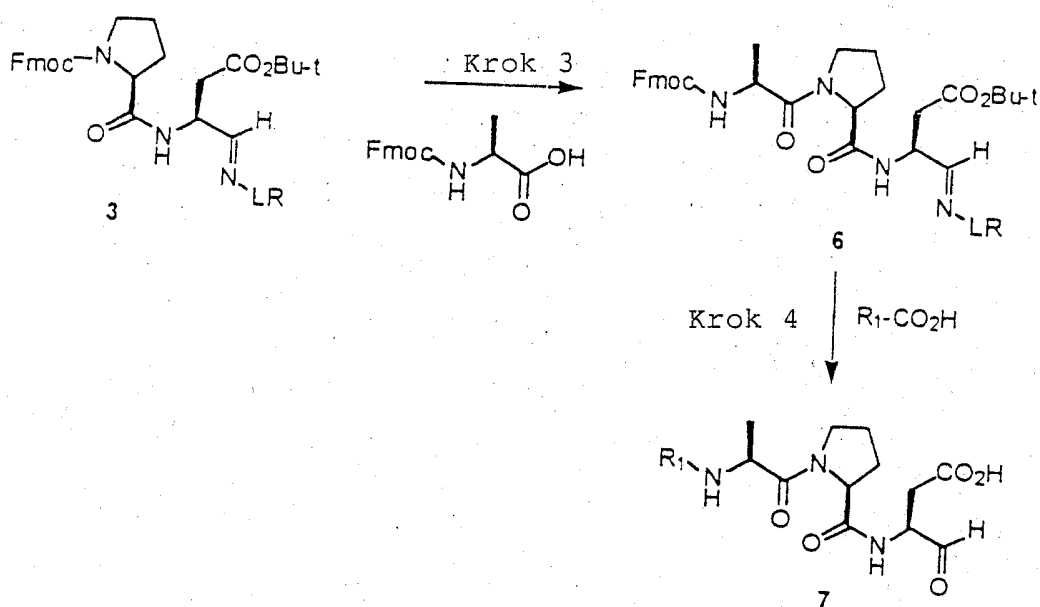






Postup přípravy analogů 7a-7at.

Schéma II

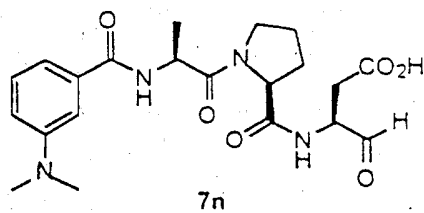
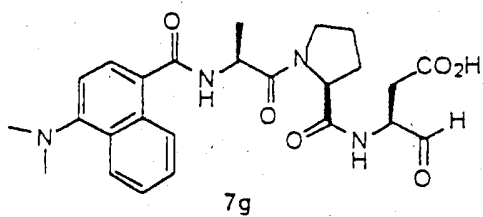
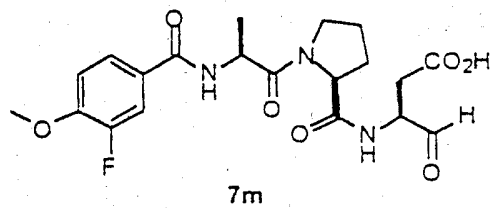
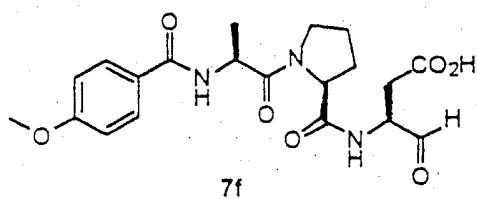
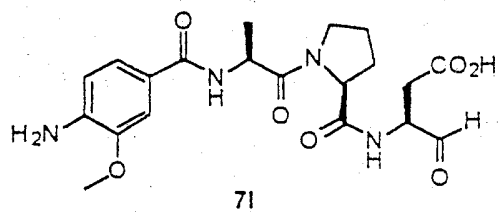
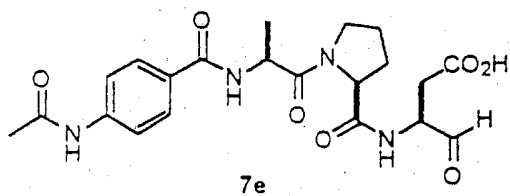
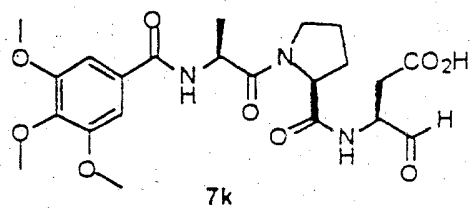
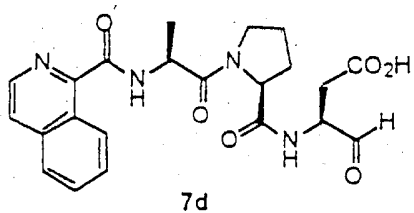
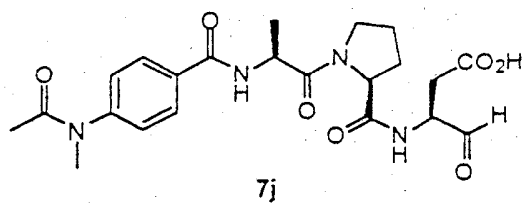
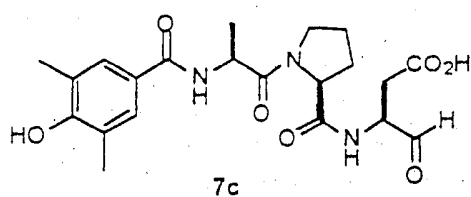
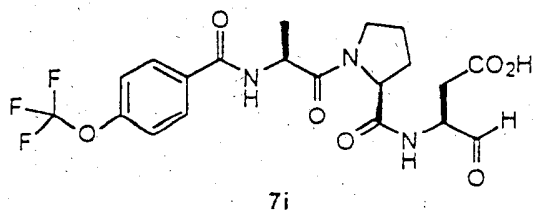
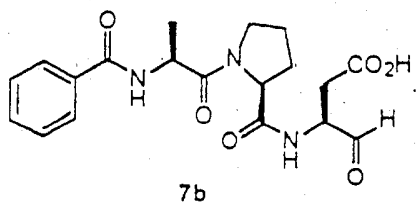
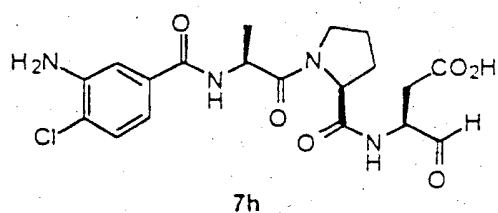
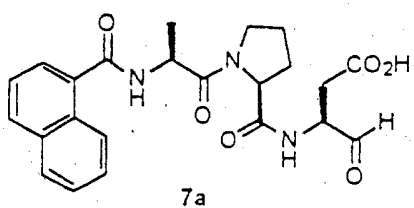


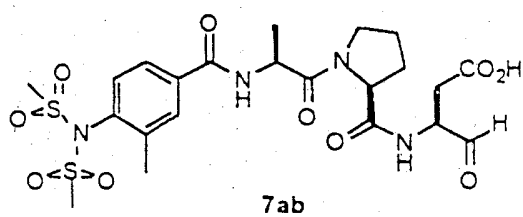
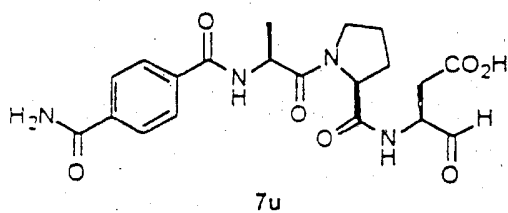
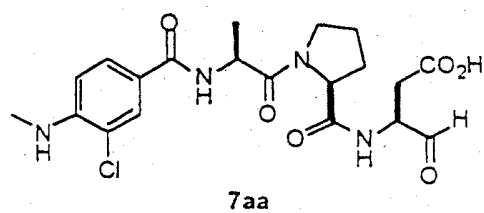
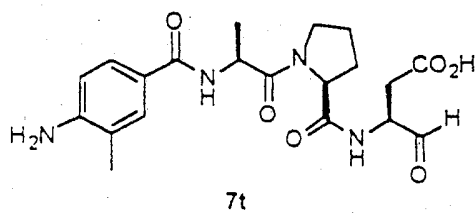
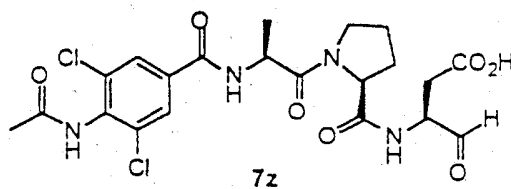
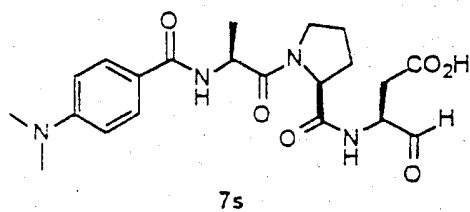
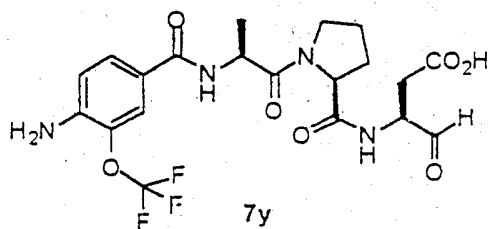
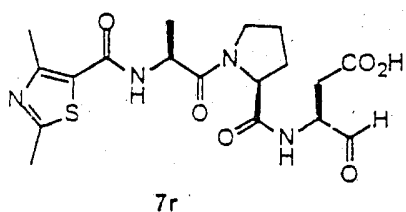
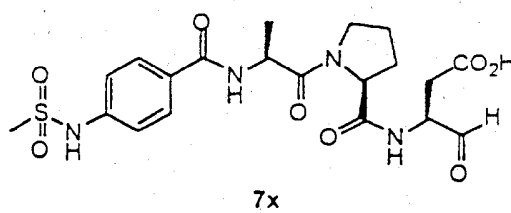
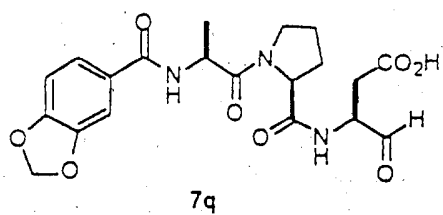
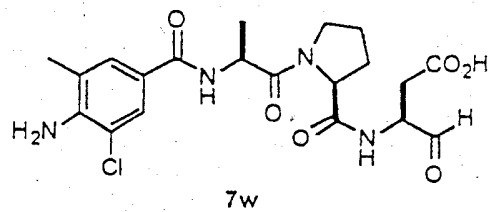
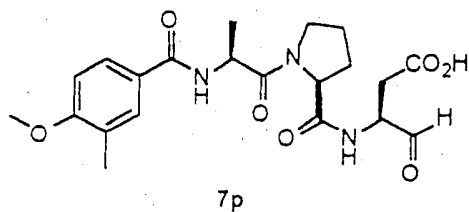
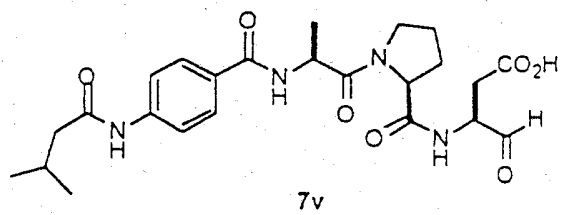
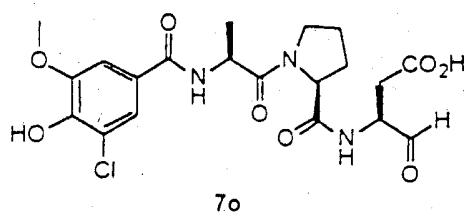
Analoga 7a-7at se připraví pomocí postupu popsaného výše ve schématu I pouze náhradou Fmoc-valinu za Fmoc-alanin v kroku 3 (schéma II).

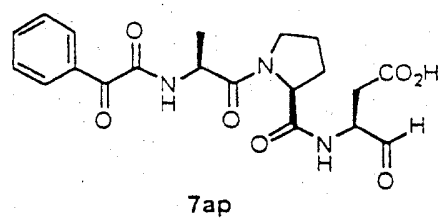
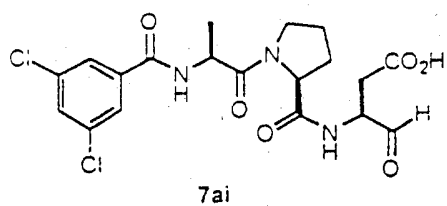
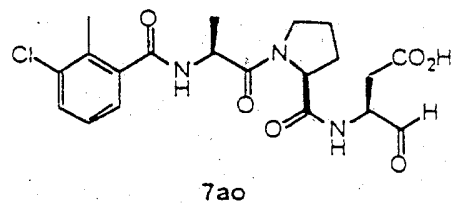
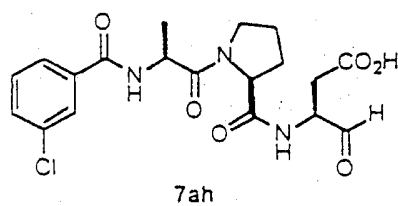
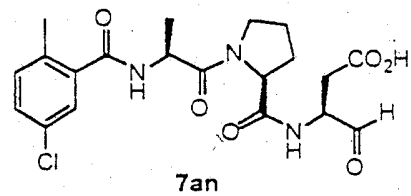
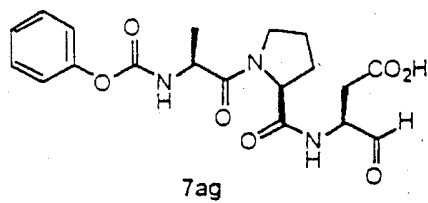
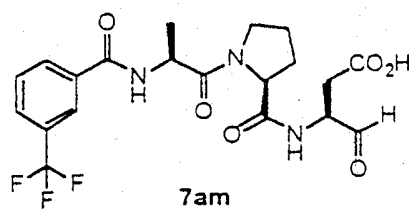
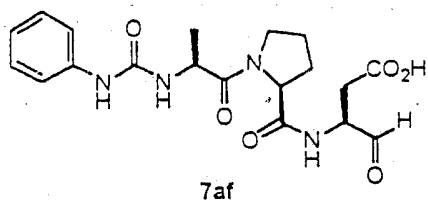
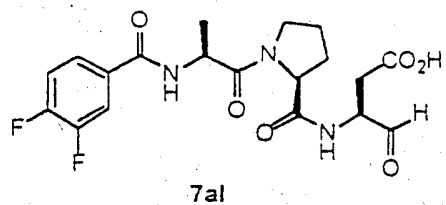
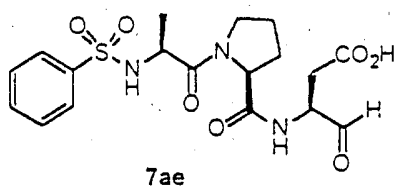
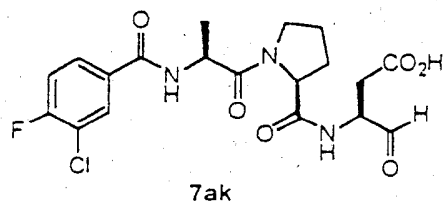
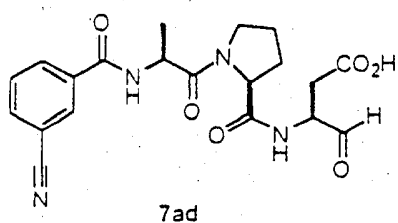
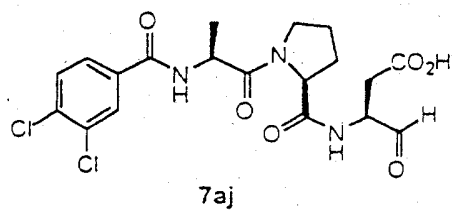
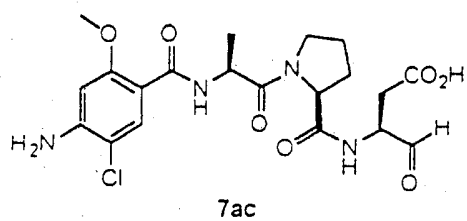
Krok 3: Suspenze 3,5 g (1,75 mmol) pryskyřice 3 v 20 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu se míchá 5 minut při teplotě místnosti. Ze suspenze se odstraní rozpouštědlo.

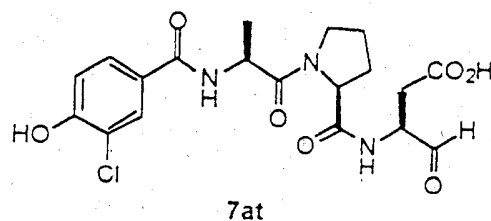
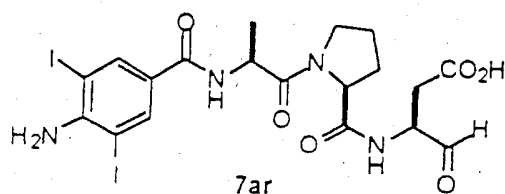
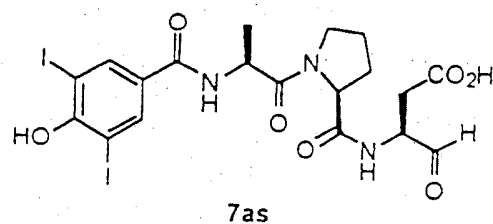
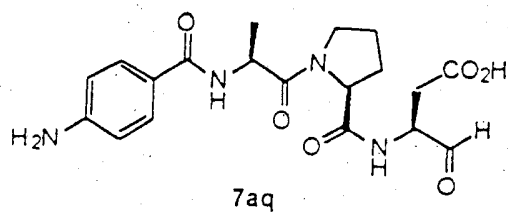
Postup se zopakuje po 20 minutách. Pryskyřice se postupně promyje 2x30 ml dimethylformamidu, 30 ml methanolu, 2x30 ml dichlormethanu, 30 ml methanolu, a 2x30 ml NMP. K suspenzi pryskyřice v 30 ml NMP se postupně přidá 1,44 g N-Fmoc-alaninu (4 ekvivalenty, 7,0 mmol), 2,4 ml DIEA (8 ekvivalentů, 14,0 mmol), 0,95 g HOBt (4 ekvivalenty, 7,0 mmol), a 2,66 g HBTU (4 ekvivalenty, 7,0 mmol). Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Tento kondenzační postup se zopakuje po 3 hodinách. Pryskyřice se potom promyje 2x30 ml dimethylformamidu, 30 ml methanolu, 2x30 ml směsi dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, 30 ml methanolu a 3x30 ml dichlormethanu a suší se ve vakuu za získání pryskyřice 6 (0,50 mmol/gram).

Krok 4: K 0,125mmol podílu pryskyřice 6 se přidá 5 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu. Suspenze se míchá 5 minut při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Postup se zopakuje po 20 minutách. Získaná pryskyřice se potom postupně promyje 3x5 ml dimethylformamidu, 5 ml methanolu a 3x5 ml NMP. Potom se přidá požadovaná karboxylová kyselina (4 ekvivalenty, 0,6 mmol), potom 2,0 ml 0,25M roztoku HOBt v NMP, 0,35 ml DIEA (8 ekvivalentů, 1,0 mmol) a 0,8 ml 0,25M roztoku HBTU v NMP. Směs se míchá při teplotě místnosti přes noc a rozpouštědlo se odstraní. Pryskyřice se promyje postupně 3x5 ml dimethylformamidu, 5 ml methanolu, 2x5 ml směsi dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, 5 ml methanolu a 3x5 ml dichlormethanu a suší se ve vakuu. K pryskyřici se potom přidá 5ml část 95% roztoku kyseliny trifluoroctové ve vodě. Směs se míchá 1 hodinu při teplotě místnosti a filtruje se. Filtrát se odpaří a zbytek se převede do směsi acetonitrilu a vody a čistí se pomocí preparativní vysokotlaké kapalinové chromatografie za získání sloučenin 7a-7at.

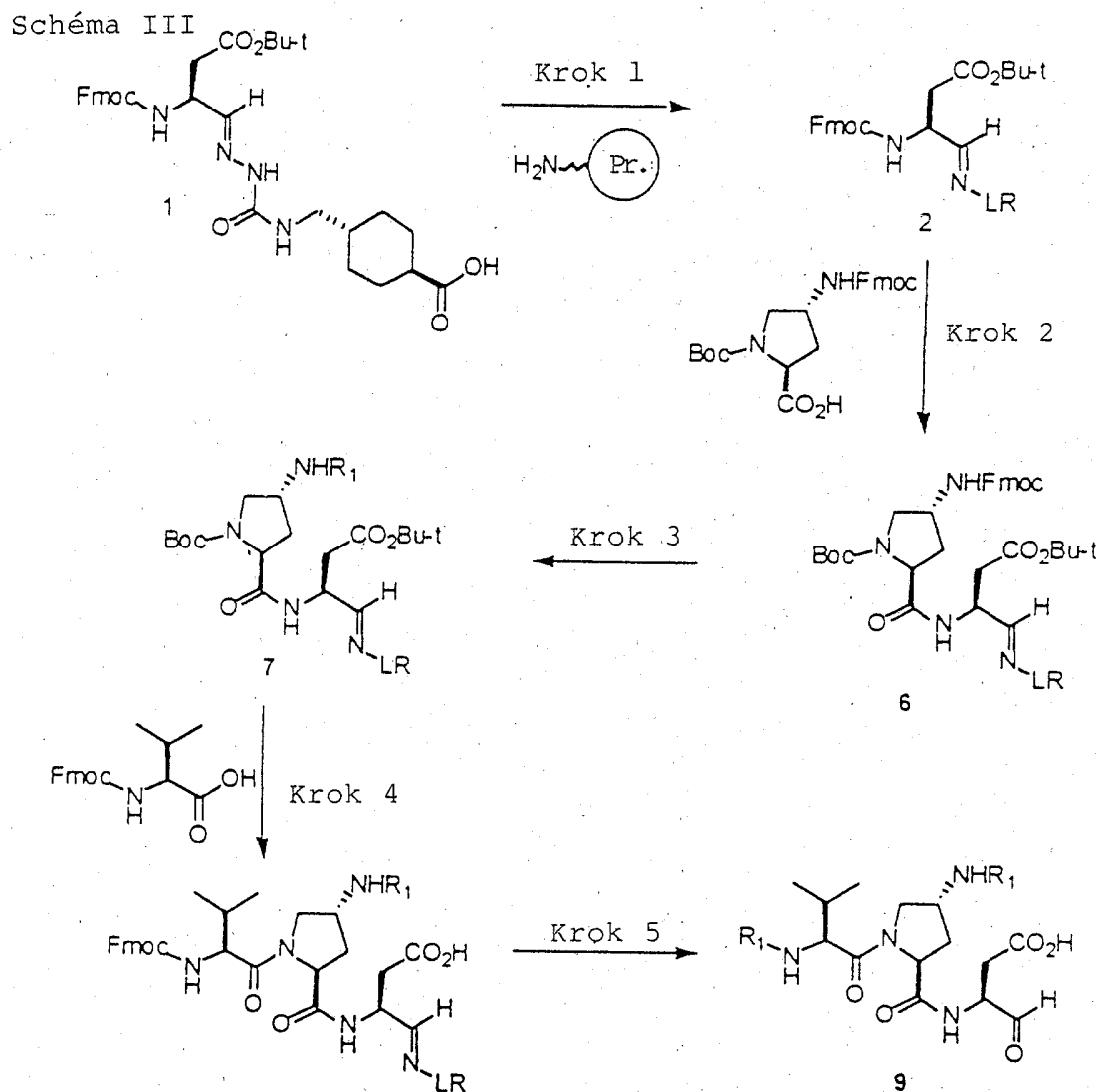








Postup při přípravě analog 9a-9g



Krok 1: 10,0 g (0,75 mmol/gram navážky, 7,5 mmol) pryskyřice AgroPore-aminomethyl (katalogové číslo 800047) se promyje 3x40 ml dimethylformamidu, 3x40 ml 10% DIEA/DMF, 3x40 ml dimethylformamidu a NMP. K výše uvedené pryskyřici se postupně přidá 3,88 g (0,87 ekvivalentu, 6,55 mmol) sloučeniny 1, 3,13 g (1,14 ekvivalentu, 8,25 mmol) HBTU, 1,26 g (1,14 ekvivalentu, 8,25 mmol) HOBt, a 40 ml NMP. Reagenty se potom smísí probublováním dusíku přes dno baňky 2 minuty při teplotě místnosti. Přidá se 4,35 ml (3,33 ekvivalentu, 25 mmol) N,N-diisopropylethylaminu a získaná suspenze se přes noc míchá při teplotě místnosti, filtruje se, potom se postupně promyje 3x40 ml NMP a 3x40 ml dimethylformamidu. Pryskyřice se potom reaguje s 50 ml 20% roztoku anhydridu kyseliny octové v dimethylformamidu 38 minut při teplotě místnosti. Směs se filtruje a pryskyřice se promyje postupně 3x40 ml NMP, 3x40 ml dichlormethanu, 3x40 ml směsi methanolu a dichlormethanu 1:1 a 3x40 ml methanolu. Po sušení ve vakuu se získá 13,76 g pryskyřice 2 (0,35 mmol/gram navážky).

Krok 2: Sedm reakčních nádob (každá) se naplní 181 g pryskyřice 2 (0,48 mmol/gram, 0,063 mmol), potom se promyjí 3x1 ml dichlormethanu a 3x1 ml NMP. Potom se každá nádoba reaguje s 1 ml 25% roztoku piperidinu v dimethylformamidu a míchá se (vír) při teplotě místnosti 15 minut. Tento postup se zopakuje třikrát. Každá nádoba se potom promyje třikrát 1 ml NMP. Obsah nádob se potom reaguje s 500 μ l 0,4M roztoku (2S,4R)-Fmoc-4-amino-1-Boc-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (0,4M HOBt) v NMP, 500 μ l 0,4M roztoku HBTU/NMP a 250 μ l 1,6M roztoku DIEA/NMP a míchá se potom 3 hodiny při teplotě místnosti. Po míchání se z nádob odstraní rozpouštědlo a postup se opakuje.

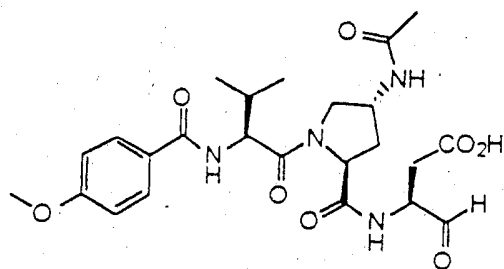
Krok 3: Získaná pryskyřice se promyje 3x1 ml NMP a potom se

zpracuje 1 ml 25% roztoku piperidinu v dimethylformamidu a míchá se (vír) 15 minut při teplotě místnosti. Postup se zopakuje třikrát. Získaná pryskyřice se promyje 3x1 ml NMP a potom se reaguje buď s anhydridem kyseliny octové nebo s isopropylisokyanátem nebo s methansulfonylchloridem nebo methylchloroformiátem. Pro acetanhydrid: se přidá 300 μ l 1,6M roztoku DIEA/NMP v 1 ml roztoku 0,5M acetanhydridu/0,125M DIEA/0,015M HOBt v NMP. Pro isopropylisokyanát: se přidá 300 μ l 1,6M roztoku DIEA/NMP a 1 ml roztoku 1M isopropylisokyanátu v NMP. Pro methansulfonylchlorid: se přidá 600 μ l roztoku 1M pyridinu v dichlormethanu a 600 μ l roztoku 1M methansulfonylchloridu v dichlormethanu. Pro methylchloroformiát: se přidá 500 μ l 1,6M roztoku DIEA/NMP a 1 ml roztoku 0,7M methylchloroformiátu v dichlormethanu. Získané suspenze se míchají 6 hodin při teplotě místnosti, rozpouštědlo se odstraní a kondenzační postup se zopakuje.

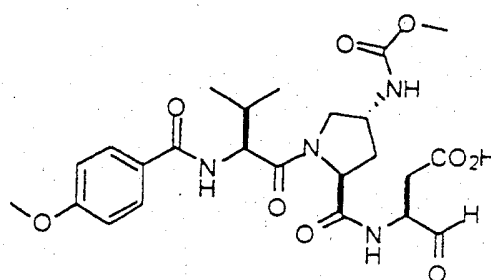
Krok 4: Získaná pryskyřice se promyje 3x1 ml NMP, potom se reaguje se směsí kyseliny trifluoroctové a dichlormethanu 1:1 30 minut při teplotě místnosti. Získaná pryskyřice se promyje 3x1 ml dichlormethanu a 3x1 ml NMP. Pryskyřice se potom reaguje s 500 μ l roztoku 0,4M Fmoc-valin-karboxylové kyseliny/0,4M HOBt/NMP, 500 μ l roztoku 0,4M HBTU/NMP a 250 μ l roztoku 1,6M DIEA/NMP a míchá se 3 hodiny při teplotě místnosti. Po míchání se z nádob odstraní rozpouštědlo a kondenzační postup se zopakuje.

Krok 5: Získaná pryskyřice se promyje 3x1 ml NMP, potom se reaguje s 1 ml 25% roztoku piperidinu v dimethylformamidu a míchá se (vír) 15 minut při teplotě místnosti. Postup se zopakuje třikrát. Získaná pryskyřice se promyje 3x1 ml NMP, potom buď 500 μ l roztoku 0,4M 1-isochinolinkarboxylové kyseliny/0,4M

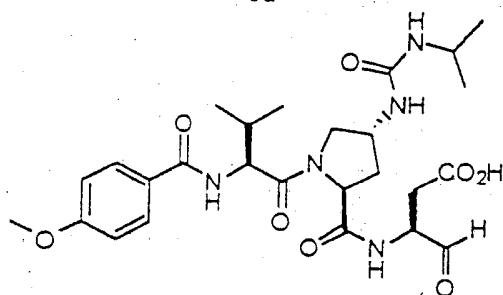
HOBt/NMP nebo 500 μ l roztoku 0,4M p-anisové kyseliny/0,4M HOBt/NMP. Získaná směs se reaguje s 500 μ l roztoku 0,4M HBTU/NMP a 250 μ l roztoku 1,6M DIEA/NMP, potom se míchá 3 hodiny při teplotě místnosti, rozpouštědlo se odstraní a postup se zopakuje. Získaná pryskyřice se reaguje s 1,5 ml 95% roztoku kyseliny trifluoroctové ve vodě a míchá se při teplotě místnosti jednu hodinu a filtruje se. Filtrát se odpaří a zbytek se převede do směsi 2:1:2 dimethylformamidu/acetonitrilu/vody a čistí se pomocí preparativní vysokotlaké chromatografie za získání sloučenin 9a-9g.



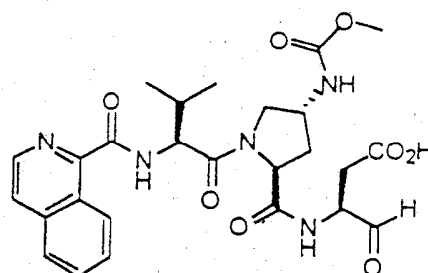
9a.



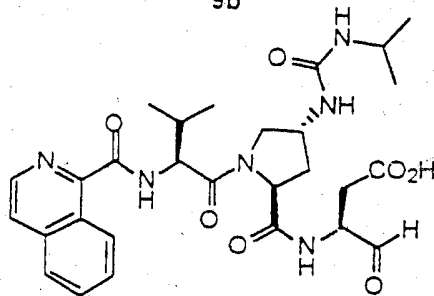
9e



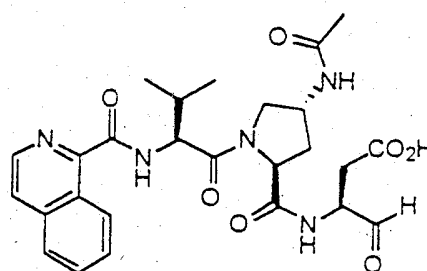
9.b



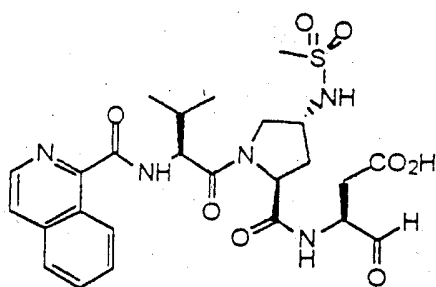
9f



9c



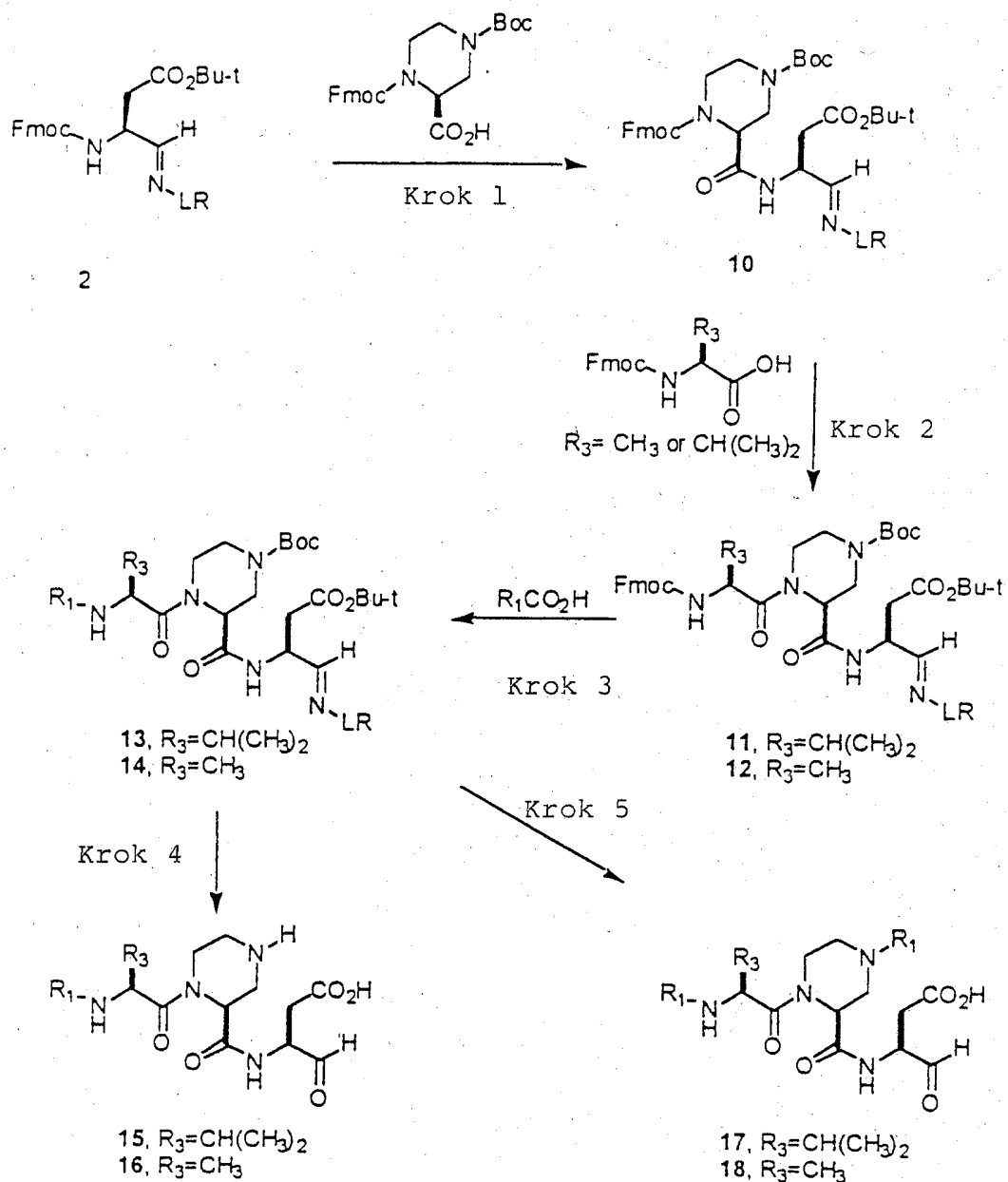
9g



9d

Postup při přípravě analogů 15-18:

Schéma IV:



Příprava analogů 15 a 16 (schéma IV):

Syntéza 4-terc.butylesteru 1-(9H-fluoren-9-ylmethyl)esteru 2-(S)-piperazin-1,2,4-trikarboxylové kyseliny

K roztoku 3 g (15 mmol) 2-(S)-piperazinkarboxylové kyseliny (Lonza) v 30 ml směsi vody a dioxanu 1:1 se přidá roztok 3,3 g (15 mmol, v. 5 ml dioxanu) (Boc)₂O v dioxanu, přičemž se pH udr-

žuje pomocí 1N roztoku hydroxidu sodného na hodnotě 11. pH se udržuje 3 hodiny při teplotě místnosti. pH roztoku se potom pomocí 1N kyseliny chlorovodíkové upraví na 9,5, ochladí se na 0 °C a reaguje se s 3,87 g (15 mmol) Fmoc-Cl. pH se udržuje 1 hodinu na hodnotě 9,5 a směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Získaná suspenze se filtruje a filtrát se zpracuje 1N roztokem hydrogensíranu draselného na pH 2 a extrahuje se 2x75 ml ethylacetátu. Organická vrstva se promyje solankou a suší se síranem hořečnatým, filtruje se a odpaří se za získání bezbarvého oleje. Olej se rozpustí v ethylacetátu a přidá se k hexanu za získání 3,5 g (výtěžek 51 %) bílé pevné látky (po izolaci). ¹H NMR spektrum (500 MHz, perdeuterodimethylsulfoxid) δ 1,55 (s, 9H), 2,80-3,5 (m, 3H), 3,8-4,9 (m, 5H), 5,7 (šs, 1H), 7,3 (m, 2H), 7,3-7,9 (m, 8H), kapalinová chromatografie/hmotové spektrum (ES⁻) m/z 451,3 (M-H).

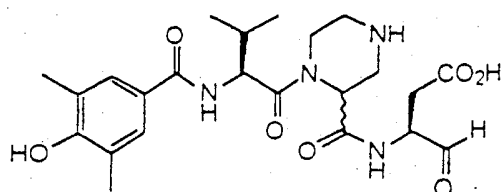
Krok 1: K 5 g pryskyřice 2 (0,375 mmol/gram, 1,82 mmol) se přidá 25 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu. Suspenze se míchá 5 minut při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Po 20 minutách se postup opakuje. Pryskyřice se potom postupně promyje 2x50 ml dimethylformamidu, 50 ml methanolu, 2x50 ml dichlormethanu, 50 ml methanolu a 50 ml NMP. K suspenzi pryskyřice v 25 ml NMP se postupně přidá 3,5 g (4 ekvivalenty, 7,48 mmol) N-Fmoc-Boc-piperazinkarboxylové kyseliny, 1,0 ml (8 ekvivalentů, 14,96 mmol) DIEA, 1,01 g (4 ekvivalenty, 7,48 mmol) HOBt a 2,83 g (4 ekvivalenty, 7,48 mmol) HBTU. Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Kondenzační postup se zopakuje po 3 hodinách. Pryskyřice se potom postupně promyje 2x50 ml dimethylformamidu, 50 ml methanolu, 2x50 ml směsi dimethylformamidu a dichlormethanu, 1x50 ml methanolu a 3x50 ml dichlormethanu a krátce se suší ve vakuu za získání pryskyřice 10.

Krok 2: K 5 g (0,335 mmol/gram navážky, 1,675 mmol) pryskyřice 10 se přidá 25 ml 20% roztoku piperidinu v dimethalformamidu. Suspenze se míchá 5 minut při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Postup se zopakuje po 20 minutách. Pryskyřice se potom postupně promyje 2x50 ml dimethylformamidu, 50 ml methanolu, 2x50 ml dichlormethanu, 50 ml methanolu a 2x50 ml NMP. K suspenzi pryskyřice s 25 ml NMP se postupně přidá 2,08 g N-Fmoc-valinu nebo N-Fmoc-alaninu (4 ekvivalenty, 6,7 mmol), 1,17 ml (4 ekvivalenty, 6,7 mmol) DIEA, 0,905 g (4 ekvivalenty, 6,7 mmol) HOBt a 1,38 g (4 ekvivalenty, 3,66 mmol) HBTU). Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Tento kondenzační postup se zopakuje po 3 hodinách. Pryskyřice se potom postupně promyje 2x50 ml dimethylformamidu, 50 ml methanolu, 2x50 ml směsi dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, 50 ml methanolu a 3x50 ml dichlormethanu a suší se ve vakuu za získání pryskyřice 11 nebo 12 (0,35 mmol/gram, 5g).

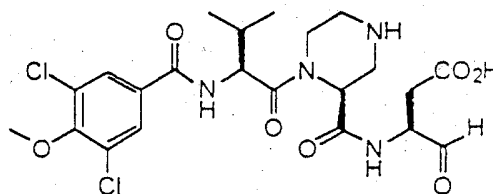
Krok 3: K 1,5 g (0,165 mmol) pryskyřice 11 nebo 12 se přidají 2 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu. Suspenze se míchá 5 minut při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Postup se zopakuje po 20 minutách. Získaná pryskyřice se postupně promyje 3x15 ml dimethylformamidu, 15 ml methanolu a 3x15 ml NMP. Potom se přidá požadovaná karboxylová kyselina (4 ekvivalenty, 0,66 mmol), potom 0,25 g (0,66 mmol) HOBt, 0,12 ml (4 ekvivalenty, 0,66 mmol) DIEA a 0,89 g (0,66 mmol) HBTU v NMP. Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Pryskyřice se postupně promyje 2x15 ml dimethylformamidu, 15 ml methanolu, 2x15 ml směsi dimethylformamidu a dichlormethanu, 15 ml methanolu a 3x15 ml dichlormethanu a suší se ve vakuu za získání pryskyřice 13 nebo 14.

Krok 4: Potom se přidají k pryskyřici 2 ml 95% roztoku kyse-

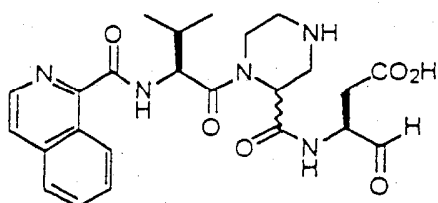
liny trifluoroctové ve vodě. Směs se míchá při teplotě místnosti a filtruje se. Filtrát se odpaří a zbytek se převede do směsi acetonitril-voda a čistí se pomocí preparativní vysokotlaké chromatografie za získání sloučenin 15 a 16.



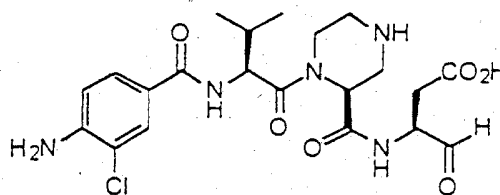
15a



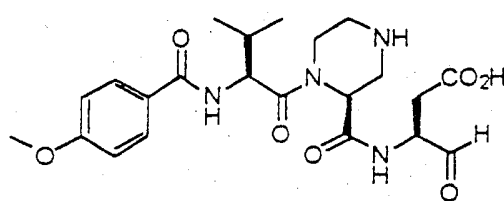
15d



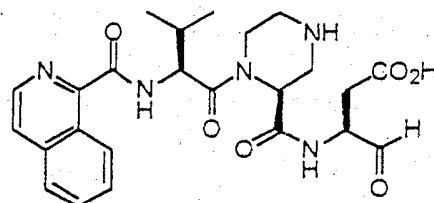
15b



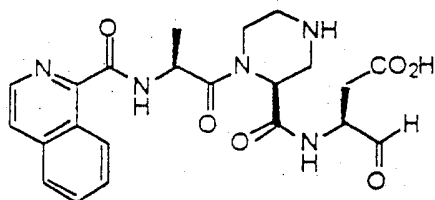
15e



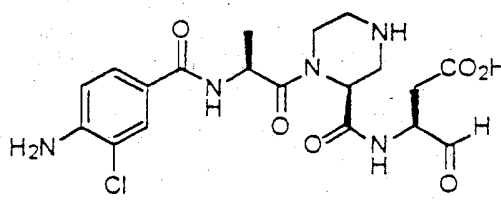
15c



15f



16a



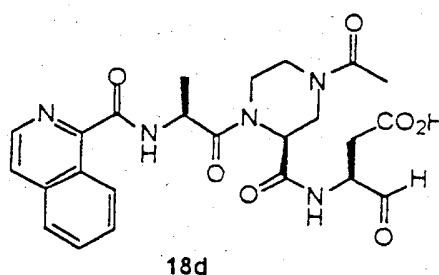
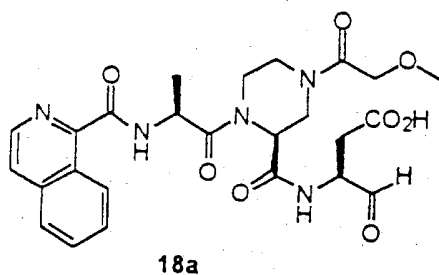
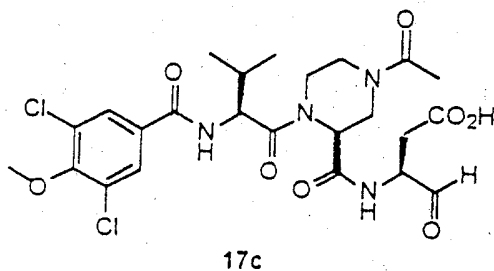
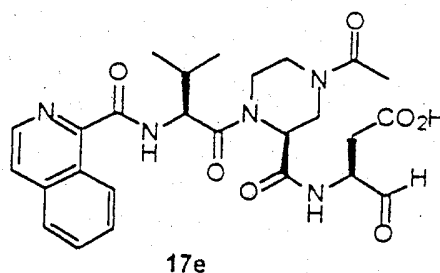
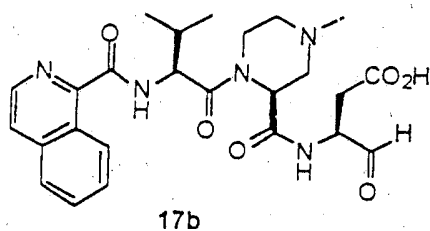
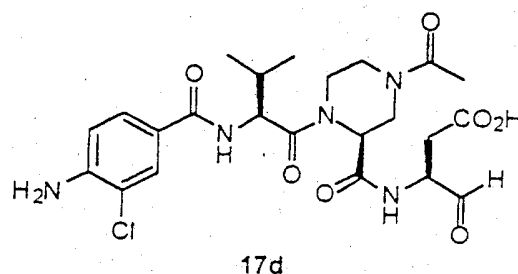
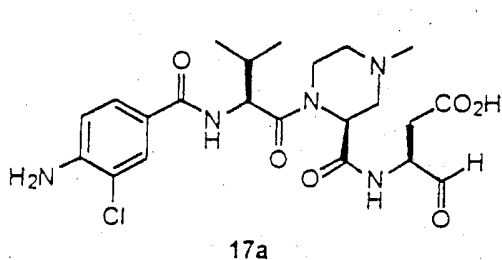
16b

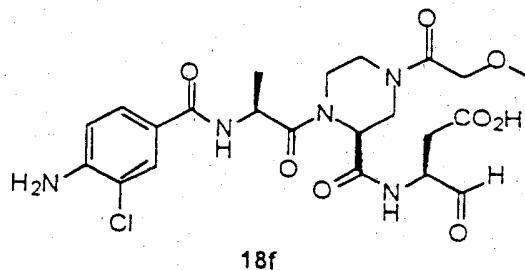
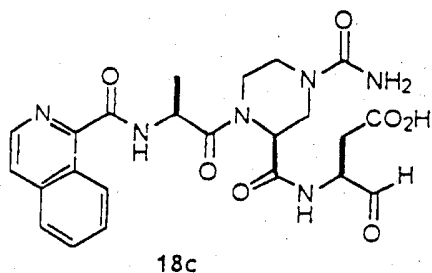
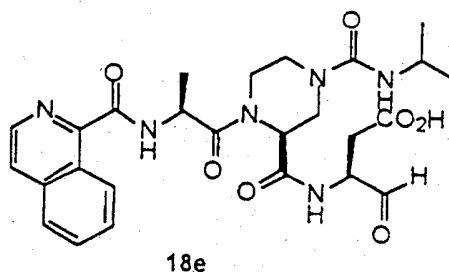
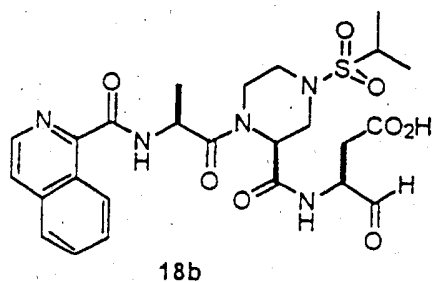
Postup při syntéze analogů 17 a 18 (viz. schéma IV):

Krok 5: Pryskyřice 13 nebo 14 se reaguje s 2 ml 25% roztoku kyseliny trifluoroctové v dichlormethanu 30 minut a promyje se 2x5 ml dimethylformamidu, 2x5 ml 10% DIEA v dichlormethanu, 2x5 ml směsi dimethylformamidu v dichlormethanu, 5 ml methanolu a 3x5 ml dichlormethanu a suší se 5 minut. Získaná pryskyřice se promyje 3x1 ml NMP, potom se reaguje s anhydridem ky-

seliny octové nebo methoxyoctovou kyselinou, nebo 2-propan-sulfonylchloridem nebo isopropylisokyanátem nebo methansulfonylchloridem nebo methylchloroformiátem podle postupu použitého pro přípravu analogů 9 (schéma III). Sloučeniny 17 a 18 se získají tak, jak je popsáno v kroku 4 pro přípravu sloučeniny 15 a 16.

Sloučenina 17a a 17b se připraví pomocí reduktivní aminace za použití $\text{Na(OAc)}_3\text{BH}$ a HCHO (38% ve vodě, 0,2 ml) a 0,02 ml kyseliny octové před krokem 4 a sloučenina 18c se připraví reakcí s fosgenem následované amoniakem před krokem 4.

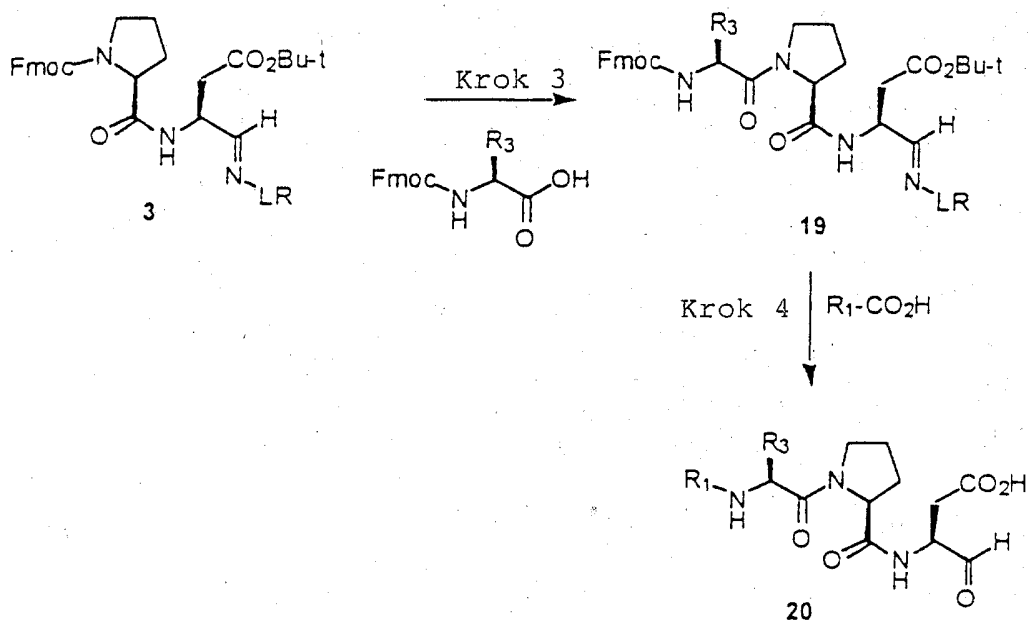




Postup při přípravě analogů 20

Sloučeniny 20a-20t se připraví podle postupu popsaného pro přípravu sloučenin 5 (schéma I), pouze se zamění příslušná Fmoc-aminokyselina za Fmoc-valin v kroku 3 (schéma V).

Schéma V



Příprava 3-({1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)-3-methylsulfonylpropionyl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanové kyseliny (20i)

Suspenze 0,132 mmol pryskyřice 3 v 4 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu se míchá 5 minut při teplotě místnosti a ze směsi se odstraní rozpouštědlo. Postup se zopakuje po 20 minutách. Pryskyřice se postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát dichlormethanem, jednou methanolem a dvakrát NMP. K suspenzi pryskyřice ve 4 ml NMP se postupně přidá 189 mg N-Fmoc-methylcysteinu (4 ekvivalenty, 0,528 mmol), 0,185 ml DIEA (8 ekvivalentů, 1,056 mmol), 71 mg HOBt (4 ekvivalenty, 0,528 mmol) a 200 mg HBTU (4 ekvivalenty, 0,528 mmol). Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odpaří. Tento kondenzační postup se zopakuje po 4 hodinách. Pryskyřice se potom postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem a dvakrát směsí dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, jednou methanolem a třikrát dichlormethanem a suší se ve vakuu.

Suspenze 100 mg této pryskyřice ve 2 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu se míchá 5 minut při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Postup se zopakuje po 20 minutách. Pryskyřice se potom postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát dichlormethanem, jednou methanolem a dvakrát NMP. K suspenzi pryskyřice ve 2 ml NMP se postupně přidá 38 mg 4-amino-3-chlorbenzoové kyseliny (4 ekvivalenty, 0,2 mmol), 0,140 ml (8 ekvivalentů, 0,4 mmol) DIEA, 27 mg (4 ekvivalenty, 0,2 mmol) HOBt a 76 ml (4 ekvivalenty, 0,4 mmol) HBTU. Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Pryskyřice se potom postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem a dvakrát směsí

dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, jednou methanolem třikrát dichlormethanem a suší se ve vakuu. Pryskyřice se potom 1 hodinu reaguje s 2 ml 95% kyseliny trifluoroctové ve vodě. Suspenze se filtruje, filtrát se odpaří ve vakuu a čistí se pomocí preparativní vysokotlaké kapalinové chromatografie za získání sloučeniny uvedené v názvu (20i).

Příprava 3-({1-[2-(3,5-dichlor-4-hydroxybenzoylamino)-4-methansulfonylbutyryl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanové kyseliny (20p)

Sloučenina 20p se připraví podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 20i za použití N-Fmoc-methioninu jako první složky kondenzované k pryskyřici 3 a 3,5-dichlor-4-hydroxybenzoové kyseliny jako druhé složky.

Příprava 3-[(1-{2-[(isochinolin-1-karbonyl)-5-amino]-3-methansulfonylpropionyl}pyrrolidin-2-karbonyl)amino]-4-oxobutové kyseliny (20r)

N-Fmoc-methylcystein se za použití způsobu popsaného v B. M. Trost a D. P. Curran, Tetrahedron Lett. 22, str. 1287-190 (1981) oxiduje na odpovídající sulfon. K roztoku 0,714 g (2 mmol) N-Fmoc-methylcysteinu v 24 ml směsi methanolu a vody 1:1 se při 0 °C přidá 3,68 g (3 ekvivalenty, 6 mmol) OxoneTM. Směs se míchá 48 hodin při teplotě místnosti, pomocí 6N kyseliny chlorovodíkové se okyselí na pH 2 a extrahuje se třikrát 100 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty se suší nad síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu za získání 0,700 g (výtěžek 89 %) sulfonu: ¹H NMR (perdeuterodimethylsulfoxid, 500 MHz) δ 2,97 (s, 3H), 3,49-3,59 (m, 2H), 4,25 (m, 1H), 4,30 4,38 (m, 2H), 4,46 (m, 1H), 7,33 (t, 2H), 7,42 (t, 2H), 7,70-8,00 (m, 4H); přesná hmotnost vypočtena pro C₁₉H₁₉NO₆S m/e 389,09, nalezeno m/e 390,2.

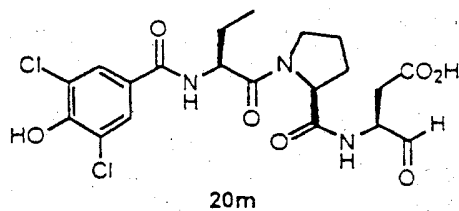
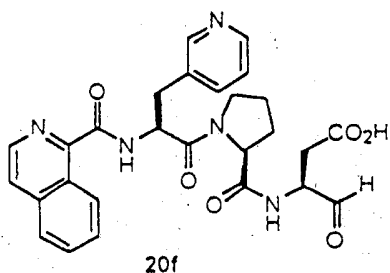
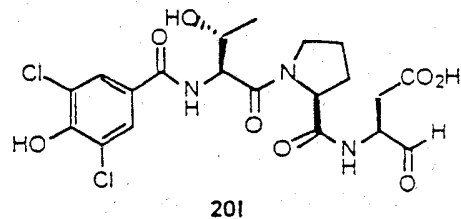
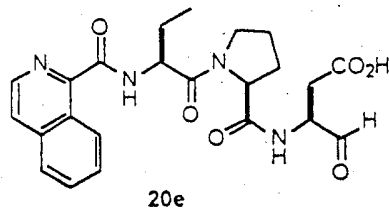
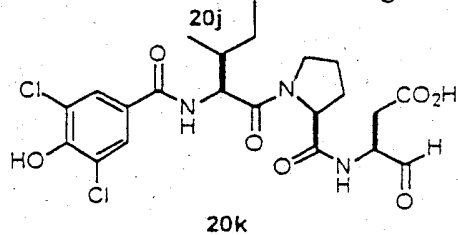
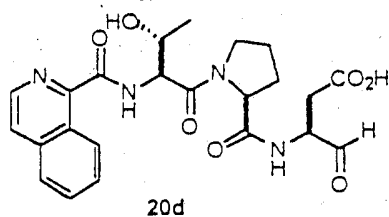
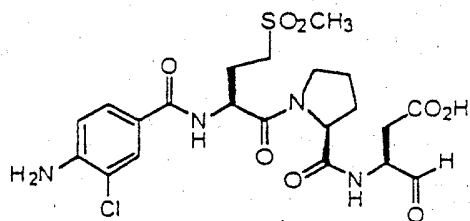
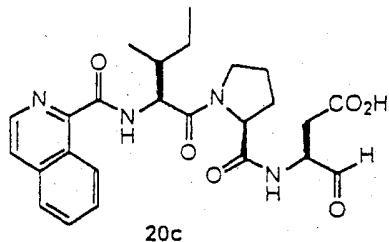
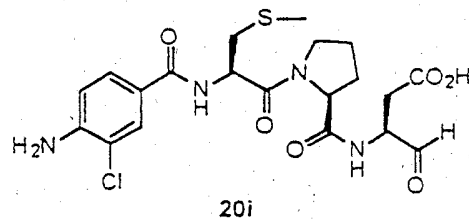
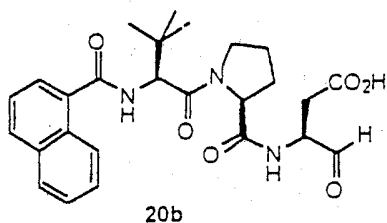
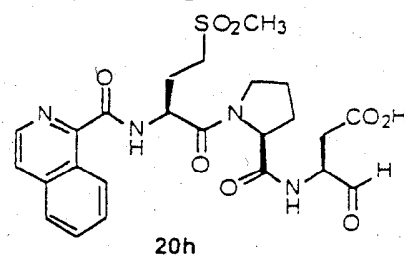
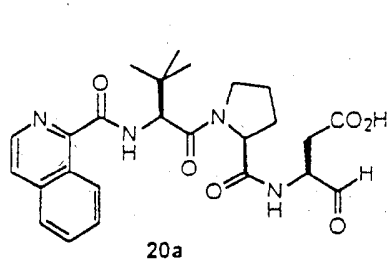
Suspenze 0,250 mmol pryskyřice 3 v 10 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu se míchá 5 minut při teplotě místnosti a ze směsi se odpaří rozpouštědlo. Postup se zopakuje po 20 minutách. Pryskyřice se postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát dichlormethanem, jednou methanolem a dvakrát NMP. K suspenzi pryskyřice v 6 ml NMP se postupně přidá 200 mg N-Fmoc-methylcysteinsulfonu (4 ekvivalenty, 0,50 mmol), 0,175 ml DIEA (8 ekvivalentů, 1,00 mmol), 70 mg HOBt (4 ekvivalenty, 0,50 mmol) a 188 mg HBTU (4 ekvivalenty, 0,50 mmol). Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Tento kondenzační postup se opakuje po 3 hodinách. Pryskyřice se postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát směsí dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, jednou methanolem a třikrát dichlormethanem a suší se ve vakuu.

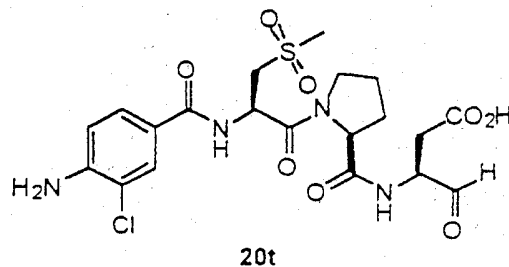
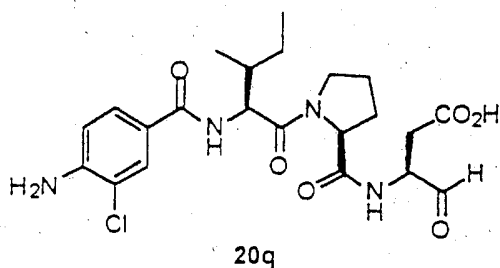
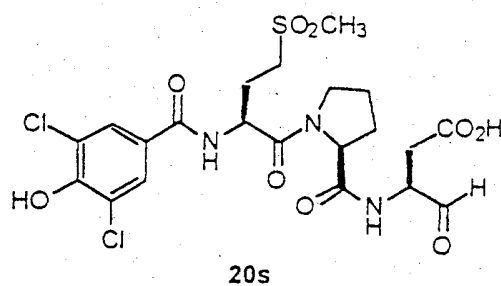
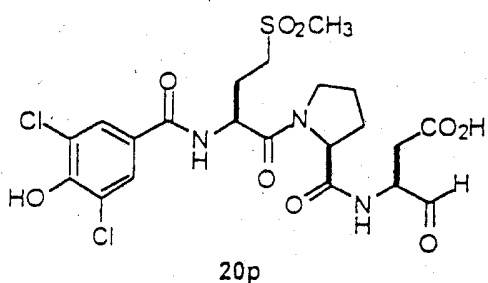
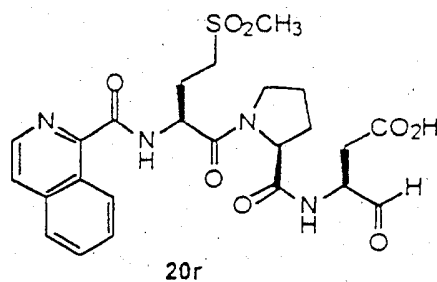
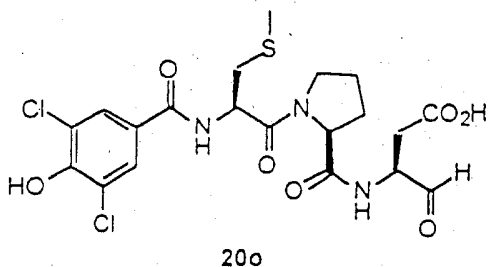
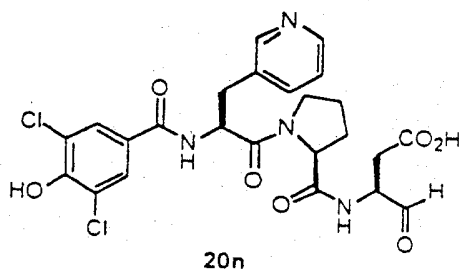
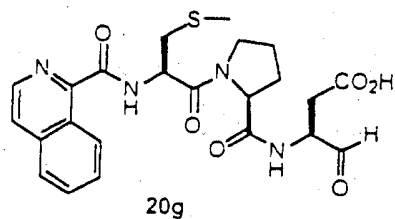
Suspenze 150 mg této pryskyřice ve 4 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu se míchá 5 minut při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Pryskyřice se potom postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát dichlormethanem, jednou methanolem a dvakrát NMP. K suspenzi pryskyřice ve 3 ml NMP se postupně přidá 52 mg lisochinolin-karboxylové kyseliny (4 ekvivalenty, 0,3 mmol), 0,104 ml DIEA (8 ekvivalentů, 0,6 mmol), 37 mg HOBt (4 ekvivalenty, 0,3 mmol) a 104 mg HBTU (4 ekvivalenty, 0,3 mmol). Směs se míchá při teplotě místnosti přes noc a rozpouštědlo se odstraní. Pryskyřice se postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, a dvakrát směsí dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, jednou methanolem a třikrát dichlormethanem a suší se ve vakuu. Pryskyřice se potom reaguje se 2 ml 95% kyseliny trifluoroctové ve vodě 1 hodinu. Suspenze se filtruje, filtrát se odpaří ve vakuu a čistí se pomocí preparativní vysokotlaké kapalinové chromatografie za získání sloučeniny

uvedené v názvu 20r.

Příprava 3-({1-[2-(3,5-dichlor-4-hydroxybenzoylamino)-3-methansulfonylpropionyl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxo-butanové kyseliny (20s)

Sloučenina 20s se připraví podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 20i, za použití 3,5-dichlor-4-hydroxybenzoové kyseliny místo 1-isochinolinkarboxylové kyseliny.

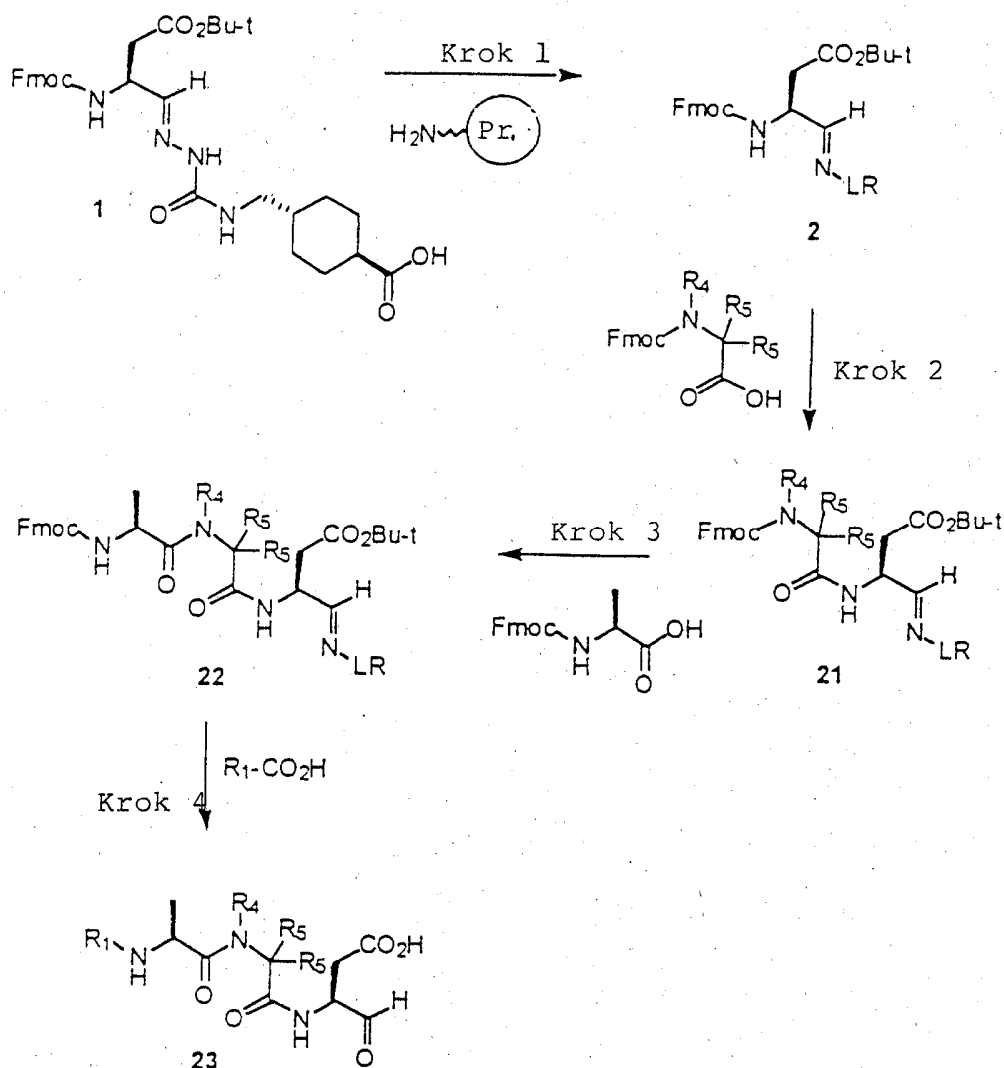




Postup při přípravě analogů 23

Sloučeniny 23a-23i se připraví podle postupu popsaného pro přípravu sloučenin 7 (schéma II) pouze náhradou vhodné Fmoc-aminokyseliny za Fmoc-prolin v kroku 2 (schéma VI).

Schéma VI



Příprava 3-((2-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)-propionyl]-4-methyl-3,4-dihydro-2H-pyrazol-3-karbonyl}amino)-4-oxobutanové kyseliny (23g).

Sloučenina 23g se připraví podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 7, pouze náhradou 1-(9H-fluoren-9-ylmethyl)-esteru 4-methyl-4,5-dihydro-pyrazol-1,5-dikarboxylové kyseliny za Fmoc-prolin (schéma II) v kroku 2.

Příprava 1-(9H-fluoren-9-ylmethyl)esteru 4-methyl-4,5-dihydro-pyrazol-1,5-dikarboxylové kyseliny:

K roztoku 650 mg (2 mmol) (10,10-dimethyl-3,3-dioxo-λ⁶-thia-4-

aza-tricyklo[5,2,1,0^{0,0}]dec-4-yl)-(4-methyl-3,4-dihydro-2H-pyrazol-3-yl)-methanonu (J. Am. Chem. Soc., 119, str. 8379-8380 (1997)) v 6 ml vody a 14 ml tetrahydrofuranu míchajícím se při 0 °C se přidá 420 mg (10 mmol, 5 ekvivalentů) hydroxidu lithného. Směs se míchá 2 hodiny při 0 °C a 30 minut při teplotě místnosti, zředí se 20 ml vody a promyje se 20 ml etheru. pH roztoku se upraví na 9 a přidá se roztok 519 mg (2 mmol, 1 ekvivalent) Fmoc-Cl ve 3 ml dioxanu. Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti, promyje se etherem, okyselí se na pH 2-3 a extrahuje se 3x40 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty se promyjí solankou, suší se nad síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu za získání 690 mg (výtěžek 98 %) bezbarvé pěny, která se identifikuje jako sloučenina uvedená v názvu. ¹H NMR (perdeuterodimethylsulfoxid, 500 MHz) δ 1,2 (d, 3H), 3,2 (m, 1H), 4,2-4,6 (m, 3H), 7,1 (s, 1H), 7,2-7,5 (m, 5H), 7,7-8,0 (m, 4H). Přesná hmota vypočtená pro C₂₀H₁₈N₂O₄ m/e 350,13, nalezeno m/e 351,3.

Příprava 3-({1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)-propionyl]-4-methoxypyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanové kyseliny (23i)

Sloučenina 23i se připraví podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 7 pouze náhradou N-Fmoc-4-methoxyprolinu za Fmoc-prolin (schéma II) v kroku 2.

Příprava N-Fmoc-4-methoxyprolinu:

K roztoku 735 mg (3 mmol) methylesteru N-Boc-4-hydroxyprolinu v 20 ml tetrahydrofuranu míchajícím se při 0 °C se přidá 79 mg (1,1 ekvivalentu, 3,3 mmol) 60% hydridu sodného v minerálním oleji. Směs se míchá při 0 °C 1 hodinu a přidá se 0,56 ml methyljodidu (3 ekvivalenty, 9 mmol). Směs se míchá při teplotě místnosti přes noc, rozloží se přidáním nasyceného vodného

roztoku chloridu amonného, zředí se vodou a extrahuje se třikrát 80 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty se promyjí solankou, suší se nad síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu za získání světle žlutého oleje. Olej se převede do 9 ml methanolu a 3 ml vody a přidá se 378 mg (3 ekvivalenty, 9 mmol) hydroxidu lithného. Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti, zředí se vodou, okyselí se na pH 3 a extrahuje se třikrát 80 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty se promyjí solankou, suší se nad síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu. Zbylý olej se převede do 10 ml kyseliny trifluoroctové a roztok se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti a odpaří se ve vakuu. Zbývající olej se zředí 6 ml 10% vodného roztoku uhličitanu sodného a 3 ml dioxanu a přidá se roztok 779 mg (1 ekvivalent, 3 mmol) 9-fluorenylmethylchloroformiátu v 5 ml dioxanu. Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti, zředí se vodou, okyselí se na pH 3 a extrahuje se třikrát 80 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty se promyjí solankou, suší se nad síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu za získání oleje, který se čistí pomocí kolonové chromatografie na silikagelu za eluce směsí dichlormethanu a methanolu 20:1. Získá se 600 mg (55 %) N-Fmoc-4-methoxyprolinu: přesná hmotnost vypočtena pro $C_{21}H_{21}NO_5$, m/e 367,14, nalezeno m/e 368,4.

K roztoku 0,125 mmol pryskyřice 2 se přidají 4 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu. Směs se míchá 5 minut při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Postup se zopakuje po 20 minutách. Pryskyřice se postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát dichlormethanem, jednou methanolem a dvakrát NMP. K suspenzi pryskyřice ve 4 ml NMP se postupně přidá 184 mg (4 ekvivalenty, 0,50 mmol) M-Fmoc-4-methoxyprolinu, 0,175 ml (8 ekvivalentů, 1,00 mmol) DIEA, 70 mg (4 ekvivalenty, 0,50 mmol) HOBt a 188 mg (4 ekvivalenty, 0,50 mmol) HBTU. Směs se míchá přes noc při teplotě

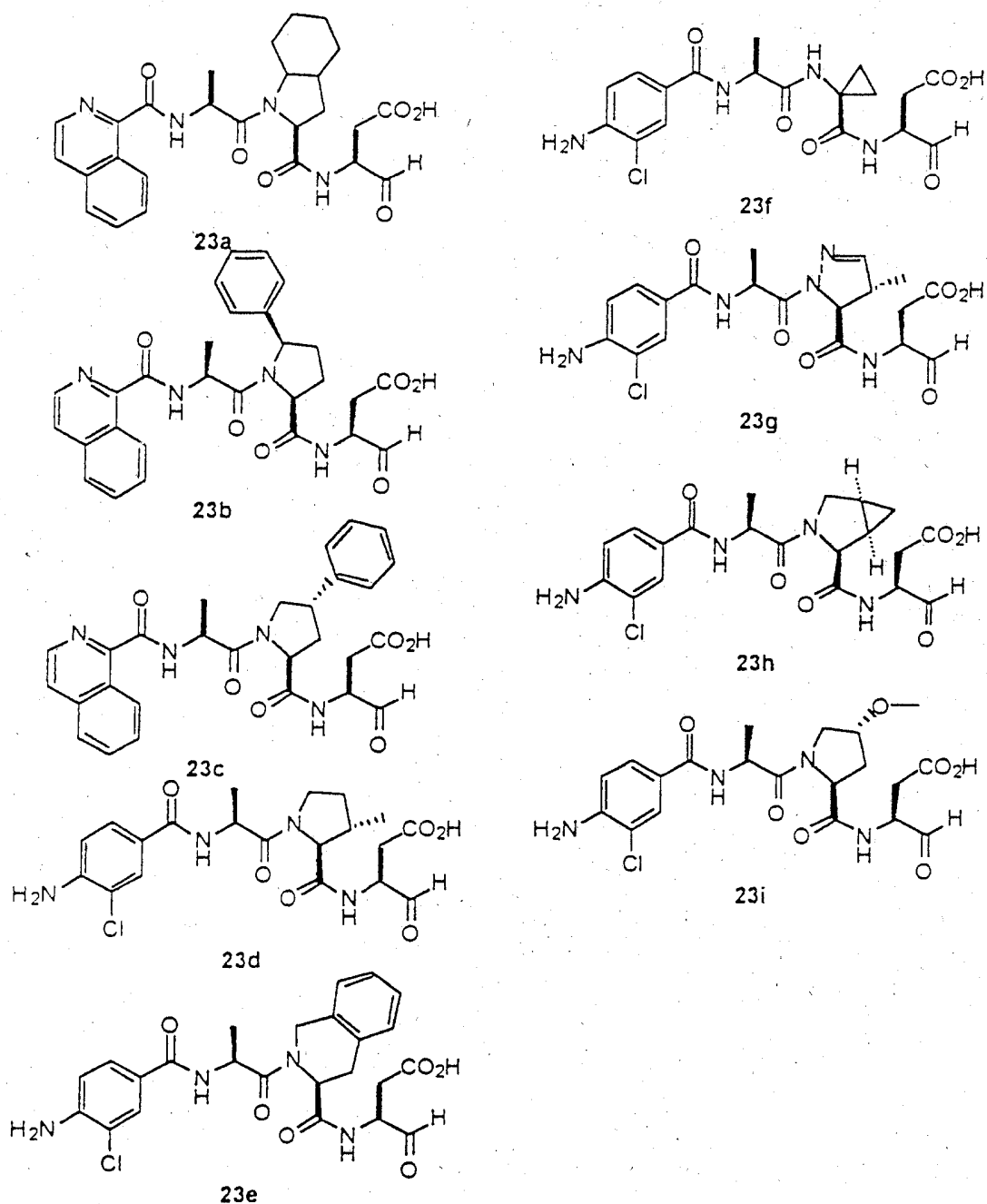
místnosti a rozpouštědlo se odpaří. Tento kondenzační postup se zopakuje po 3 hodinách. Pryskyřice se postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát směsí dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, jednou methanolem a třikrát dichlormethanem a suší se ve vakuu.

K pryskyřici se přidají 4 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu. Směs se míchá 5 minut při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Postup se zopakuje po 20 minutách. Pryskyřice se postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát dichlormethanem, jednou methanolem a dvakrát NMP. K suspenzi pryskyřice v 4 ml NMP se postupně přidá 156 mg (4 ekvivalenty, 0,50 mmol) N-Fmoc-alaninu, 0,175 ml (8 ekvivalentů, 1,00 mmol) DIEA, 70 mg (4 ekvivalenty, 0,50 mmol) HOBt a 188 mg (4 ekvivalenty, 0,50 mmol) HBTU. Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Tento kondenzační postup se zopakuje po 3 hodinách. Pryskyřice se postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát směsí dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, jednou methanolem a třikrát dichlormethanem a suší se ve vakuu.

K pryskyřici se přidají 4 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu. Směs se míchá 5 minut při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Postup se zopakuje po 20 minutách. Pryskyřice se postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát dichlormethanem, jednou methanolem a dvakrát NMP. K suspenzi pryskyřice ve 4 ml NMP se postupně přidá 80 mg (4 ekvivalenty, 0,50 mmol) 4-amino-3-chlorbenzoové kyseliny, 0,175 ml (8 ekvivalentů, 1,00 mmol) DIEA, 70 mg (4 ekvivalenty, 0,50 mmol) HOBt a 188 mg (4 ekvivalenty, 0,50 mmol) HBTU. Směs se míchá při teplotě místnosti přes noc a rozpouštědlo se odstraní. Pryskyřice se postupně promyje dva-

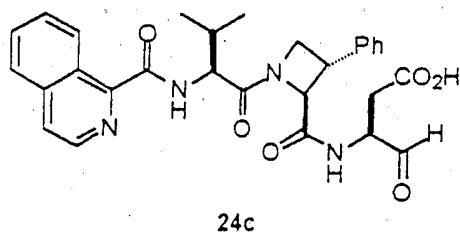
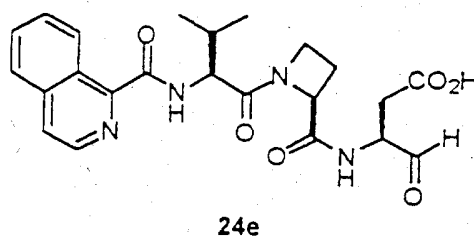
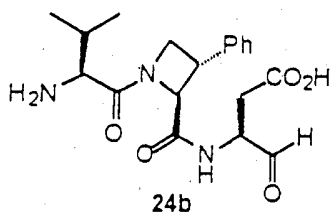
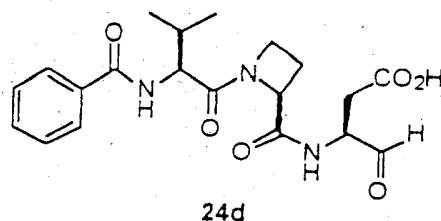
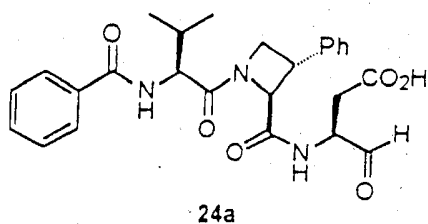
krát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát směsí dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, jednou methanolem a třikrát dichlormethanem a suší se ve vakuu.

Pryskyřice se 1 hodinu reaguje s 4 ml 95% kyseliny trifluor-
octové ve vodě. Směs se filtruje. Filtrát se odpaří ve vakuu
za získání oleje, který se čistí pomocí vysokotlaké kapalinové
chromatografie za získání sloučeniny uvedené v názvu (23i).



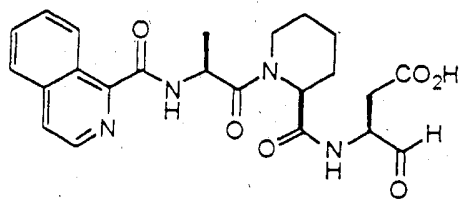
Postup při přípravě analog 24a-e

Sloučeniny 24a-24e se připraví podle postupu popsaného pro přípravu sloučenin 5 (schéma I) pouze náhradou buď Fmoc-azetidinkarboxylové kyseliny nebo trans-2-fenyl-Fmoc-azetidinkarboxylové kyseliny za Fmoc-prolin v kroku 2.

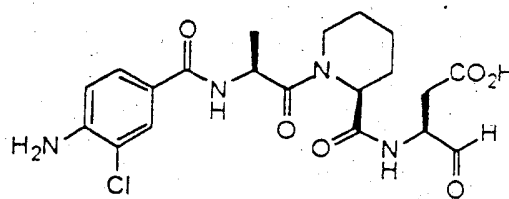


Postup při přípravě analog 25

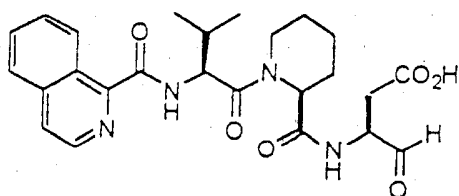
Sloučenina 25a-25e se připraví podle postupů popsaných pro přípravu sloučenin 5 a 7 (schéma I a schéma II) pouze náhradou Fmoc-2(S)-pipekolové kyseliny za Fmoc-prolin v kroku 2 a kondenzací buď Fmoc-valinu nebo Fmoc-alaninu nebo Fmoc-terc.leucinu v kroku 3.



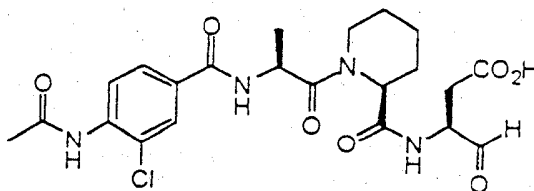
25a



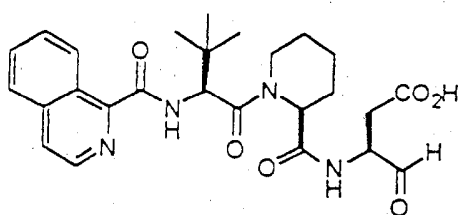
25d



25b



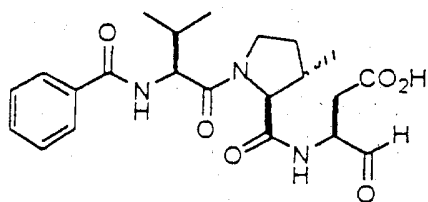
25e



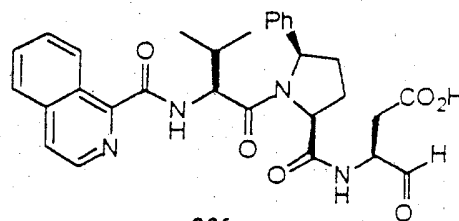
25c

Postup při přípravě analog 26a-h

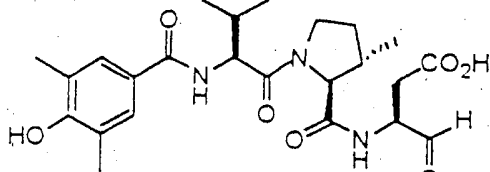
Sloučeniny 26a-26h se připraví podle postupu popsaného pro přípravu sloučenin 23 (schéma VI) pouze náhradou Fmoc-valinu za Fmoc-alanin v kroku 3.



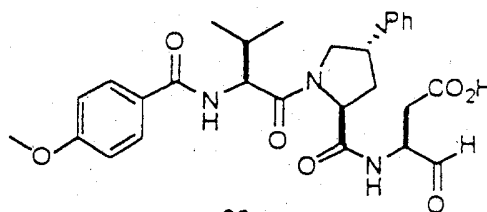
26a



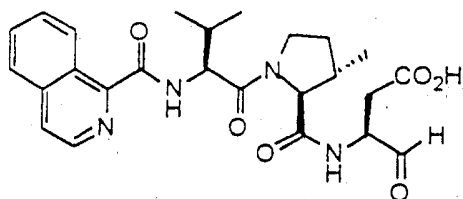
26f



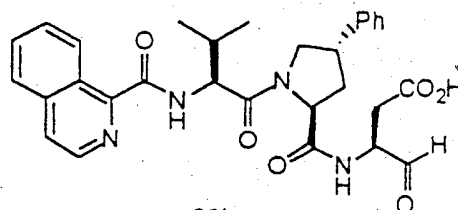
26b



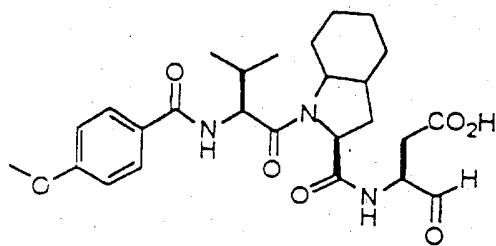
26g



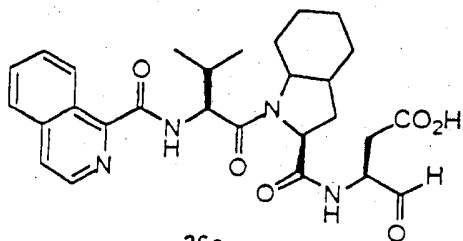
26c



26h



26d



26e

Postup při přípravě analog 27

Sloučeniny 27a-27n se připraví podle postupu popsaného pro přípravu sloučenin 7 (schéma II) pouze náhradou Fmoc-4,4-difluorprolinu za Fmoc-prolin v kroku 2.

Příprava dimethylesteru 4,4-difluorprolinu:

K roztoku 9,63 ml (7,2 mmol) oxalylchloridu v 10,6 ml dichlormethanu míchajícimu se při $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ se přidá roztok 0,94 ml (13,2 mmol) methylsulfoxidu v 15 ml dichlormethanu. Roztok se míchá 30 minut při teplotě $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Potom se přikape roztok 1,47 g (6 mmol) methylesteru N-Boc-4-hydroxyprolinu v 19 ml dichlormethanu. Směs se míchá 1,5 hodiny při teplotě $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ a přidá se 3,34 ml (24 mmol) triethylaminu. Roztok se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se přes noc. Zředí se 100 ml dichlormethanu, postupně se promyje 100 ml vody, 100 ml 1N roztoku kyseliny chlorovodíkové a 100 ml solanky, suší se nad síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu. Zbytek se čistí pomocí kolonové chromatografie na silikagelu za eluce směsí ethylacetátu a hexanu 1:3. Získá se 1,294 g (výtěžek 89 %) methylesteru N-Boc-4-oxo-prolinu: ^1H NMR (500 MHz, deutero-

chloroform) δ 1,45 (m, 9H), 2,60 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 3,75 (m, 3H), 3,90 (m, 2H), 4,80 (m, 25 1H) .

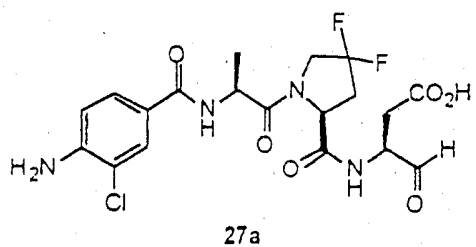
K roztoku 808 mg (3,33 mmol) methylesteru N-Boc-4-oxoprolinu v 13 ml dichlormethanu míchajícímu se při teplotě 0 °C se přidá 0,88 ml (7,19 mmol, 2,2 ekvivalentu) DAST. Směs se míchá 2 hodiny při 0 °C, 16 hodin při teplotě místnosti a nalije se do ledové vody. Směs se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti. Organická vrstva se oddělí, promyje se vodou, suší se nad síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu. Zbytek se čistí pomocí kolonové chromatografie na silikagelu za eluce směsí ethylacetátu a hexanu 1:8 za získání 754 mg (výtěžek 79 %) difluorovaného derivátu ve formě světle žlutého oleje. ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 1,50 (m, 9H), 2,45 (m, 1H), 2,70 (m, 1H), 3,75 (m, 3H), 3,80 (m, 2H), 4,50 (m, 1H).

Příprava N-Fmoc-4,4-difluorprolinu:

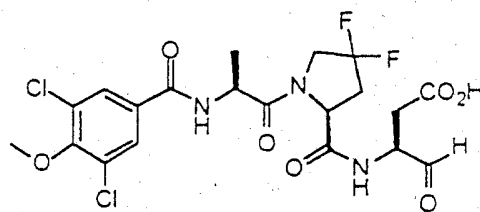
K roztoku 754 mg (2,85 mmol) methylesteru N-Boc 4,4-difluorprolinu v 5 ml tetrahydrofuranu míchajícímu se při 0 °C se přidá roztok 179 mg (4,27 mmol) hydroxidu lithného ve vodě. Roztok se míchá 3 hodiny při 0 °C, 1 hodinu při teplotě místnosti, zředí se vodou, extrahuje se etherem, okyselí se na pH 2-3 a extrahuje se dvakrát 30 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty se promyjí solankou, suší se nad síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu za získání 652 mg (91 %) kyseliny ve formě světle žluté pevné látky.

Roztok 652 mg (2 mmol) N-Boc-4,4-difluorprolinu v 10 ml směsi kyseliny trifluoroctové a dichlormethanu 1:1 se míchá 45 minut při 0 °C a odpaří se ve vakuu. Zbytek se převede do 3 ml dioxanu a přidá se 5 ml 10% vodného roztoku uhličitanu sodného, potom 675 mg (1 ekvivalent) Fmoc-Cl v 5 ml dioxanu. Směs se míchá při teplotě místnosti 16 hodin, zředí se 20 ml

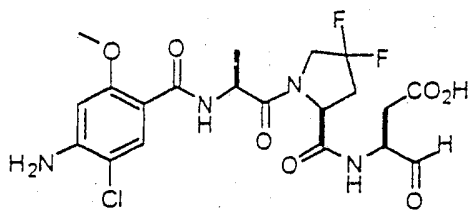
vody, extrahuje se dvakrát 20 ml diethyletheru, okyselí se na pH 2 a extrahuje se třikrát 30 ml ethylacetátu. Spojené organické extrakty se promyjí 50 ml solanky, suší se nad síranem hořečnatým a odpaří se ve vakuu. Zbytek se čistí pomocí kolonové chromatografie na silikagelu za eluce směsí dichlormethanu a methanolu 10:1), za získání 850 mg (88 %) N-Fmoc-4,4-difluorprolinu ve formě hnědavé pevné látky. ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 2,55 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 3,80 (m, 2H), 4,20 (m, 1H), 4,30 (m, 2H), 4,55 (m, 1H), 7,32 (m, 2H), 7,45 (m, 2H), 7,70 (m, 2H), 7,90 (m, 2H). Přesně vypočtená hmotnost pro $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{F}_2\text{NO}_4$ m/e 373,11, nalezeno m/e 374,4.



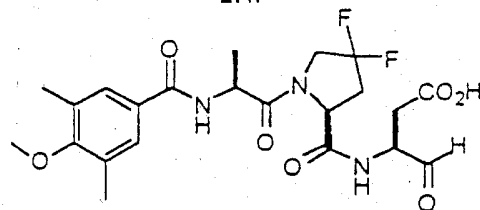
27a



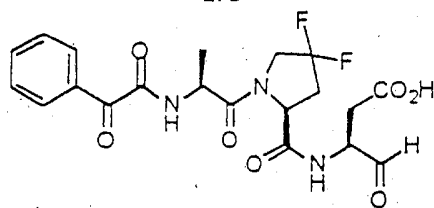
27h



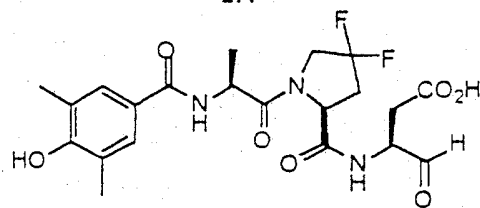
27b



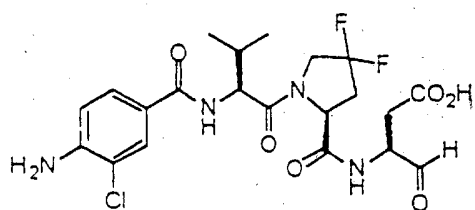
27i



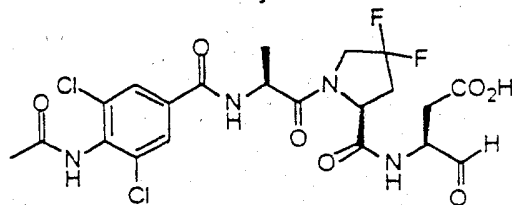
27c



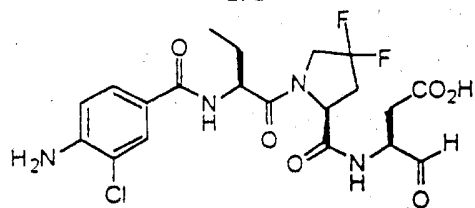
27j



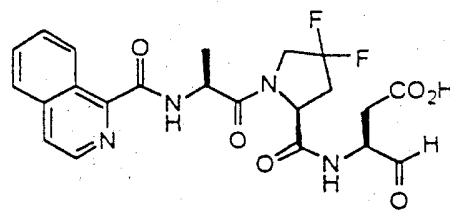
27d



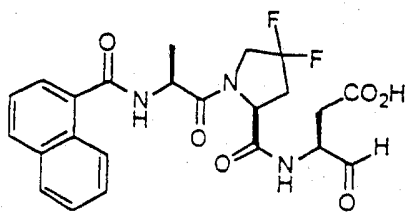
27k



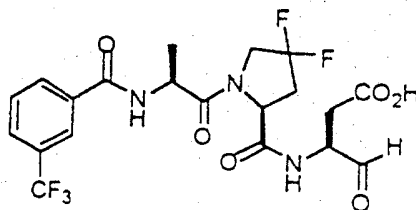
27e



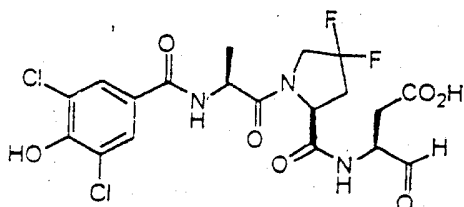
27l



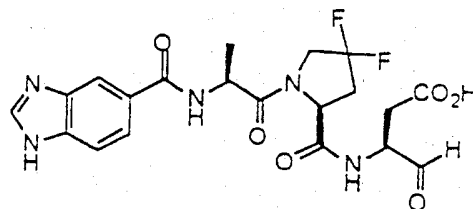
27f



27m

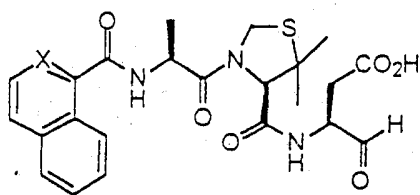


27g

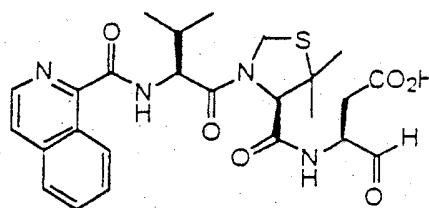


27n

Sloučeniny 28a-28c se připraví podle postupu popsaneho pro sloučeniny 5 a 7 (schéma I a schéma II), pouze náhradou Fmoc-dimethylthioprolinu za Fmoc-prolin v kroku 2.



28a, X=N
28b, X=C



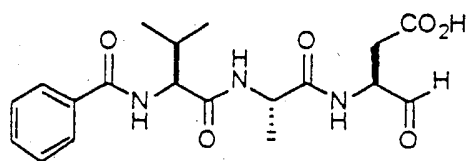
28c

Obecné postupy pro přípravu sloučenin provedení A vzorce I (schémata VII-VIII)

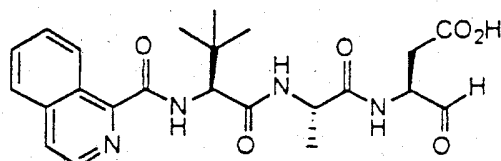
Sloučeniny podle provedení A vzorce I, kde R_4 je atom vodíku a jedna skupina R_5 je atom vodíku

Postup přípravy analog 29

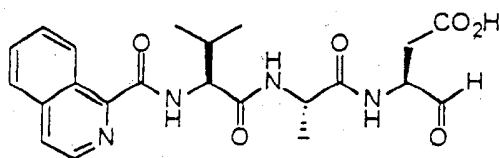
Sloučeniny 29a-29s se připraví podle postupu popsaneho pro přípravu sloučenin 5 (schéma I) pouze náhradou Fmoc-alaninu za Fmoc-prolin v kroku 2 a za použití buď Fmoc-valinu nebo Fmoc-alaninu nebo Fmoc-terc.leucinu v kroku 3.



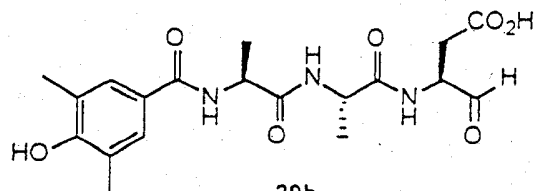
29a



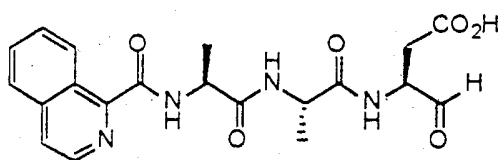
29g



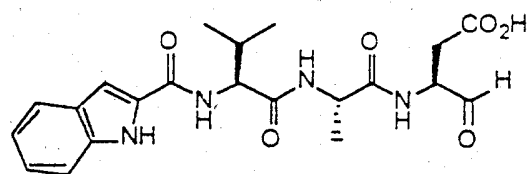
29b



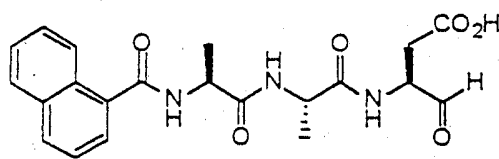
29h



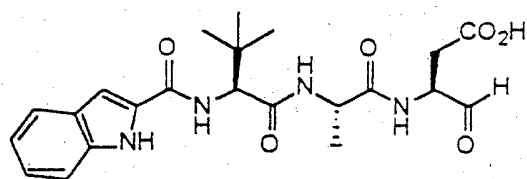
29c



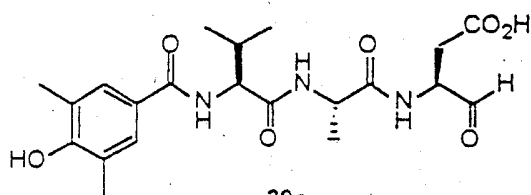
29i



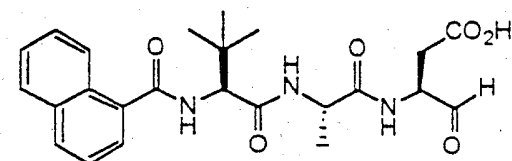
29d



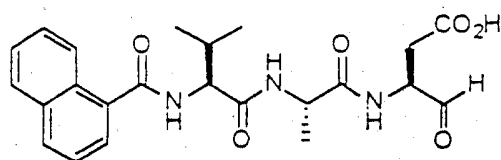
29j



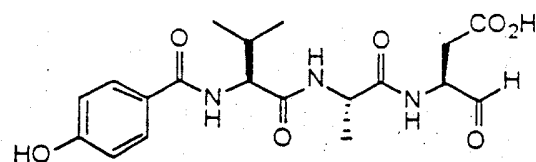
29e



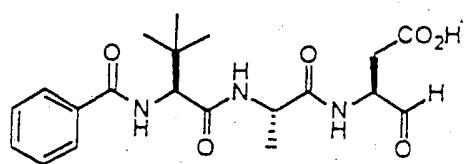
29k



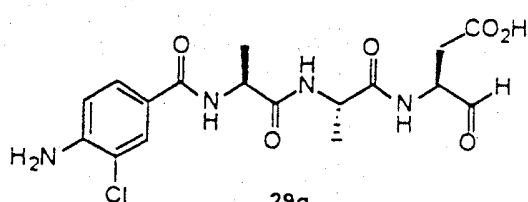
29f



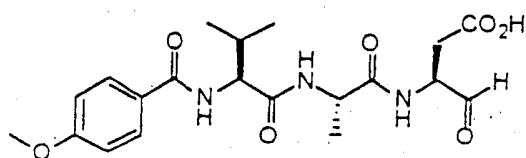
29l



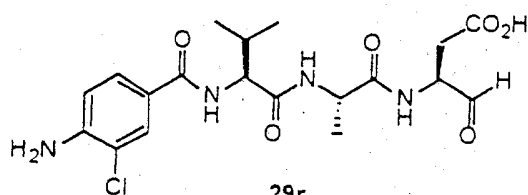
29m



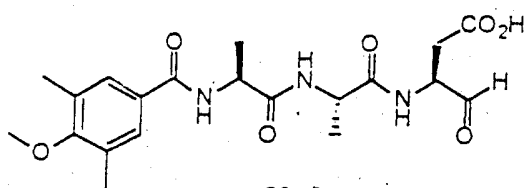
29q



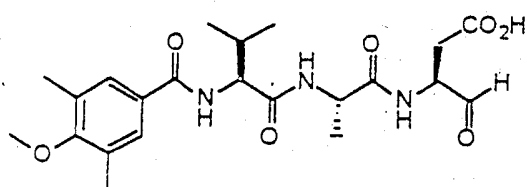
29n



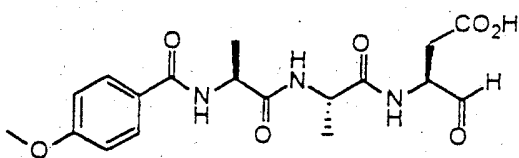
29r



29o'



29p



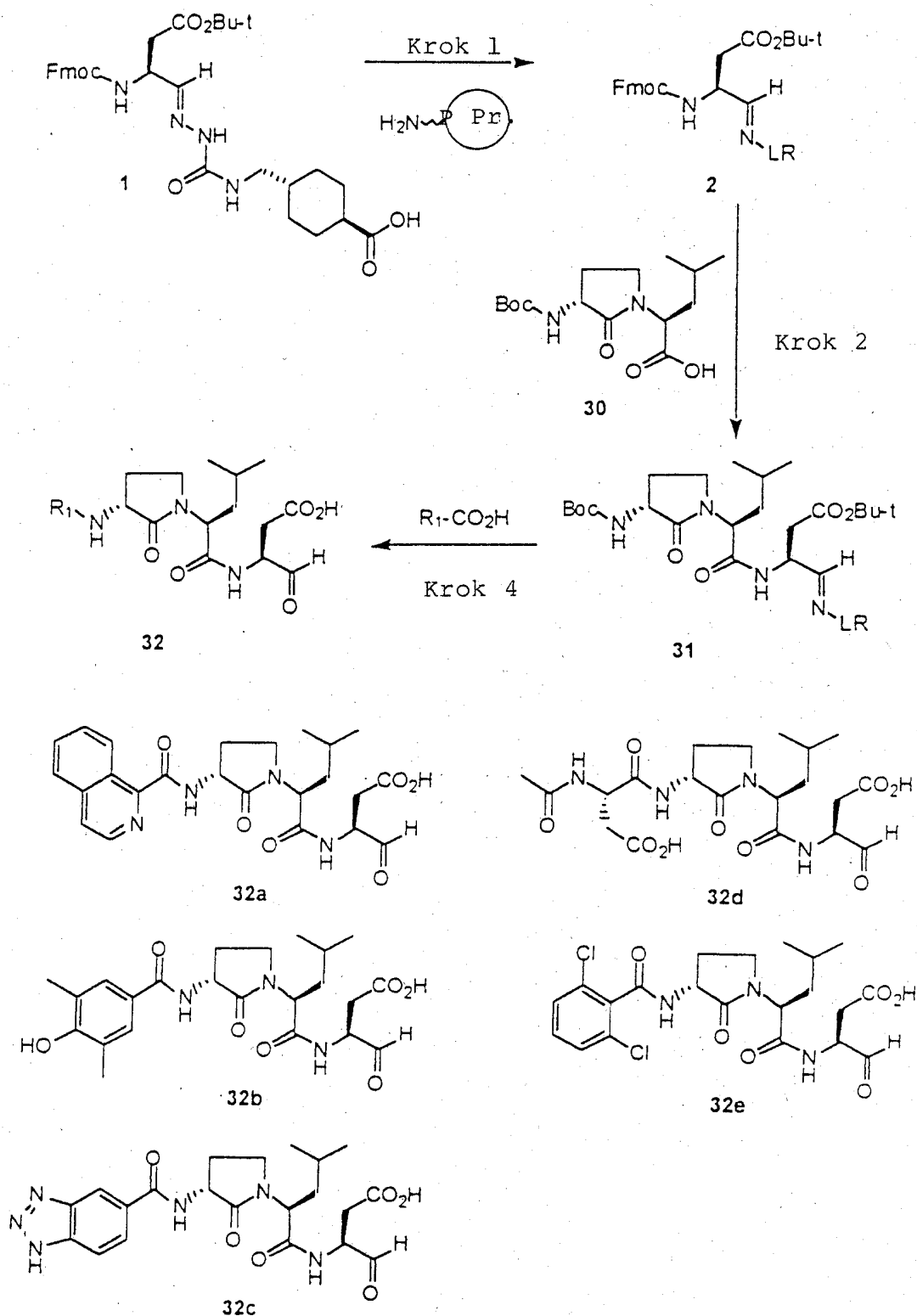
29s

Postup přípravy analog 32

Sloučeniny 32a-32e se připraví podle postupu popsaného pro přípravu sloučenin 5 (schéma I) pouze náhradou 2-(3-terc.butoxykarbonylamino-2-oxopyrrolidin-1-yl)-4-methylpentanové kyseliny (30) (Neosystem katalogové číslo BB02101) za Fmoc-prolin v kroku 2, po kterém následuje krok 4 (schéma VII).

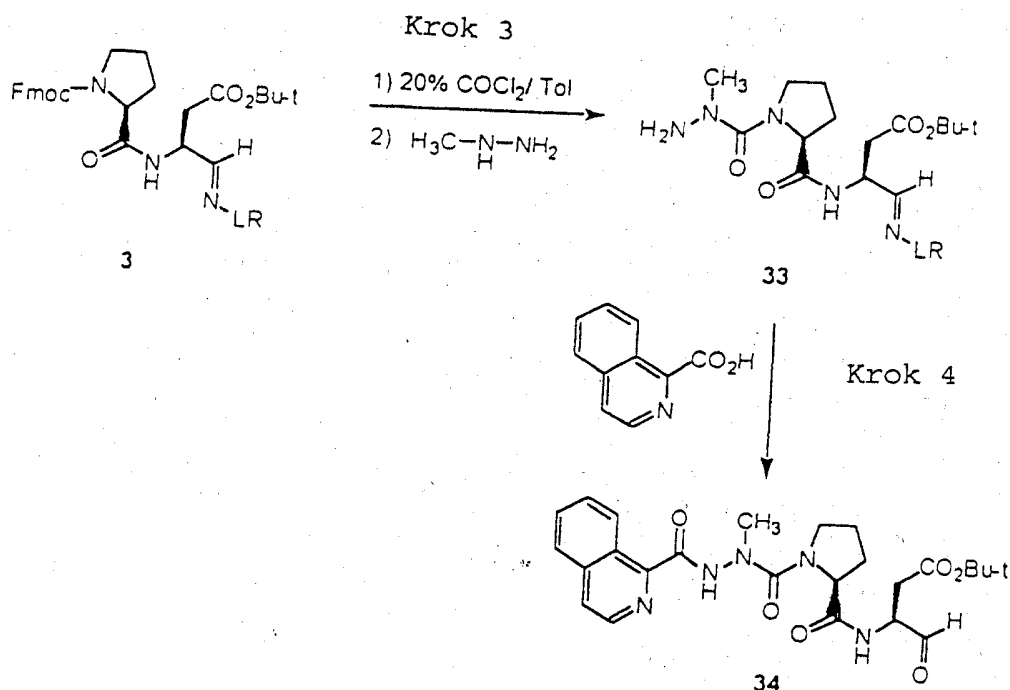
Sloučeniny podle provedení A vzorce I, kde R_2 a R_3 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří pětičlenný kruh

Schéma VII



Sloučeniny podle provedení A vzorce I, kde X je skupina $\text{N}-\text{CH}_3$

Schéma VIII



Příprava 3-({1-[N-(isochinolin-1-karbonyl)-N-methylhydrazino-karbonyl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanové kyseliny (34)

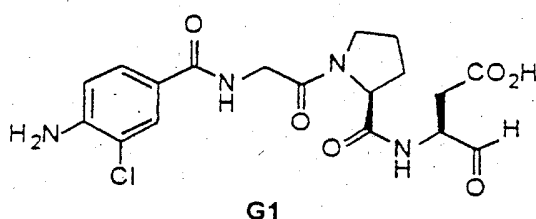
Suspenze 0,250 mmol pryskyřice 3 (schéma VIII) v 10 ml 20% roztoku piperidinu v dimethylformamidu se míchá 5 minut při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Postup se opakuje po 20 minutách. Pryskyřice se postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát směsí dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1, jednou methanolem a třikrát dichlormethanem, a krátce se suší. K pryskyřici se přidá 5 ml suchého dichlormethanu, 0,128 ml (3 ekvivalenty, 0,75 mmol) DIEA a 0,400 ml (3 ekvivalenty, 0,75 mmol) 20% roztoku fosgenu v toluenu. Suspenze se míchá 1,5 hodiny při teplotě místnosti. Směs se zbaví rozpouštědla a pryskyřice se promyje několikrát dichlormethanem. K suspenzi pryskyřice v 5 ml dichlormethanu se přidá 0,133 ml (10 ekvivalentů, 2,5 mmol) methylhydrazinu.

Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Pryskyřice se postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát směsí dimethylformamidu a dichlormethanu 1:1), jednou methanolem a třikrát dichlormethanem a suší se ve vakuu.

K 0,075 mmol pryskyřice ve 3 ml NMP se postupně přidá 52 mg (4 ekvivalenty, 0,3 mmol) 1-isochinolinkarboxylové kyseliny, 0,19 ml (8 ekvivalentů, 0,6 mmol) DIEA, 37 mg (4 ekvivalenty, 0,3 mmol) HOBt a 104 mg (4 ekvivalenty, 0,3 mmol) HBTU. Směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odstraní. Pryskyřice se postupně promyje dvakrát dimethylformamidem, jednou methanolem, dvakrát směsí dimethylformamidu 1:1, jednou methanolem a třikrát dichlormethanem a suší se ve vakuu.

Pryskyřice se reaguje se 4 ml 95% kyseliny trifluoroctové ve vodě 1 hodinu. Směs se filtruje. Filtrát se odpaří ve vakuu za získání oleje, který se čistí pomocí vysokotlaké chromatografie za získání sloučeniny uvedené v názvu 34.

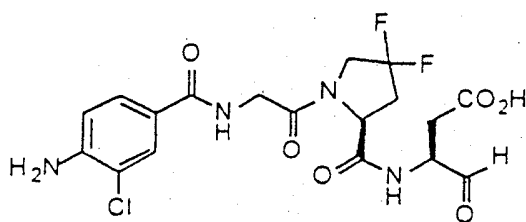
Sloučeniny podle provedení A vzorce I, kde $R_3 = R_2 =$ atom vodíku:



3-((1-((Amino-3-chlorbenzoylamino)acetyl)pyrrolidin-2-oxo-2-yl)amino)-4-oxobutanová kyselina (G1)

Sloučenina se připraví podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 7 pouze náhradou Fmoc-glycinu za Fmoc-alanin v kroku 3 (schéma II) za získání 4,3 mg sloučeniny uvedené v názvu. Kapalinová chromatografie-hmotové spektrum (ES⁺) m/e = 425,2

(M+H).



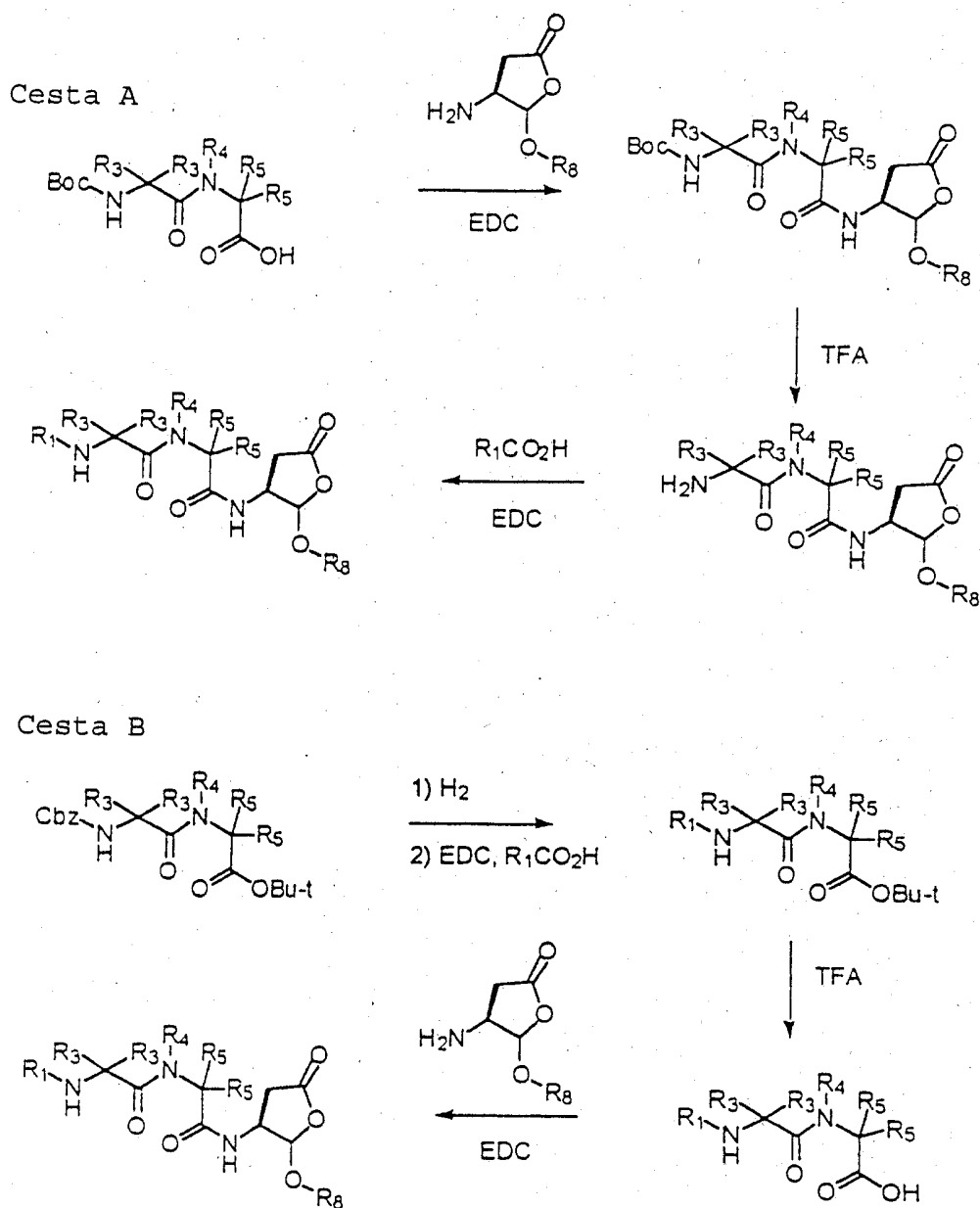
G2

3-({1-[(Amino-3-chlorbenzoylamino)acetyl]-4,4-difluorpyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (G2)

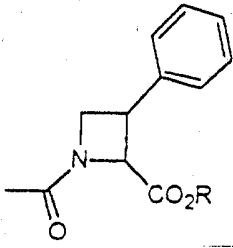
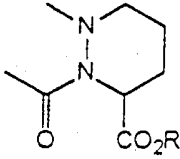
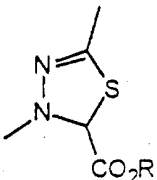
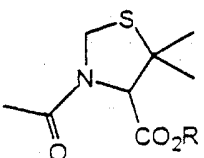
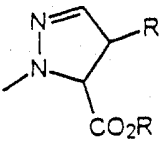
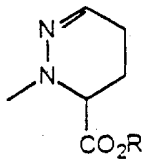
Sloučenina se připraví podle postupu popsaneho pro pripravu sloučeniny 7 a 27 pouze náhradou Fmoc-glycinu za Fmoc-alanin v kroku 3 (schéma II). Získá se 10,0 mg sloučeniny uvedené v názvu. Kapalinová chromatografie-hmotové spektrum (ES⁺) m/e = 461,2 (M+H).

Obecné postupy pro přípravu sloučenin podle provedení C vzorce I a provedení D vzorce I, kde Y = C (schémata IX-XXII)

Schéma IX



Zdroje vybraných cyklických systémů

Struktura	Odkaz
	Blythin, D.J., J. Org. Chem., 59, str. 6098-6100 (1994)
	Decicco, C.P. a kol., Syn. Lett., str. 615-616, (1995)
	Bennion, C. a kol., J. Med. Chem., 34, str. 439-447 (1991); Jensen, K.A. a kol., Acta Chemica Scand., 13, str. 1097-1103 (1961)
	komerčně dostupný
	Mish, M. R., J. Am. Chem. Soc., 119 str. 8379-8380 (1997)
	Xi, N. a kol., J. Am. Chem. Soc., 120 str. 80-86 (1998)

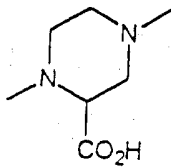
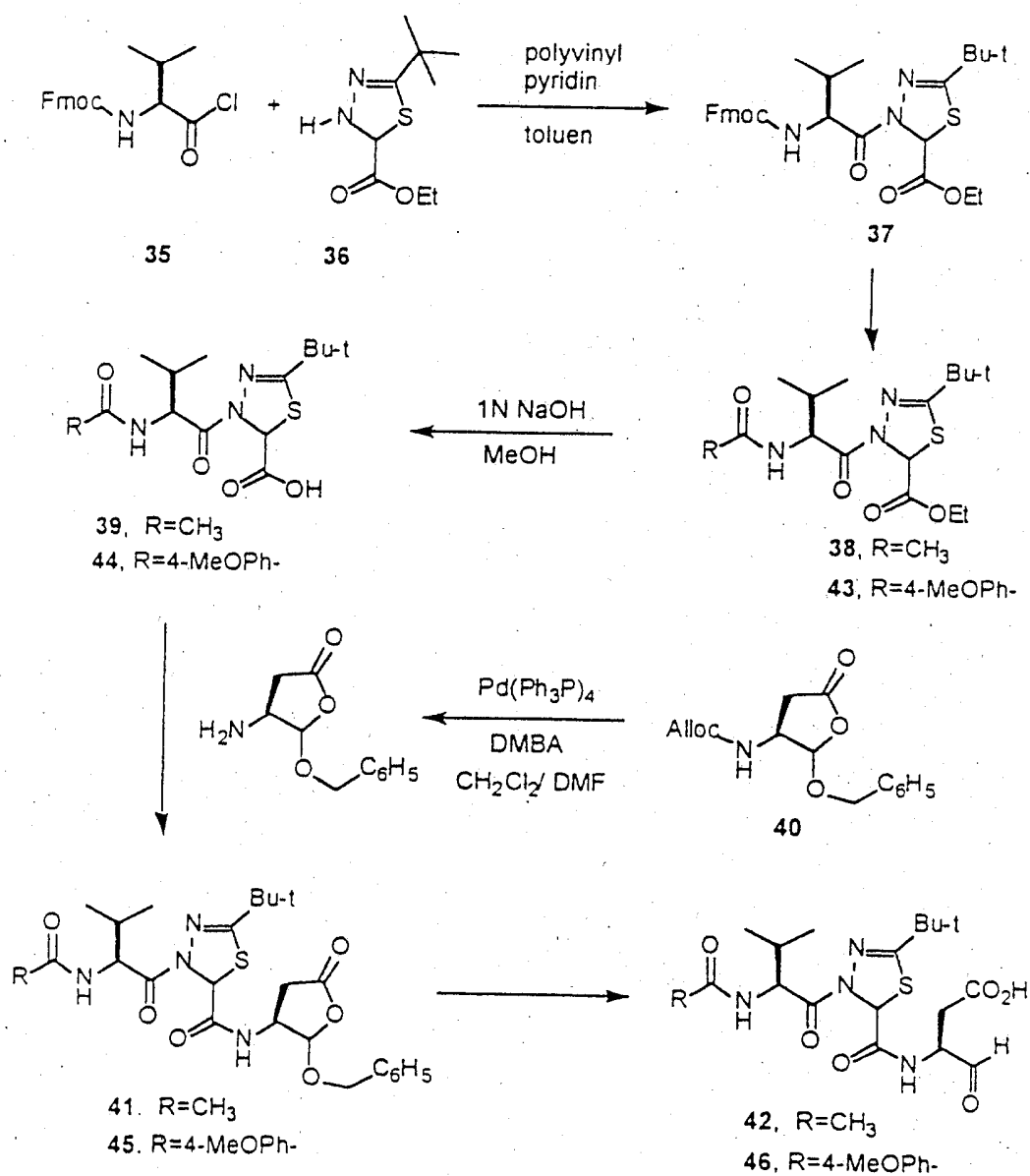
Struktura	Odkaz
	Merour, J.Y. a kol., Tetrahedron Lett., 32, str. 2469-2470 (1991); Rossen, K., Tetrahedron Lett., 36, str. 6429-6422 (1995)

Schéma X



Ethylester 5-terc.butyl-3-[2-(9H-fluoren-9-ylmethoxykarbonylamino)-3-methylbutyryl]-2,3-dihydro[1,3,4]thiadiazol-2-karboxylové kyseliny (37)

K míchající se suspenzi 2,63 g (25 mmol) polyvinylpyridinu v roztoku 2,16 g (10 mmol) ethylesteru 5-terc.butyl-2,3-dihydro[1,3,4]thiadiazol-2-karboxylové kyseliny (36), (J. Med. Chem., 34, str. 439 (1991)) v suchém toluenu se se přikape 4,76 g (12,1 mmol) 9H-fluoren-9-ylmethylesteru (1-chlorkarbonyl-2-methylpropyl)karbamové kyseliny v 20 ml bezvodého toluenu. Po 16 hodinách míchání se suspenze filtruje a filtrát se promyje nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Organická vrstva se oddělí, promyje se vodou, suší se nad bezvodým síranem sodným a odpaří se za získání žlutého oleje. Po čištění pomocí velmi rychlé chromatografie za eluce směsí hexanu a ethylacetátu 9/1 se získá 2,66 g (výtěžek 49 %) sloučeniny uvedené v názvu 37 ve formě čirého, viskózného oleje. ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 0,89 (d, 1,5H), 0,93 (d, 1,5H), 1,00 (d, 1,5H), 1,06 (d, 1,5H), 1,22 (t, 3H), 1,28 (s, 9H), 2,12-2,22 (m, 0,5H), 2,32-2,42 (m, 0,5H), 4,18-4,28 (m, 2H), 4,31-4,45 (m, 2H), 4,96-5,01 (m, 0,5H), 5,02-5,10 (m, 0,5H), 5,52 (d, 0,5H), 5,61 (d, 0,5H), 6,10 (s, 0,5H), 6,13 (s, 0,5H), 7,27-7,34 (m, 2H), 7,35-7,42 (m, 2H), 7,56-7,64 (m, 2H), 7,73-7,78 (m, 2H).

Ethylester 3-(2-acetylamino-3-methylbutyryl)-5-terc.butyl-2,3-dihydro-[1,2,4]thiadiazol-2-karboxylové kyseliny (38)

K roztoku 0,508 g (0,94 mmol) sloučeniny (37) (schéma IX) v 10 ml acetonitrilu se přidá 1 ml diethylaminu. Roztok se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti, rozpouštědlo se odstraní ve vakuu a získaný olej se azeotropicky destiluje s dichlormethanem (4x). Surový olej se rozpustí v 5 ml dichlormethanu a přidá se

0,26 ml (1,86 mmol) triethylaminu a 80 μ l (1,1 mmol) acetylchloridu. Roztok se míchá v dusíkové atmosféře při teplotě místnosti 2 hodiny. Rozpouštědlo se odpaří, surová látka se rozpustí v ethylacetátu a promyje se dvakrát 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou a suší se nad bezvodým síranem sodným, filtruje se a odpaří se za získání žlutého oleje. Po čištění pomocí velmi rychlé kolonové chromatografie na silikagelu za použití směsi hexanu a ethylacetátu 95/5 až 90/10 % jako eluentu se získá 0,301 g (výtěžek 89 %) produktu ve formě žlutého oleje. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuterochloroform) δ 0,88 (dd, 3H), 0,99 (dd, 3H), 1,16-1,45 (m, 12H), 2,02 (s, 3H), 2,09-2,19 (m, 0,5H), 2,30-2,40 (m, 0,5H), 4,12-4,29 (m, 2H), 5,20-5,27 (m, 0,5H), 5,30-5,36 (m, 0,5H), 6,60 (s, 0,5H), 6,90 (s, 0,5H), 6,20-6,31 (m, 1H). Analytická HPLC (kolona C18), (směs diastereomerů) 7,77, 7,98 min. Kapalinová chromatografie-ES (ES^+) $m/e=358,3$ 20 ($\text{M}+\text{H}$).

3-(2-Acetylamino-3-methylbutyryl)-5-terc.butyl-2,3-dihydro-[1,2,4]thiadiazol-2-karboxylová kyselina (39)

K roztoku 0,301 g (0,84 mmol) sloučeniny 38 v 10 ml methanolu se přidá 1,7 ml (1,7 mmol) 1N roztoku hydroxidu sodného. Reakční směs se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odpaří. Zbytek se rozpustí v ethylacetátu a promyje se dvakrát 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného a solankou a suší se nad bezvodým síranem sodným, filtruje se a odpaří se za získání 0,277 g, kvantitativně) sloučeniny uvedené v názvu ve formě žluté pevné látky.

Příprava allylesteru 2-(benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-karbamové kyseliny (40)

Sloučenina 40 se připraví z terc.butylesteru 3-allyloxykarbonylamino-4-hydroxybutanové kyseliny pomocí modifikace postupu popsaného v Bioorg. Med. Chem. Lett. Vol. 2, No. 6, str. 613-618, (1992).

K roztoku 27,52 g (352 mmol) dimethylsulfoxidu v 240 ml dichlormethanu se se při -78°C přidá 24,4 g (192 mmol) oxalylchloridu. Po 15 minutách se pomalu přidá roztok 41,44 g (160 mmol) terc.butylesteru 3-allyloxykarbonylamino-4-hydroxybutanové kyseliny ve 100 ml dichlormethanu a směs se míchá při -78°C dalších 1,5 hodiny. Přidá se 62,0 g (480 mmol) DIEA a směs se nechá 15 minut ohřívat na teplotu místnosti. Získaný roztok se zředí 300 ml dichlormethanu, promyje se dvakrát 500 ml 0,5N roztoku kyseliny sirové, dvakrát 300 ml vody a dvakrát 400 ml solanky. Organická vrstva se suší nad bezvodým síranem sodným a odpaří se ve vakuu na objem 200 ml. K tomuto roztoku se přidá 48 g (444 mmol) benzylalkoholu, potom 30 g 3A molekulových sít a 0,8 g p-toluensulfonové kyseliny. Reakční směs se nechá míchat 4 dny a přidá se 96 ml kyseliny trifluoroctové. Získaná suspenze se míchá 1 hodinu a potom se odpaří ve vakuu. Přidá se 500 ml ethylacetátu a směs se filtruje přes křemelinu. Filtrát se promyje dvakrát 500 ml kyseliny uhličitavy, dvakrát 400 ml vody a dvakrát 300 ml solanky. Organický roztok se suší nad bezvodým síranem sodným, filtruje se a odpaří se ve vakuu za získání 90 g světle žlutého oleje, který se míchá dvakrát se 400 ml hexanu za získání 31 g surového produktu ze spodní vrstvy zbytku. Pomocí chromatografie za použití směsi ethylacetátu a hexanu (4/96 až 22/78) se získá 6,97 g allylesteru anti-2-(benzyloxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny (vyšší R_f), 4,53 g syndiastereomeru a 12,97 g směsi diastereomerů (celkový výtěžek 53 %). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform) pro anti diastereomer: δ 2,41-2,45 (m, H), 3,02-3,07 (m, H), 4,28 (š,

H), 4,50-4,80 (m, 3H), 4,80-5,15 (m, 2H), 5,24-5,32 (m, 2H), 5,48 (s, H), 5,88-6,00 (m, H), 7,31-7,56 (m, 5H); pro syn diastereomer: 82,49-2,53 (m, H), 2,83-2,89 (m, H), 4,57-4,65 (m, 4H), 4,87-4,90 (m, H), 5,12-5,30 (m, 3H), 5,52-5,53 (d, H), 5,88-6,00 (m, H), 7,31-7,39 (m, 5H); retenční čas při analytické HPLC: 10,49 minut pro anti diastereomer a 10,37 minut pro syn diastereomer; LC-MS: $m/z = 292$ ($M+H^+$).

(2-benzyloxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)-amid 3-(2-acetylami-
no-3-methylbutyryl)-5-terc.butyl-2,3-dihydro[1,2,4]thiadiazol-
2-karboxylové kyseliny (41)

K roztoku 0,385 g (1,32 mmol) allylesteru (2-benzyloxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny (40) v 2 ml dimethylformamidu se přidá 0,456 g (2,92 mmol) DMBA a 0,136 g (0,12 mmol) $Pd(PPh_3)_4$ a roztok se míchá 15 minut při teplotě místnosti. Přidá se roztok sloučeniny 39 v 4,5 ml dichlormethanu a 0,5 ml dimethylformamidu, potom 0,168 g (1,24 mmol) HOBT a 0,256 g (1,33 mmol) EDC. Reakční směs se míchá v dusíkové atmosféře 18 hodin při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří. Surová látka se rozpustí v ethylacetátu a promyje se dvakrát 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou a suší se nad bezvodým síranem sodným, filtruje se a odpaří se za získání žluté pevné látky. Po čištění pomocí velmi rychlé kolonové chromatografie se získá 374 mg (výtěžek 88 %) sloučeniny uvedené v názvu (41) ve formě směsi diastereomerů. ^1H -NMR (500MHz, deuteriochloroform) δ 0,75-1,05 (m, 6H), 1,19-1,34 (m, 9H), 1,93-2,08 (m, 3H), 2,19-2,50 (m, 2H), 2,80-3,03 (m, 1H), 4,56-4,93 (m, 3H), 5,02-5,20 (m, 1H), 5,46-5,56 (m, 1H), 5,95-6,16 (m, 2H), 6,86-6,95 (m, 1H), 7,20-7,43 (m, 5H). Analytická HPLC (kolona C18), (směs diastereomerů) 8,58 minuty. LC-MS (ES^+) $m/e=519,2$ ($M+H$).

Příprava 3-{[3-(2-acetylamino-3-methylbutyryl)-5-terc.butyl-2,3-dihydro-[1,3,4]thiadiazol-2-karbonyl]-amino}-4-oxobutanové kyseliny (42)

Podle způsobu A (viz schéma XXIII) se hydrolyzuje vzorek 45 mg (0,087 mmol) sloučeniny 41 a získá se 17 mg (výtěžek 45 %) sloučeniny uvedené v názvu. Analytická HPLC (kolona C18): 5,15 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=429,3 (M+H).

ethylester 5-terc.butyl-3-[2-(4-methoxy-benzoylamino)-3-methylbutyryl]-2,3-dihydro-[1,3,4]thiadiazol-2-karboxylové kyseliny (43)

Sloučenina se připraví podle postupu uvedeného výše pro sloučeninu 38, za použití anisoylchloridu. Získá se 216 mg (50 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě amorfnní pevné látky. ¹H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 0,92 (d, 1,5H), 0,98 (d, 1,5H), 1,03 (d, 1,5H), 1,07 (d, 1,5H), 1,21 (t, 3H), 1,28 (s, H), 2,21-2,28 (m, 0,5H), 2,41-2,48 (m, 0,5H), 3,83 (s, 3H), 4,15-4,28 (m, 2H), 5,41-5,46 (m, 0,5H), 5,48-5,53 (m, 0,5H), 6,08 (s, 0,5H), 6,13 (s, 0,5H), 6,75 (d, 0,5H), 6,85 (d, 0,5H), 6,91 (d, 2H), 7,59 (d, 2H).

5-terc.butyl-3-[2-(4-methoxybenzoylamino)-3-methylbutyryl]-2,3-dihydro-[1,3,4]thiadiazol-2-karboxylová kyselina (44)

Sloučenina se připraví pomocí ppostupu popsaneého pro přípravu sloučeniny 39. Získá se 180 mg (kvantitativně) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. ¹H NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 0,92 (d, 1,5H), 0,96 (d, 1,5H), 1,03 (d, 1,5H), 1,07 (d, 1,5H), 2,22-2,30 (m, 0,5H), 2,37-2,45 (m, 0,5H), 3,83 (s, 1,5H) 3,84 (s, 1,5H), 5,41-5,48 (m, 1H), 6,14 (s, 0,5H), 6,15 (s, 0,5H), 6,87-6,95 (m, 2H), 7,75-7,83 (m, 3H).

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydro-furan-3-yl)amid 5-terc.butyl-3-[2-(4-methoxy-benzoylamino)-3-methylbutyryl]-2,3-dihydro-[1,3,4]thiadiazol-2-karboxylové kyseliny (45a a 45b)

Sloučenina se připraví podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 41. Získá se surová sloučenina uvedená v názvu ve formě 4 diastereomerů. Surová látka se čistí pomocí velmi rychlé chromatografie za eluce gradientem směsi dichlormethan až dichlormethan/ethylacetát 6/4 za získání 31 mg složky o vyšším R_f jako jednoho diastereomeru (45a). Analytická HPLC (kolona Microsorb C18) 19,87 minuty. ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) (jeden diastereomer) δ 1,04 (d, 3H), 1,14 (d, 3H), 1,28 (s, 9H), 2,77 (d, 0,5H), 2,81 (d, 0,5H), 2,90 (d, 0,5H), 2,95 (d, 0,5H), 3,84 (s, 3H), 4,44-4,49 (m, 1H), 4,53 (d, 1H), 4,85 (d, 1H), 5,02-5,08 (m, 1H), 6,37 (s, 1H), 6,41 (d, 1H), 6,93 (d, 2H), 7,26-7,40 (m, 5H), 7,75 (d, 2H), 7,92-7,96 (m, 1H).

Frakce o nižším R_f obsahuje 185 mg pevné látky jako směsi diastereomerů (45b) 3:1:2. Analytická HPLC: kolona Microsorb C18 19,00, 19,26, 20,02 minut, ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) (3:1:2 směs tří diastereomerů) δ 0,89 (d, 2,25 H), 0,98 (d, 0,75H), 1,02 (d, 0,5H), 1,03 (d, 1,5H), 1,08 (d, 0,25H), 1,10 (d, 0,75H), 1,16 (s, 0,75H), 1,17 (s, 2,25H), 1,23 (s, 0,375H), 1,24 (s, 1,125H), 1,28 (s, 1,125 H), 1,29 (s, 3,375H), 2,12-2,18 (m, 0,33H), 2,32-2,42 (m, 0,67H), 2,43-2,51 (m, 0,5H), 2,61-2,67 (m, 0,5H), 2,84-2,92 (m, 0,5H), 2,96-3,07 (m, 0,5H), 3,85 (s, 3H), 4,58-4,71 (m, 2H), 4,81 (d, 0,16H), 4,86 (d, 0,32H), 4,91 (d, 0,52H), 5,09-5,13 (m, 0,33H), 5,14-5,18 (m, 0,67H), 5,35 (dd, 1H), 5,46 (s, 0,16H), 5,53 (d, 0,32H), 5,58-5,62 (d, 0,52H), 6,17 (s, 0,52H), 6,20 (s, 0,16H), 6,34 (s, 0,32H), 6,50 (d, 0,32H), 6,62 (d, 0,16H), 6,67 (d, 0,52H), 6,86 (d, 0,33H), 6,91 (d, 0,67H), 6,94 (d,

20.10.00

1,0H), 7,24-7,43 (m, 5H), 7,61 (d, 1H), 7,70 (d 0,33H), 7,71 (d, 0,67H), 7,76 (d, 1H).

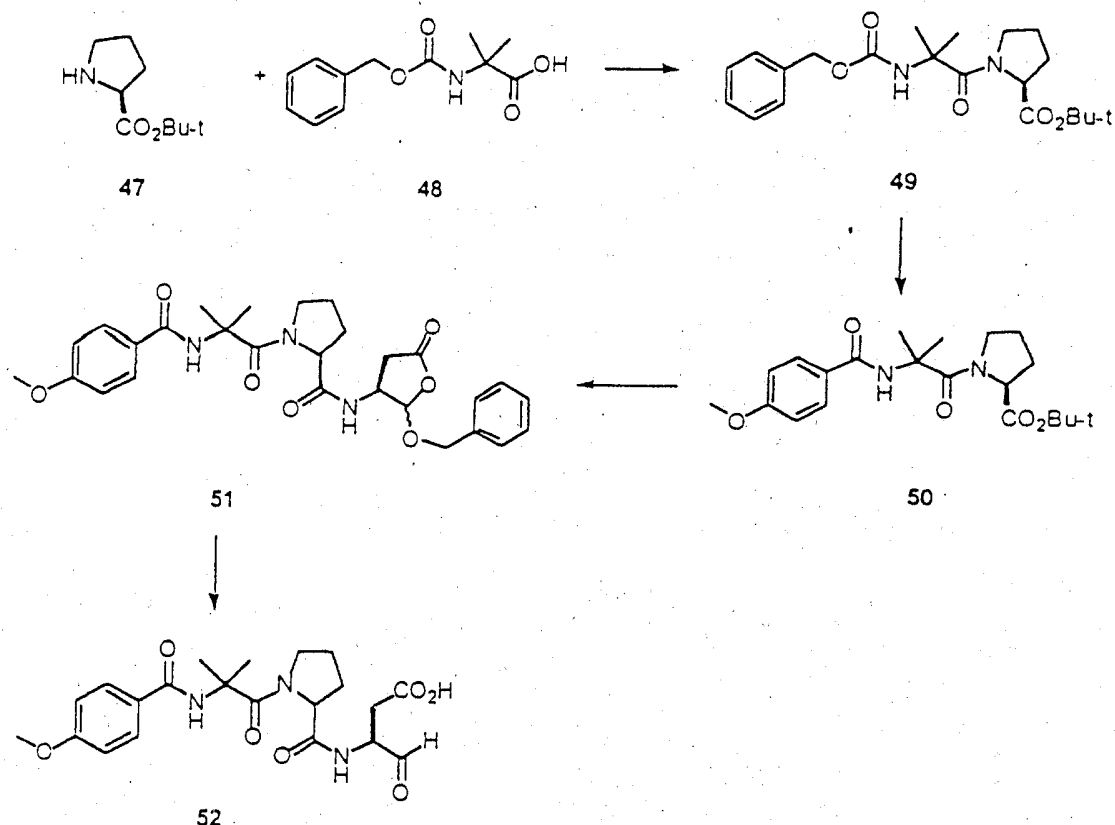
Příprava 3-({5-terc.butyl-3-[2-(4-methoxybenzoylamino)-3-methylbutyryl]-2,3-dihydro[1,3,4]thiadiazol-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanové kyseliny 46a

30mg vzorek sloučeniny 45a se hydrolyzuje podle postupu B (viz. schéma XXIII) a získá se 8 mg (30% výtěžek) požadované látky. Analytická HPLC (kolona Microsorb C-18, acetonitril/voda s pufrem TFA) 12,85 minut, ^1H NMR (500 MHz, deuteromethanol) δ 0,98-1,1 (m, 6H), 1,28 (s, 9H), 2,20-2,31 (m, 1H), 2,40-2,48 (m, 1H), 2,6-2,72 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 4,18-4,26 (m, 1H), 4,56-4,62 (m, 1H), 5,25-5,32 (m, 1H), 6,24-6,28 (m, 1H), 6,98 (d, 2H), 7,85 (d, 2H).

Příprava 3-({5-terc.butyl-3-[2-(4-methoxybenzoylamino)-3-methyl-butryl]-2,3-dihydro[1,3,4]thiadiazol-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanové kyseliny 46b

30mg vzorek sloučeniny 45b (směs 3 diastereomerů) se hydrolyzuje podle způsobu B (viz. schéma XXIII) a získá se 22 mg (výtěžek 84 %) požadovaného produktu ve formě směsi diastereomerů 3:2. Analytická HPLC (kolona Microsorb kyano) 7,08, 7,78 minut. ^1H NMR (500MHz, deuteromethanol) δ 0,98-1,08 (m, 4H), 1,09-1,12 (m, 2H), 1,29 a 1,31 (2 singlety, 9H), 2,23-2,30 (m, 0,5H), 2,36-2,55 (m, 1,5H), 2,62-2,72 (m, 1H), 3,85 (s, 3H), 4,18-4,27 (m, 1H), 4,58-4,65 (m, 1H), 5,27-5,33 (m, 1H), 6,23-6,27 (m, 1H), 7,00 (d, 2H), 7,70-7,88 (m, 2H).

Schéma XI



terc.butylester 1-(2-benzyloxykarbonylamino-2-methyl-propionyl)pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (49)

K roztoku 2,00 g (12 mmol) terc.butylesteru prolinu (47) v 15 ml dichlormethanu se přidá 3,05 g (13 mmol) N-karbobenzyloxy-2-methylalaninu, 2,36 g (17 mmol) HOBT (2,36g, 17mmol) a 3,43 g (18 mmol) EDC a roztok se míchá při teplotě místnosti v dusíkové atmosféře 48 hodin. Rozpouštědlo se odpaří, surová látka se rozpustí v ethylacetátu a dvakrát se promyje 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou a suší se nad bezvodým síranem sodným, filtruje se a odpaří se za získání 4,68 g (100 %) bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuterochloroform) δ 1,20-2,15 (m, 4H), 1,43 (s, 9H), 1,59 (d, 6H), 3,21-3,79 (m, 2H), 4,35 (šs, 1H), 4,82-5,19 (m, 3H), 5,74 (šs, 1H), 7,17-7,49 (m,

5H). Analytická HPLC (kolona C18) 10,66 minuty. LC-MS (ES⁺)
m/e= 391,3 (M+H).

terc.butylester 1-(2-(4-methoxybenzoylamino)-2-methyl-propionyl)pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (50)

K roztoku 1,00 g (2,56 mmol) sloučeniny 49 v 20 ml methanolu se přidá 200 mg 10% palladia na uhlí a směs se míchá ve vodíkové atmosféře 2 hodiny. Směs se filtruje přes 0,45µm PTFE filtr a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu za získání bezbarvého oleje. tento olej se rozpustí v 25 ml dichlormethanu a přidá se 660 µl (3,79 mmol) DIEA a 480 mg (2,8 mmol) p-anisoylchloridu. Roztok se míchá 18 hodin při teplotě místnosti v dusíkové atmosféře. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a olej se rozpustí v ethylacetátu. Organická fáze se promyje dvakrát 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, vodou, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou. Organická fáze se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se za získání bílé pevné látky, která se čistí pomocí kolonové chromatografie za eluce směsí dichlormethanu a methanolu (99/1 až 98/2 %) a získá se 655 mg (výtěžek 65 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500MHz, deuteriochloroform) δ 1,47 (s, 9H), 1,68-2,24 (m, 5H), 1,80 (d, 6H), 3,55-3,68 (m, 1H), 3,72-3,93 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 4,43-4,55 (m, 1H), 6,90 (d, 2H), 7,60 (šs, 1H), 7,77 (d, 2H). Analytická HPLC (kolona C18) 8,98 minuty.

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-methoxybenzoylamino)-2-methyl-propionyl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (51)

K roztoku 325 mg (0,83 mmol) sloučeniny 50 v 5 ml dioxanu se přidá 463 µl (3,32 mmol) triethylaminu a 642 µl (3,32 mmol) TMS-triflátu a roztok se míchá 5 hodin při 100 °C, potom 18 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se zředí vodou,

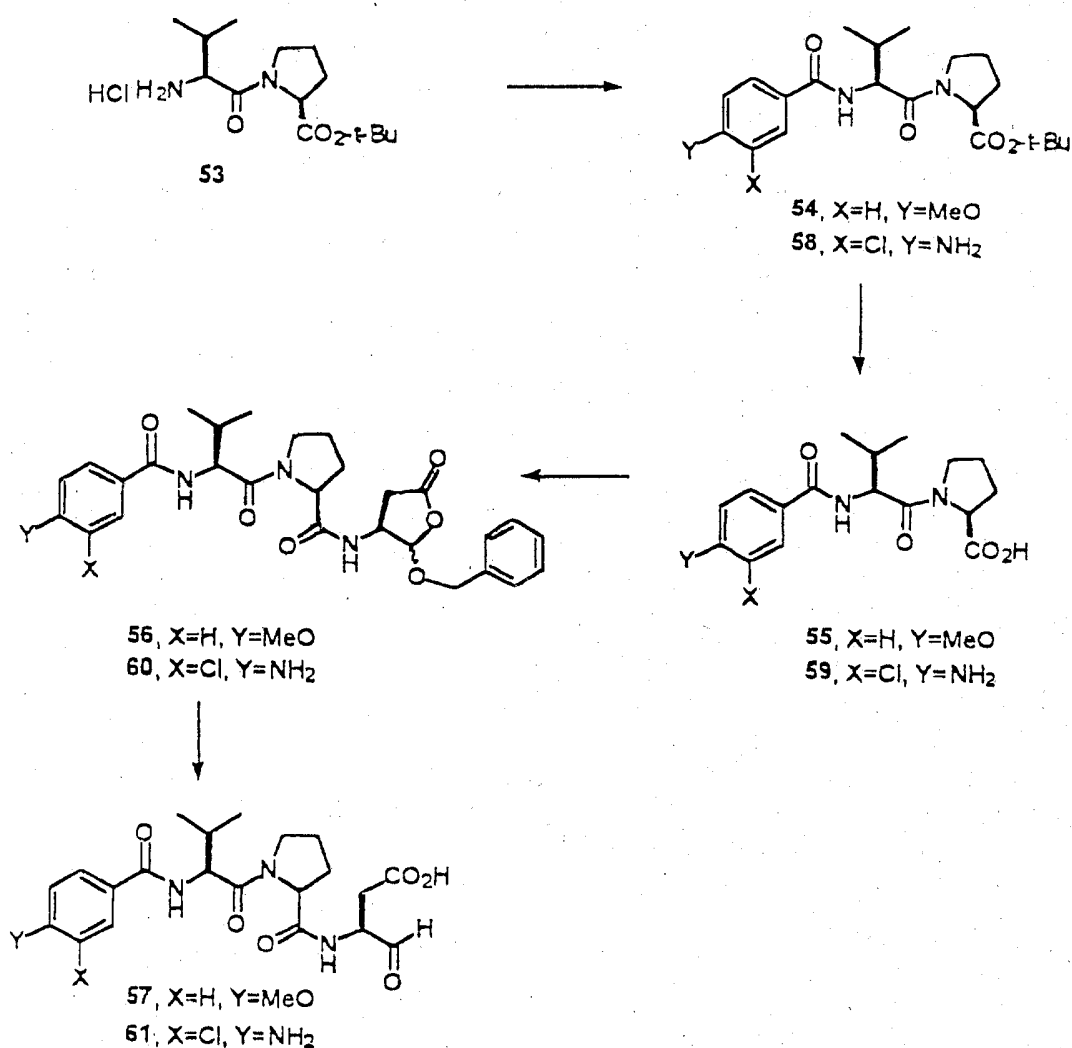
pomocí nasyceného roztoku hydrogenuhlíčitanu sodného se pH upraví na hodnotu 8 a extrahuje se diethyletherem, suší se nad bezvodým síranem sodným, filtruje se a odpaří se za získání 230 mg (výtěžek 83 %) bílé pevné látky, která se použije přímo v dalším kroku.

K roztoku 1,027 g (3,5 mmol) allylesteru (2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny (40) v 20 ml dichlormethanu se přidá 543 mg (3,48 mmol) DMBA a 280 mg (0,24 mmol) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ a roztok se míchá 20 minut v při teplotě místnosti v dusíkové atmosféře. Přidá se 818 mg (2,45 mmol) 1-[2-(4-methoxybenzoylamino)-2-methyl-propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny v 5 ml dichlormethanu a potom 0,534 g (3,95 mmol) HOBT a 738 mg (3,84 mmol) EDC. Reakční směs se míchá v dusíkové atmosféře 18 hodin při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří, surová látka se rozpustí v ethylacetátu a dvakrát se promyje 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného, filtruje se a odpaří se za získání žluté pevné látky. Po čištění pomocí velmi rychlé kolonové chromatografie za eluce směsí ethylacetátu a hexanu 20/80 až 50/50 % se získá 760 mg (výtěžek 61 %) produktu ve formě světle žluté pevné látky. ^1NMR (500MHz, deuteromethanol) δ 1,53 (d, 6H), 1,65-1,93 (m, 3H), 1,96-2,14 (m, 1H), 2,60 (dd, 0,1H), 2,77 (dd, 0,85H), 2,94 (dd, 0,85H), 3,04-3,11 (m, 0,2H), 3,42-3,52 (m, 1H), 3,57-3,67 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 4,38-4,76 (m, 3H), 4,84 (d, 1H), 5,64-5,70 (m, 1H), 6,96-7,03 (m, 2H), 7,23-7,43 (m, 5H), 7,78-7,97 (m, 2H). Analytická HPLC (kolona C18) 13,32, 14,37 minuty, LC-MS (ES^+) $m/e=524,3$ ($\text{M}+\text{H}$).

Příprava 3-({1-[2-(4-methoxybenzoylamino)-2-methylpropionyl]-pyrrolidin-2-karbonyl}-amino)-4-oxobutanové kyseliny (52)

61mg (0,14 mmol) vzorek sloučeniny 51 se hydrolyzuje podle způsobu C (viz. schéma XXIII) a získá se 30 mg (výtěžek 60 %) sloučeniny uvedené v názvu. Analytická HPLC (kolona C18) 6,79 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=434,3 (M+H).

Schéma XII



terc.butylester 1-[2-(4-methoxybenzoalamino)-3-methylbutyryl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (54)

K suspenzi 2,011 g (7,44 mmol) H-val-pro-OtBu.HCl (53) v 20 ml dichlormethanu se přidá 3,2 ml (18,4 mmol) DIEA a potom roztok 1,26 g (7,4 mmol) 4-methoxybenzoylchloridu v 5 ml dichlor-

methanu. Roztok se míchá 1 hodinu v dusíkové atmosféře při teplotě místnosti a potom se odpaří. Získaný olej se rozpustí v ethylacetátu a promyje se dvakrát 0,5N roztokem hydrogensíranu draselného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlitanu sodného a solankou, potom se odpaří ve vakuu a získá se 2,814 g (výtěžek 94 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuterochloroform) δ 1,05 (dd, 6H), 1,46 (s, 9H), 1,88-2,29 (m, 5H), 3,65-3,74 (m, 1H), 3,81-3,92 (m, 1H), 3,85 (s, 3H), 4,32-4,42 (m, 1H), 4,81-4,91 (m, 1H), 6,79-6,86 (m, 1H), 6,91 (d, 2H), 7,78 (d, 2H). Analytická HPLC (kolona kyano) 10,18 minuty.

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-(2-(4-methoxybenzoylamino)-3-methylbutyryl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (56)

1,079g (2,67 mmol) vzorek sloučeniny 54 se rozpustí v 40 ml 15% kyseliny trifluoroctové v dichlormethanu a směs se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a získá se 0,93 g (100 %) sloučeniny 55 ve formě bílé pevné látky, která se použije v dalším kroku.

K roztoku 1,796 g (6,17 mmol) sloučeniny 40 v 20 ml dichlormethanu se přidá 1,119 g (7,17 mmol) DMBA a 0,683 (0,59 mmol) $\text{Pd(PPh}_3)_4$ a roztok se míchá 20 minut při teplotě místnosti. Přidá se roztok 0,928 g (2,67 mmol) sloučeniny 55 v 17 ml dichlormethanu a 2 ml dimethylformamidu, potom 0,811 g (6,01 mmol) HOBT a 1,16 g (6,04 mmol) EDC. Reakční směs se míchá v dusíkové atmosféře 18 hodin při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se promyje dvakrát 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlitanu sodného a solankou a suší se nad bezvodým síranem sodným, filtruje se a odpaří se za získání žluté pevné látky.

Po čištění pomocí velmi rychlé chromatografie za eluce směsí ethylacetátu a dichlormethanu (10/90 až 40/60) se získá 910 mg (63 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě světle žluté pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteriochloroform) δ 0,96 (dd, 6H), 1,84-2,19 (m, 4H), 2,25-2,38 (m, 1H), 2,45 (dd, 1H), 2,80-2,98 (m, 1H), 3,60-3,72 (m, 1H), 3,82-3,95 (m, 1H), 3,86 (s, 3H), 4,26-4,95 (m, 6H), 5,41 (s, 0,2H), 5,53 (d, 0,8H), 6,67-6,77 (m, 1H), 6,88-6,99 (d, 2H), 7,22-7,57 (m, 5H), 7,71-7,82 (d, 2H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 9,21 minuty. LC-MS (ES^+) $m/e = 538,3$ ($\text{M}+\text{H}$).

3-({1-[2-(4-Methoxybenzoylamino)-3-methylbutyryl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (57)

125mg (0,23 mmol) vzorek sloučeniny 56 se hydrolyzuje podle způsobu A (viz. schéma XXIII) a získá se 60 mg (výtěžek 58 %) sloučeniny uvedené v názvu: Analytická HPLC 5,71 minuty. LC-MS (ES^+) $m/e = 448,2$ ($\text{M}+\text{H}$).

Příprava 4-amino-3-chlorbenzoové kyseliny:

Suspenze 4,82 g (31,58 mmol) 4-amino-3-chlorbenzonitrilu se ve 140 ml 6N roztoku kyseliny chlorovodíkové zahřívá k varu pod zpětným chladičem. Sraženina se rozpustí zahříváním a získá se bezbarvý roztok. Po dalším zahřívání se roztok zakalí. Po 9 hodinách se reakční směs ochladí na teplotu místnosti. Získaná sraženina se filtruje, potom se rozpustí v tetrahydrofuranu a rozpouštědlo se odpaří. Zbytek se opakovaně odpaří z toluenu a získá se 3,18 g (59 %) bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol:deuteriochloroform 1:4) δ 6,80 (d, 1H), 7,75 (dd, 1H), 7,94 (d, 1H). Analytická HPLC (kolona kyano) 8,73 minuty.

terc.butylester 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)-3-methylbutyryl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (58)

K suspenzi 1,707 g (6,31 mmol) sloučeniny 53 v 25 ml dichlormethanu se při 0 °C přidá 3,2 ml (18,4 mmol) DIEA, potom roztok 1,298 g (7,56 mmol) 4-amino-3-chlorbenzoové kyseliny, 1,005 g (7,44 mmol) HOBT a 1,456 g (7,58 mmol) EDC. Získaná směs se míchá 15 minut při 0 °C, potom se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se 18 hodin. Rozpouštědlo se odpaří a získaný olej se rozpustí v ethylacetátu, promyje se dvakrát 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a solankou a získá se 2,68 g bílé pevné látky. Po čištění pomocí velmi rychlé chromatografie za použití směsi methanolu a dichlormethanu (1/99 až 2/98) jako eluentu se získá 2,04 g (výtěžek 76 %) sloučeniny 58 ve formě bílé pevné látky. ¹H-NMR (500MHz, deuteriochloroform) δ 1,05 (dd, 6H), 1,47 (s, 9H), 1,86-2,2 (m, 5H), 3,62-3,76 (m, 1H), 3,78-3,94 (m, 1H), 4,39 (dd, 1H), 4,79-4,89 (dd, 1H), 6,73 (d, 1H), 6,78 (d, 1H), 7,52 (dd, 1H), 7,75 (d, 1H). Analytická HPLC (kolona kyano) 16,18 minuty. LC-MS (ES⁻) m/e=424,3 (M+H).

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)-3-methylbutyryl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (60)

0,632g (1,49 mmol) vzorek sloučeniny 58 se rozpustí v 20 ml 50% kyseliny trifluoroctové v dichlormethanu a roztok se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti. Zbývající kyselina trifluoroctová s odstranění opakovaným odpařením z dichlormethanu (3x) a získá se produkt ve formě bílé pevné látky.

385mg (1,04 mmol) vzorek se nechá reagovat se sloučeninou 40 pomocí postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 56. Izoluje se 265 mg (45 %) sloučeniny uvedené v názvu (60) ve formě žluté pevné látky. ¹H NMR (500 MHz, deuteromethanol) δ 0,89-1,12

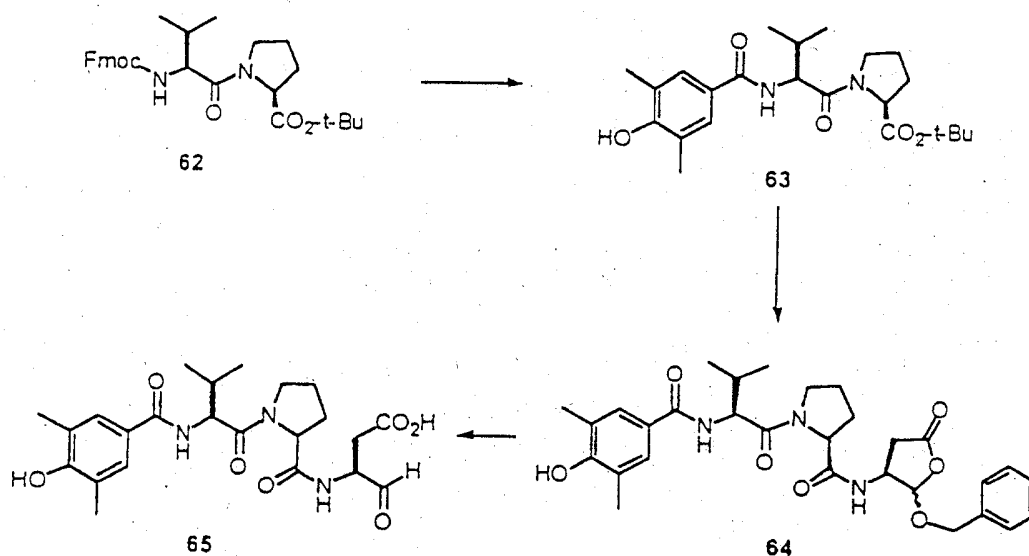
(m, 6H), 1,72-2,26 (m, 5H), 2,49 (dd, 0,25H), 2,60 (dd, 0,7H), 2,80 (dd, 0,75H), 2,96-3,09 (m, 0,3H), 3,64-3,77 (m, 1H), 3,94-4,10 (m, 1H), 4,20-4,74 (m, 4H), 4,76-4,95 (m, 1H), 5,51 (s, 0,5H), 5,61-5,70 (m, 1,5H), 6,79 (dd, 1H), 7,23-7,43 (m, 5H), 7,48-7,61 (m, 1,4H), 7,68-7,81 (m, 1H), 7,99-8,12 (m, 0,6H).

Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 14,90, 15,20 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=557,2 (M+H).

3-({1-[2-(4-Amino-3-chlorbenzoylamino)-3-methylbutyryl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (61)

45mg (0,08 mmol) vzorek sloučeniny 60 se hydrolyzuje podle způsobu A (viz. schéma XXIII) a získá se 30 mg (výtěžek 80 %) sloučeniny uvedené v názvu: ¹H NMR (500MHz, deuteromethanol) 1,06 (dd, 6H), 1,78-2,38 (m, 5H), 2,38-2,86 (m, 2H), 3,62-3,83 (m, 1H), 4,12-4,76 (m, 4H), 7,04-7,21 (m, 1H), 7,58-8,01 (m, 2H); Analytická HPLC 8,16 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=467,3 (M+H).

Schéma XIII



terc.butylester 1-[2-(4-hydroxy-3,5-dimethylbenzoylamino)-3-methylbutyryl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (63)

K roztoku 600 mg (1,22 mmol) sloučeniny 62 (připravené ze sloučeniny 53 a Fmoc-Cl) v 10 ml bezvodého dimethylformamidu se přidají 3 ml diethylaminu. Roztok se míchá v dusíkové atmosféře při teplotě místnosti 3 hodiny a rozpouštědlo se odpaří. Získaný olej se rozpustí v 8 ml dichlormethanu a přidá se 0,302 g (1,82 mmol) 3,5-dimethyl-4-hydroxybenzoové kyseliny, 338mg (2,5mmol) HOBt a 0,456g (2,43mmol) EDC a roztok se míchá 18 hodin v dusíkové atmosféře při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a získaný olej se rozpustí v ethylacetátu, promyje se dvakrát 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou a získá se 0,80 g surového produktu ve formě bílé pevné látky. Po čištění pomocí velmi rychlé chromatografie za eluce směsí methanolu a dichlormethanu (1/99 až 2/98 %) se získá 380 mg (výtěžek 75 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteriochloroform) δ 1,06 (dd, 6H), 1,47 (s, 9H), 1,90-2,32 (m, 5H), 2,24 (s, 6H), 3,653,75 (m, 1H), 3,84-3,92 (m, 1H), 4,36-4,42 (m, 1H), 4,82-4,88 (m, 1H), 5,53-5,61 (m, 1H), 6,77-6,85 (m, 1H), 7,42 (s, 2H). Analytická HPLC (kolona kyano) 17,53 minuty. LC-MS (ES $^+$) $m/e=419,3$ (M+H).

(2-benzyloxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(4-hydroxy-3,5-dimethylbenzoylamino)-3-methylbutyryl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (64)

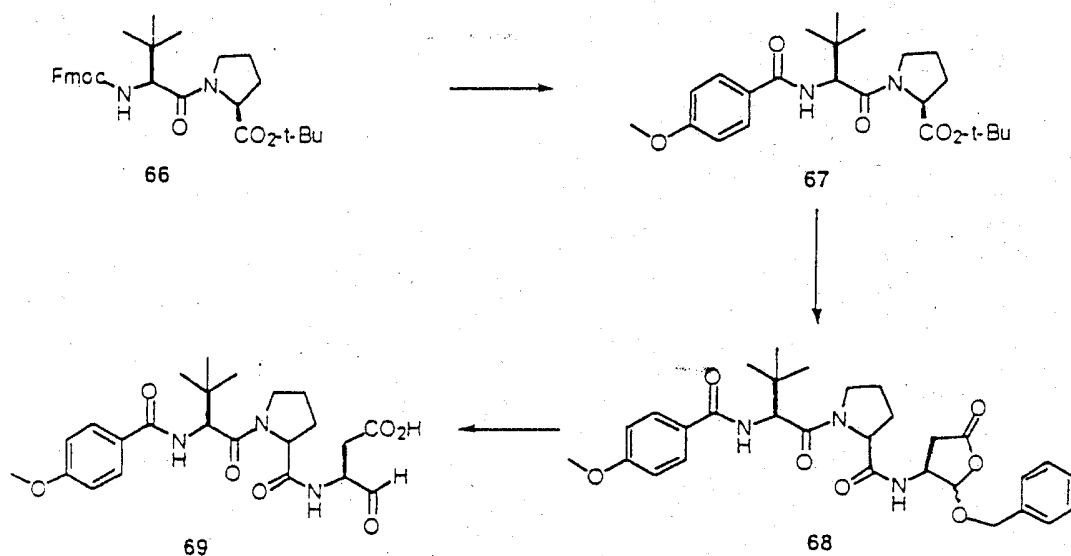
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 63 a sloučeniny 40 pomocí způsobu použitého pro přípravu sloučeniny 56 a získá se 352 mg (72 %) sloučeniny uvedené v názvu (64) ve formě světle žluté pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 0,83-1,28 (m,

6H), 1,66-2,37 (m, 3H), 2,23 (s, 6H), 2,48-2,54 (m, 0,2H), 2,61 (ddd, 0,8H), 2,72 (ddd, 0,9H), 3,01-3,09 (m, 1H), 3,66-3,76 (m, 1H), 3,95-4,07 (m, 1H), 4,484,73 (m, 3H), 4,75-4,92 (m, 1H), 5,45-5,48 (m, 0,1H), 5,61-5,64 (m, 0,1H), 5,64-5,70 (m, 0,8H), 7,21-7,62 (m, 6H), 7,88-8,04 (m, 1H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 17,73 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e= 552,3 (M+H).

3-({1-[2-(4-Hydroxy-3,5-dimethylbenzoylamino)-3-methylbutyryl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (65)

160mg (0,29 mmol) vzorek sloučeniny 64 se hydrolyzuje podle způsobu A (viz. schéma XXIII) a získá se 13,1 mg (výtěžek 10 %) sloučeniny uvedené v názvu: Analytická HPLC (kolona kyano) 10,28 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=462,2 (M+H).

Schéma XIV



terc.butylester 1-[2-(2-9H-fluoren-9-yl-acetylamino)-3,3-dimethylbutyryl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (66)

K roztoku 1,033 g (6,0 mmol), II schéma 5) H-pro-OtBu (53) v 20 ml dichlormethanu a 5 ml dimethylformamidu se přidá 2,337 g (6,60 mmol, I, schéma 5) Fmoc-tLeu-OH, 1,63 g (12,1 mmol) HOBT a 2,30 g (12,0 mmol) EDC a roztok se míchá při teplotě míst-

nosti v dusíkové atmosféře 18 hodin. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a zbytek se rozpustí v ethylacetátu, potom se promyje dvakrát 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou. Organická vrstva se suší nad bezvodým síranem sodným a odpaří se za získání 3,65 g světle žluté pevné látky. Po čištění pomocí velmi rychlé chromatografie na silikagelu za eluce směsí ethylacetátu a hexanu (10/90 až 20/80) se získá 2,25 g (výtěžek 74 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteriochloroform) δ 1,09 (s, 9H), 1,47 (s, 9H), 1,79-2,28 (m, 3H), 3,62-3,72 (m, 1H), 3,76-3,83 (m, 1H), 4,18-4,43 (m, 4H), 5,48-5,67 (m, 1H), 7,28-7,44 (m, 4H), 7,55-7,64 (m, 2H), 7,72-7,82 (m, 2H). Analytická HPLC (kolona kyano) 11,95 minuty. LC-MS (ES $^+$) $m/e=507,3$ (M+H).

terc.butylester 1-[2-(4-methoxybenzoylamino)-3,3-dimethylbutyryl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (67)

K roztoku 0,503 g (0,99 mmol) sloučeniny 66 v 8 ml dimethylformamidu se přidá 2,5 ml diethylaminu a roztok se míchá 1 hodinu při teplotě místnosti a rozpouštědlo se odpaří. Zbytek se třikrát odpaří z dichlormethanu. Získaný olej se rozpustí v 9 ml dichlormethanu a přidá se 260 μl (1,49 mmol) DIEA a 190 mg (1,05 mmol) 4-methoxybenzoylchloridu. Roztok se míchá 18 hodin v dusíkové atmosféře a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Zbytek se rozpustí v ethylacetátu a dvakrát se promyje 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou a potom se suší nad bezvodým síranem sodným a odpaří se za získání 0,529 g bílé pevné látky. Po čištění pomocí velmi rychlé chromatografie na silikagelu za použití směsi methanolu a dichlormethanu (1/99 až 2/98 %) jako eluentu se získá 2,25 g (74 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{HNMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,01 (s, 1,4H),

1,11 (s, 7,6H), 1,73-2,25 (m, 4H), 2,47-2,77 (m, 1H), 2,81 (dd, 0,7H), 2,91-3,11 (m, 0,3H), 3,61-4,03 (m, 3H), 3,84 (s, 3H), 4,29-4,49 (m, 1H), 4,49-5,00 (m, 5H), 5,46 (s, 0,15H), 5,58-5,73 (m, 0,85H), 6,94-7,04 (m, 2H), 7,27-7,41 (m, 4H), 7,61-7,73 (m, 1H), 7,74-7,84 (m, 2H). Analytická HPLC (kolona kyano) 13,10 minuty.

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(4-methoxybenzoylamino)-3,3-dimethylbutyryl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (68)

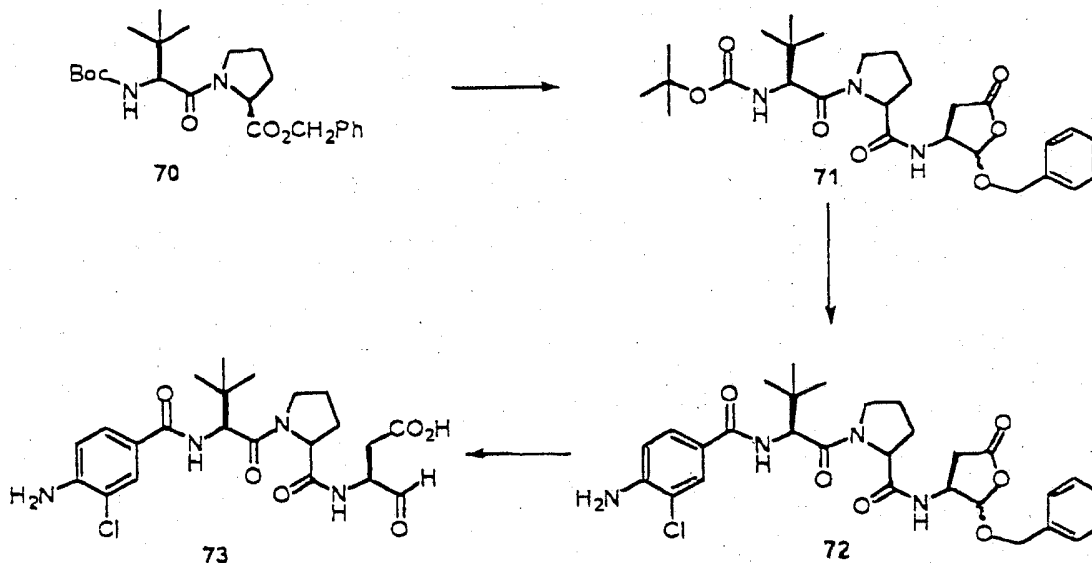
K roztoku 0,90 g (1,74 mmol) sloučeniny 67 v 25 ml dichlormethanu se přidá 2,1 ml (18,0 mmol) 2,6-lutidinu a 2,3 ml (11,9 mmol) TMS-triflátu a reakční směs se míchá 1,5 hodiny při teplotě místnosti v dusíkové atmosféře. Získaná směs se zředí dichlormethanem, dvakrát se promyje 10% roztokem hydrogenuhlčitanu sodného a solankou a suší se nad bezvodým síranem sodným, filtruje se a odpaří se. Zbytek se rozpustí v dichlormethanu, potom se reaguje s 0,6 ml (3,5 mmol) DIEA a 0,355 g (2,09 mmol) 4-methoxybenzoylchloridu a nechá se v dusíkové atmosféře, při teplotě místnosti míchat 18 hodin. Surový produkt se čistí pomocí velmi rychlé chromatografie za eluce směsí dichlormethanu a methanolu 99/1 za získání 274 mg (výtěžek 28 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,01 (s, 1,4H), 1,11 (s, 7,6H), 1,73-2,25 (m, 4H), 2,47-2,77 (m, 1H), 2,81 (dd, 0,7H), 2,91-3,11 (m, 0,3H), 3,61-4,03 (m, 3H), 3,84 (s, 3H), 4,29-4,49 (m, 1H), 4,49-5,00 (m, 5H), 5,46 (s, 0,15H), 5,58-5,73 (m, 0,85H), 6,94-7,04 (m, 2H), 7,27-7,41 (m, 4H), 7,61-7,73 (m, 1H), 7,74-7,84 (m, 2H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 17,03, 17,39 minuty. LC-MS (ES+) $m/e=552,3$ (M+H).

3-({1-[2-(4-Methoxybenzoylamino)-3,3-dimethylbutyryl]pyrroli-

din-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (69)

117mg (0,21 mmol) vzorek sloučeniny 68 se hydrolyzuje podle způsobu C (viz. schéma XXIII) a získá se 40 mg (výtěžek 41 %) sloučeniny uvedené v názvu: Analytická HPLC 7,16 min. LC-MS (ES⁺) m/e=462,3 (M+H).

Schéma XV



benzylester 1-(2-terc.butoxykarbonylamino-3,3-dimethyl-butyl)pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (70)

K supenzi 2,00 g (8,66 mmol) H-pro-OBzl·HCl v 20 ml dichlormethanu se přidá 2,25 ml (12,92 mmol) DIEA za vzniku bezbarvého roztoku. Přidá se 1,95 g (9,52 mmol) Boc-tLeu-OH, 1,76 g (13,03 mmol) HOBT a 2,49 g (12,95 mmol) EDC a roztok se míchá v dusíkové atmosféře při teplotě místnosti 18 hodin. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu, zbytek se rozpustí v ethylacetátu a promyje se vodou, dvakrát 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou. Organická fáze se suší nad bezvodým síranem sodným a odpaří se za získání 3,57 g (výtěžek 99 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500MHz, deuterochloroform) δ 0,99 (s, 9H), 1,40 (s, 9H), 1,88-2,33 (m, 4H), 3,58-3,90 (m, 2H), 4,21-4,35 (d, 1H), 4,53-4,66 (m, 1H), 5,04-5,38 (m, 3H), 7,14-7,42 (m,

5H). LC-MS (ES⁺) m/e=419,4 (M+H).

terc.butylester {1-[2-(2-benzyloxy-5-oxo-tetrahydro-furan-3-ylkarbamoyl)-pyrrolidin-1-karbonyl]-2,2-dimethyl-propyl}karbamové kyseliny (71)

871mg (2,08 mmol) vzorek sloučeniny 70 se rozpustí v 15 ml methanolu a přidá se 200 mg 10% palladia na uhlí. Suspenze se míchá 1 hodinu ve vodíkové atmosféře, potom se filtruje přes křemelinu a rozpouštědlo se odpaří. Získaný zbytek se reaguje se sloučeninou 40 podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 56 za získání 889 mg (výtěžek 71 %) sloučeniny uvedené v názvu 71. ¹H-NMR (500MHz, deuteriochloroform) δ 0,93 (s, 9H), 1,44 (s, 9H), 1,78-2,18 (m, 4H), 2,29-2,49 (m, 2H), 2,76-3,04 (m, 1H), 3,50-3,70 (m, 1H), 3,70-3,85 (m, 1H), 4,20-4,37 (m, 1H), 4,49-4,78 (m, 3H), 4,78-4,98 (m, 1H), 5,12-5,26 (m, 1H), 5,40-5,59 (m, 1H), 7,10-7,78 (m, 5H). Analytická HPLC (kolona kyano) 11,17 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=518,3 (M+H).

(2-benzyloxy-5-oxo-tetrahydro-furan-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)-3,3-dimethylbutyryl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (72)

Roztok 456 mg (0,088 mmol) sloučeniny 71 v 20 ml dichlormethanu se reaguje s 5 ml bezvodé kyseliny trifluoroctové, potom se míchá v dusíkové atmosféře při teplotě místnosti 1 hodinu a odpaří se do sucha. Zbytek se třikrát opakovaně odpaří z dichlormethanu, potom se suší ve vakuu. Získaný zbytek se rozpustí v 20 ml dichlormethanu, ochladí se na 0 °C, potom se reaguje s 1,3 ml (8 ekvivalentů, 2,46 mmol) DIEA, potom se 202 mg (1,17 mmol) 4-amino-3-chlor-benzoové kyseliny, 183 mg (1,35 mmol) HOBT a 279 mg (1,45 mmol) EDC. Získaná směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se 18 hodin. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a zbytek se rozpustí v ethylacetátu, potom

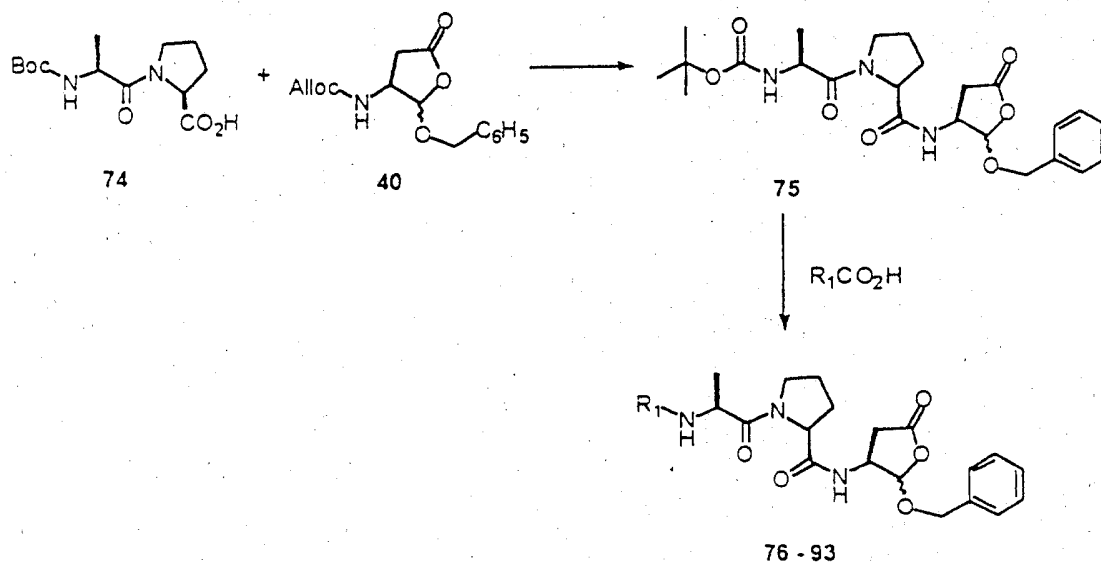
se promyje třikrát destilovanou vodou, dvakrát 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogen-uhličitanu sodného a solankou. Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se do sucha za získání zbytku, který se čistí pomocí velmi rychlé chromatografie za eluce směsí dichlormethanu a methanolu (99/1 až 97/3 %). Získá se 285 mg (výtěžek 57 %) sloučeniny uvedené v názvu (72) ve formě žluté pevné látky.

$^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 0,91-1,24 (m, 9H), 1,70-2,27 (m, 4H), 2,47-2,85 (m, 1,5H), 2,99-3,13 (m, 0,5H), 3,39-3,53 (m, 0,5H), 3,60-3,78 (m, 1,5H), 3,85-4,04 (m, 1H), 4,24-4,47 (m, 2H), 4,53-4,97 (m, 4H), 5,46 (s, 0,3H), 3,88-4,02 (m, 0,1H), 5,60-5,69 (m, 0,6H), 6,80 (d, 1H), 7,22-7,77 (m, 7H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 15,90, 16,23 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=571,2 (M+H).

3-({1-[2-(4-Amino-3-chlorbenzoylamino)-3,3-dimethylbutyryl]-pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (73)

40mg (0,07 mmol) vzorek sloučeniny 72 se hydrolyzuje podle způsobu A (viz. schéma XXIII) a získá se 25 mg (výtěžek 74 %) sloučeniny uvedené v názvu: Analytická HPLC (kolona kyano) 10,66 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=481,3 (M+H).

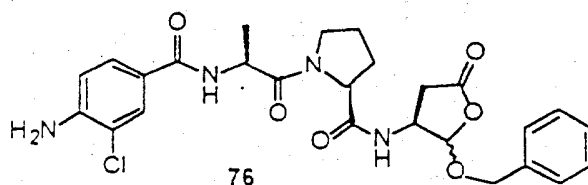
Schéma XVI



terc.butylester {2-[2-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl-karbamoyl)-pyrrolidin-1-yl]-1-methyl-2-oxo-ethyl}karbamové kyseliny (75)

K roztoku 6,69 g (23,0 mmol) sloučeniny 40 v bezvodém dichlormethanu se přidá 3,97 g (25,4 mmol) 1,3-dimethylbarbiturové kyseliny (DMBA) a 1,12 g (0,97 mmol) $Pd(PPh_3)_4$. Roztok se míchá 15 minut při teplotě místnosti v dusíkové atmosféře, ochladí se na 0 °C, potom se přidá 5,087 g (17,8 mmol) Boc-ala-pro-OH (BaChem), 3,60 g (26,7 mmol) HOBt a 5,12 g (26,7 mmol) EDC. Získaný roztok se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se 18 hodin v dusíkové atmosféře. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a zbytek se rozpustí v ethylacetátu, potom se dvakrát promyje 0,5N roztokem kyseliny sírové sodné, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a solankou. Organická vrstva se suší nad bezvodým síranem sodným a odpaří se za získání 12,23 g oranžového oleje. Po čištění pomocí velmi rychlé chromatografie na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a ethylacetátu (80/20 až 60/40) jako eluentu se získá 7,28 g (výtěžek 86 %) sloučeniny uvedené v názvu (75) ve formě žluté pevné látky. ^1H NMR (500MHz, deuteromethanol) δ 1,19-1,31 (m,

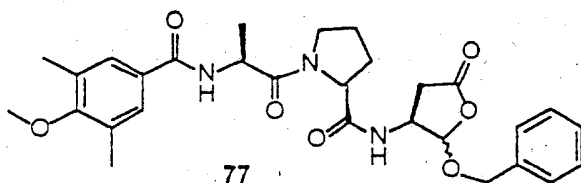
3H), 1,42 (s, 9H), 1,69-2,29 (m, 4H), 2,45-2,67 (m, 0,9H), 2,71-2,86 (m, 0,5H), 2,99-3,10 (m, 0,6H), 3,49-3,84 (m, 2H), 4,244,45 (m, 2,5H), 4,57-4,73 (m, 1,5H), 4,76-4,92 (m, 1H), 5,45 (s, 0,45H), 5,63-5,68 (m, 0,55H), 7,25-7,40 (m, 5H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 15,99, 16,33 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=476,3 (M+H).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(4-amino-3-chlorobenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (76)

1,899g (3,99 mmol) vzorek sloučeniny 75 v 20 ml dichlormethanu se reaguje s 5 ml bezvodé kyseliny trifluoroctové, potom se míchá 1 hodinu v dusíkové atmosféře při teplotě místnosti a odpaří se do sucha. Zbytek se třikrát opakovaně odpaří z dichlormethanu a potom se suší ve vakuu. Získaný zbytek se rozpustí ve 20 ml dichlormethanu, ochladí se na 0 °C, potom se reaguje s 5,6 ml (8 ekvivalentů, 32,1 mmol) DIEA, 0,910 g (5,3 mmol) 4-amino-3-chlorbenzoové kyseliny, 0,824 g (6,1 mmol) HOBt a 1,197 g (6,23 mmol) EDC. Získaná směs se ohřeje na teplotu místnosti a míchá se 18 hodin. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a zbytek se rozpustí v ethylacetátu, potom se promyje třikrát destilovanou vodou, dvakrát 0,5N roztokem hydrogen-síranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou. Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se za získání zbytku, který se čistí pomocí velmi rychlé chromatografie za použití směsi dichlormethanu a methanolu (99/1 až 97/3) jako eluentu. Získá se 1,221 g (výtěžek 58 %) sloučeniny uvedené vnázvu ve formě bílé pevné látky. ¹H-NMR (500MHz, deuteriochloroform) δ 1,15

(d, 0,25H), 1,29-1,60 (m, 2,75H), 2,41-2,54 (m, 0,5H), 2,55-2,70 (m, 0,5H), 2,77 (dd, 0,5H), 3,03 (ddd, 0,5H), 3,59-3,75 (m, 1H), 3,75-3,98 (m, 1H), 4,26-5,01 (m, 5H), 5,41-5,57 (m, 1H), 5,60-5,76 (m, 0,5H), 6,706,92 (m, 0,5H), 7,15-7,48 (m, 5H), 7,48-7,68 (m, 1H), 7,68-7,88 (m, 1H), 8,15-8,34 (m, 1H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 14,44, 14,89 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=529,3 (M+H).



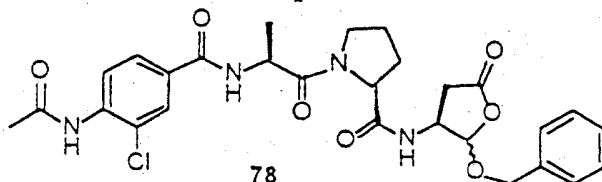
(2-benzyloxy-5-oxo-tetrahydro-furan-3-yl)amid 1-[2-(4-methoxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (77)

Sloučenina se syntetizuje ze sloučeniny 75 a 3,5-dimethyl-4-methoxybenzoové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 1,18 g (44 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500MHz, deuteromethanol) δ 1,40 (m, 3H), 1,67-2,41 (m, 4H), 2,28 (s, 6H), 2,48 (ddd, 0,5H), 2,62 (dd, 0,5H), 2,78 (ddd, 0,5H), 3,04 (ddd, 0,5H), 3,62-3,94 (m, 3H), 3,71 (s, 3H), 4,21-4,51 (m, 2H), 4,59-4,85 (m, 4H), 5,46 (s, 0,25H), 5,52 (s, 0,25H), 5,63 (d, 0,4H), 5,67 (d, 0,1H), 7,17-7,45 (m, 5H), 7,45-7,65 (m, 2H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 15,06, 15,39 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=538 (M+H)

Příprava 4-acetylamino-3-chlorbenzoové kyseliny

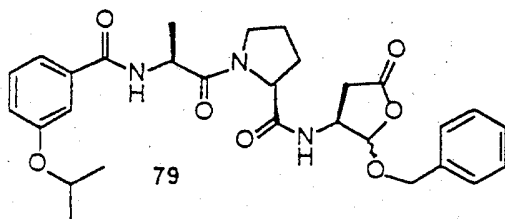
K roztoku 4-amino-3-chlorbenzoové kyseliny (10,0 g, 58,3 mmol) ve 100 ml bezvodého tetrahydrofuranu se přidá 20,7 ml (291,1 mmol) acetylchloridu a roztok se míchá při teplotě místnosti

48 hodin. Rozpouštědlo se odpaří a produkt se sráží z hexanu, odfiltruje se a získá se 11,73 g (výtěžek 94 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 2,28 (s, 3H), 7,92 (dd, 1H), 7,99-8,16 (m, 2H). Analytická HPLC (kolona kyano) 7,84 min.



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydro-furan-3-yl)amid 1-[2-(4-acetyl-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (78)

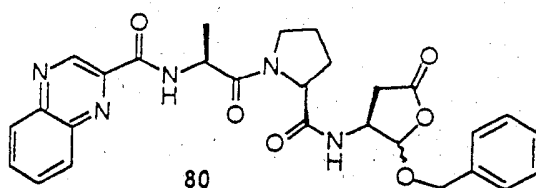
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a 4-acetylamino-3-chlorbenzoové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 146 mg (výtěžek 19 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,28-1,52 (m, 3H), 1,68-2,38 (m, 4H), 2,20 (s, 3H), 2,41-2,88 (m, 1,5H), 2,96-3,10 (m, 0,5H), 2,96-3,10 (m, 0,5H), 3,43-3,75 (m, 1H), 3,80-3,96 (m, 1H), 4,25-5,00 (m, 2H), 5,42-5,54 (m, 0,5H), 5,63-5,78 (m, 0,5H), 7,13-7,48 (m, 0,5H), 7,79-8,14 (m, 2,5H), 8,56-8,70 (m, 0,5H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 8,64 min. LC-MS (ES⁺) $m/e=571,2$ (M+H).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydro-furan-3-yl)amid 1-[2-(3-isopropoxybenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (79)

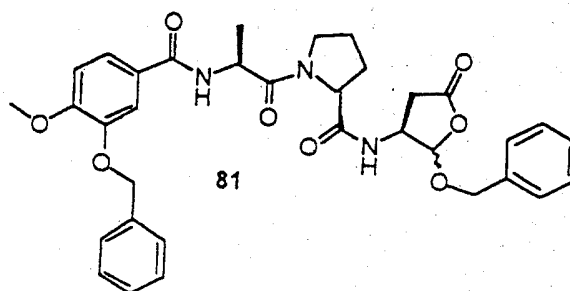
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a 3-isopropoxybenzoové

kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 120 mg (výtěžek 58 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,27 (d, 6H), 1,33-1,52 (m, 3H), 1,69-2,31 (m, 4H), 2,49 (dd, 0,3H), 2,63 (dd, 0,7H), 2,78 (dd, 0,7H), 3,03 (dd, 0,3H), 3,43-3,73 (m, 1H), 3,78-3,94 (m, 1H), 4,274,47 (m, 2H), 4,47-4,87 (m, 4H), 5,47 (s, 0,7H), 5,53 (d, 0,3H), 5,64 (d, 0,8H), 5,72 (d, 0,2H), 6,98-7,12 (m, 1H), 7,19-7,47 (m, 9H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 14,54, 14,85 minuty. LC-MS (ES^+) $m/e=538$ ($\text{M}+\text{H}$).



{2-[2-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-ylkarbamoyl)pyrrolidin-1-yl]-1-methyl-2-oxoethyl}amid chinoxalin-2-karboxylové kyseliny (80)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a 2-chinoxalinkarboxylové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 122 mg (výtěžek 60 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,12-1,67 (m, 3H), 1,68-2,34 (m, 4H), 2,35-2,70 (m, 0,85H), 2,70-2,95 (m, 0,75H), 3,06 (dd, 0,4H), 3,41-3,49 (m, 2H), 4,18-5,03 (m, 6H), 5,47 (d, 0,5H), 5,55 (d, 2H), 5,67 (dd, 1H), 5,71 (dd, 0,3H), 7,037,53 (m, 5H), 7,80-8,06 (m, 2H), 8,06-8,34 (m, 2H), 9,43-9,48 (m, 1H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 9,06 minuty. LC-MS (ES^+) $m/e=532,3$ ($\text{M}+\text{H}$).



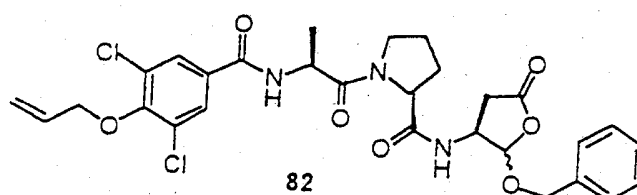
(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(3-benzyloxy-4-methoxybenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (81)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a 3-benzyloxy-4-methoxybenzoové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 142 mg (výtěžek 58 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,14 (d, 0,3H), 1,27-1,52 (m, 2,7H), 1,66-2,30 (m, 4H), 2,47 (dd, 0,4H), 2,59 (dd, 0,6H), 2,77 (dd, 0,6H), 3,02 (dd, 0,4H), 3,41-3,72 (m, 1H), 3,72-3,99 (m, 2H), 3,86 (s, 3H), 4,19-4,86 (m, 5H), 4,99-5,15 (m, 2H), 5,45 (m, 0,8H), 5,65 (m, 1,2H), 6,98 (dd, 1H), 7,11-7,63 (m, 12H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 12,28, 12,44 minuty. LC-MS (ES $^+$) m/e=616,3 (M+H).

4-Allyloxy-3,5-dimethylbenzoová kyselina

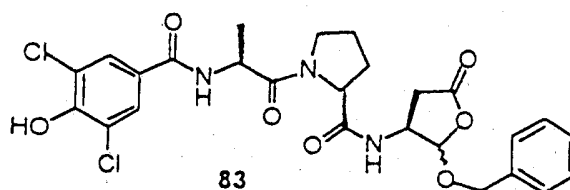
Směs 3,32 g (20 mmol) 4-hydroxy-3,5-dimethylbenzoové kyseliny, 7,26 g (60 mmol) allylbromidu, 455 mg (2 mmol) benzyltriethylamoniumchloridu a 6,9 g (50 mmol) uhličitanu draselného v 50 ml dimethylformamidu se míchá 16 hodin při teplotě místnosti. Směs se zředí 200 ml ethylacetátu, promyje se vodou a solankou. Organická vrstva se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se ve vakuu za získání 5,3 g esteru ve formě oleje. Ester se zahřívá k varu pod zpětným chladičem s 5 g (125 mmol) hydroxidu sodného ve směsi vody a methanolu (50 ml/50 ml) 6 hodin. Směs se odpaří ve vakuu, čímž se odstraní methanol a

získaný roztok se zředí 200 ml vody, promyje se směsí ethylacetátu a hexanu (30 ml/70 ml). Vodná vrstva se při 0 °C okyselí pomocí koncentrovaného roztoku kyseliny chlorovodíkové na pH 2. Získaná sraženina se odfiltruje a promyje se vodou, suší se za vysokého vakua a získá se 3,86 g (výtěžek 94 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500 MHz, deuteriochloroform): δ 2,33 (s, 6H), 4,35-4,37 (m, 2H), 5,28-5,30 (m, H), 5,42-5,46 (m, H), 6,07-6,15 (m, H), 7,79 (s, 2H); retenční čas při analytické HPLC: 11,28 minuty; LC-MS: m/z = 205 (M-H⁺).



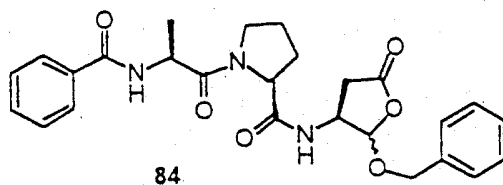
(2-benzyloxy-5-oxotetrahydro-furan-3-yl)-amid 1-[2-(4-allyloxy-3,5-dichlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (82)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a 4-allyloxy-3,5-dichlorbenzoové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 208 mg (47 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500MHz, deuteriochloroform) δ 1,05-1,58 (m, 3H), 1,68-3,21 (m, 7H), 3,39-3,90 (m, 3H), 4,05-5,01 (m, 6H), 5,22-5,62 (m, 3H), 6,04-6,25 (m, 1H), 6,94-7,63 (m, 8H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 9,69, 9,89 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=604,2 (M+H).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(3,5-dichlor-4-hydroxybenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (83)

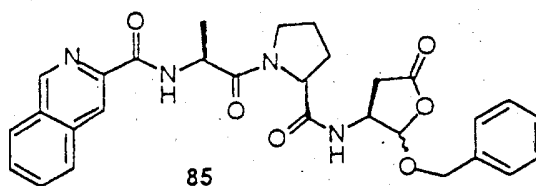
140mg (0,23mmol) vzorek sloučeniny 82 se rozpustí v 4 ml dichlormethanu s reaguje se s 35,4 mg (0,26 mmol) DMBA a 32 mg (0,028 mmol) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$. Roztok se míchá 15 minut při 0 °C, 2 hodiny se zahřívá na teplotu místnosti, potom se zředí dichlormethanem a dvakrát se promyje vodou a solankou. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a zbytek se čistí pomocí velmi rychlé chromatografie na silikagelu za použití směsi methanolu a dichlormethanu (1/99 až 3/97) jako eluentu a získá se 93,2 mg (výtěžek 71 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,16 (d, 0,25H), 1,28-1,49 (m, 2,75H), 1,63-2,33 (m, 4H), 2,48 (dd, 0,4H), 3,39-3,59 (m, 0,2H), 3,60-3,73 (m, 0,8H), 3,73-3,96 (m, 1H), 4,24-4,48 (m, 2H), 4,57-4,92 (m, 7H), 5,44 (s, 0,4H), 5,50 (d, 0,4H), 5,64 (d, 0,8H), 5,75 (d, 0,5H), 7,16-7,43 (m, 5H), 7,78-7,89 (m, 1,6H), 8,40-8,63 (m, 0,4H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 11,57, 11,82 minuty. LC-MS (ES^+) $m/e=564,1$ ($\text{M}+\text{H}$)



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-(2-benzoylamionpropionyl)pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (84)

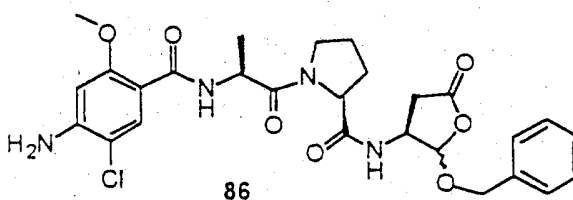
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a benzoylchloridu podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 8 mg (výtěžek 38 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bezbarvého oleje. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,35-1,54 (m, 3H), 1,72-2,30 (m, 4H), 2,42-2,70 (m, 1,3H), 2,74-2,84 (m, 0,5H), 3,03 (dd, 0,2H), 3,41-3,75 (m, 2H), 3,81-3,96 (m, 1H), 4,22-4,86 (m, 4H), 5,46 (s, 0,3H), 5,51-5,54 (m, 0,1H), 5,66 (d, 0,5H), 5,72 (d, 0,1H), 7,20-7,57 (m, 7H), 7,72-7,89 (m,

2H), 8,42-8,67 (m, 1H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 15,23, 15,67 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=481,2 (M+H)



{2-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-ylkarbamoyl)pyrrolidin-1-yl}-1-methyl-2-oxoethyl}amid isochinolin-1-karboxylové kyseliny (85)

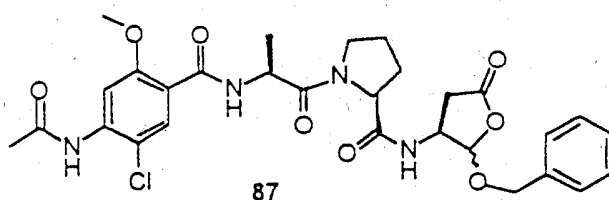
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a 1-isochinolinkarboxylové kyseliny podle postupu popsaneho pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 732 mg (výtěžek 53) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500MHz, deuteromethanol) δ 1,22-1,56 (m, 3H), 1,70-2,34 (m, 4H), 2,43-2,7 (m, 0,9H), 2,73-2,89 (m, 0,5H), 3,06 (ddd, 0,6H), 3,42-3,81 (m, 2H), 3,84-4,01 (m, 1H), 4,29-5,00 (m, 5H), 5,47 (d, 0,65H), 5,55 (s, 0,3H), 5,67 (d, 0,8H), 5,72 (d, 0,25H), 7,21-7,43 (m, 5H), 7,49-7,83 (m, 2,8H), 7,88-8,04 (m, 1,8H), 8,45-8,54 (m, 0,8H), 8,97-9,06 (m, 0,6H). Analytická HPLC (směs 2 diastereomerů) 15,71, 16,04 minuty. LC-MS (ES⁺) m/e=531,2 (M+H).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(4-Amino-5-chlor-2-methoxybenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (86)

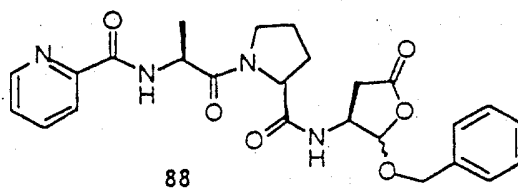
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a 4-amino-5-chlor-2-methoxybenzoové kyseliny podle postupu popsaneho pro přípravu

sloučeniny 76. Získá se 330 mg (výtěžek 61 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,22 (d, 0,25H), 1,29-1,50 (m, 0,75H), 1,682,36 (m, 4H), 2,38-2,89 (m, 1,5H), 2,94-3,14 (m, 0,5H), 3,37-3,98 (m, 6H), 4,27-4,98 (m, 6H), 5,44-5,50 (m, 0,4H), 5,53-5,56 (s, 0,1H), 5,60-5,75 (m, 0,5H), 6,50 (s, 1H), 7,17-7,45 (m, 4H), 7,73-7,90 (m, 1H), 8,49-8,70 (m, 1H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 16,39, 16,82 minuty. LC-MS (ES $^+$) m/e = 559,2 (M+H).



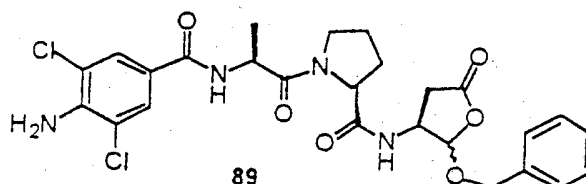
(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetylamino-5-chlor-2-methoxybenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (87)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a 4-acetylamino-5-chlor-2-methoxybenzoové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 364 mg (výtěžek 74 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,20-1,27 (m, 0,25), 1,35-1,49 (m, 0,75H), 1,72-2,30 (m, 4H), 2,23 (s, 3H), 2,42-2,58 (m, 0,6H), 2,59-2,68 (m, 0,5H), 2,73-2,86 (m, 0,7H), 2,993,11 (m, 0,7H), 3,41-4,07 (m, 5H), 4,29-4,97 (m, 5H), 4,79-5,56 (m, 0,5H), 5,65-5,73 (m, 0,5H), 7,18-7,44 (m, 4,3H), 7,90-8,09 (m, 2H), 8,71-8,85 (m, 0,7H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 15,61, 16,01 minuty. LC-MS (ES $^+$) m/e = 601,1 (M+H).



{2-[2-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydro-furan-3-ylkarbamoyl)-pyrrolidin-1-yl]-1-methyl-2-oxoethyl}amid pyridin-2-karboxylové kyseliny (88)

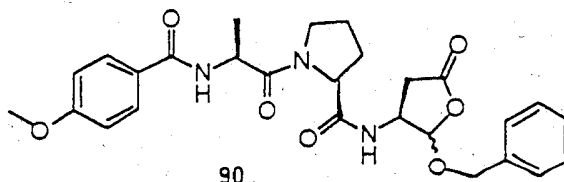
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a pyridin-2-karboxylové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 233 mg (výtěžek 42 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,30-1,59 (m, 3H), 1,68-2,36 (m, 4H), 2,39-2,57 (m, 0,6H), 2,57-2,69 (m, 0,35H), 2,71-2,87 (m, 0,4H), 3,05 (dd, 0,65H), 3,39-3,93 (m, 3H), 4,24-4,99 (m, 5H), 5,49-5,55 (m, 0,8H), 5,63-5,77 (m, 1,2H), 7,17-7,46 (m, 5H), 7,49-7,60 (m, 1H), 7,89-7,99 (m, 1H), 8,03-8,12 (m, 1H), 8,58-8,67 (m, 1H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 8,63 min. LC-MS (ES⁺) $m/e=481,3$ (M+H).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid] 1-[2-(4-amino-3,5-dichlorobenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (89)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a 3,5-dichlor-4-amino-benzoové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 162 mg (70 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,21-1,58 (m, 3H), 1,58-2,37 (m, 4H), 2,37-3,13 (m, 2H), 3,43-3,74 (m, 1,5H), 3,77-

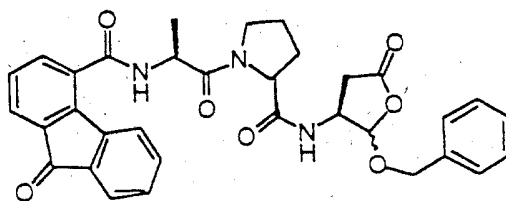
3,94 (m, 1H), 4,28 4,51 (m, 1,5H), 4,50-5,01 (m, 3H), 5,41-5,77 (m, 1H), 7,15-7,49 (m, 5H), 7,66-7,88 (m, 2H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 8,36 min. LCMS (ES⁺) m/e=563,2 (M+H).



90

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(4-methoxybenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (90)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a 4-methoxy-benzoylchloridu podle postupu použitího pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 404 mg (50 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500MHz, deuteromethanol) δ 1,19 (d, 0,3H), 1,29-1,58 (m, 2,7H), 1,58-2,38 (m, 4H), 2,43-2,69 (m, 1H), 2,74-2,86 (m, 0,6H), 2,99-3,11 (m, 0,4H), 3,39-3,75 (m, 1,5H), 3,77-3,94 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 4,29-4,94 (m, 4,5H), 5,45-5,55 (m, 4,5H), 5,635,71 (m, 0,5H), 5,73 (d, 0,1H), 6,85-7,09 (m, 2H), 7,19-7,44 (m, 4H), 7,73-7,92 (m, 2H), 8,26-8,44 (m, 1H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 15,18, 15,65 min. LC-MS (ES⁺) m/e=510,2 (M+H).

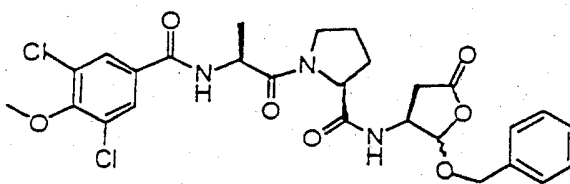


91

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-{2-[(9-oxo-9H-fluoren-4-karbonyl)-amino]propionyl}pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (91)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a 9-oxo-9H-fluoren-

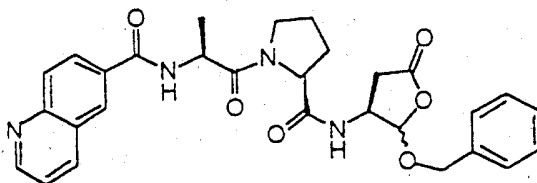
karboxylové kyseliny podél postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 403 mg (44 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuterochloroform) δ 1,38-1,59 (m, 3H), 1,75-2,37 (m, 4H), 2,43-2,59 (m, 0,65H), 2,59-2,72 (m, 0,35H), 2,79-2,89 (m, 0,35H), 3,01-3,11 (m, 0,65H), 3,68-3,86 (m, 1H), 3,92-4,09 (m, 1H), 4,35-5,03 (m, 7H), 5,42-5,90 (m, 1H), 7,06-8,00 (m, 12H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 12,30 min. LC-MS (ES^+) $m/e=582,1$ ($\text{M}+\text{H}$).



92

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(3,5-dichlor-4-methoxybenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (92)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a 3,5-dichlor-4-methoxybenzoové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 364 mg (46 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,17 (d, 0,25H), 1,28-1,53 (m, 2,75H), 1,642,33 (m, 4H), 2,39-2,94 (m, 1,5H), 2,94-3,12 (m, 0,5H), 3,41-3,74 (m, 2H), 3,74-4,00 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 4,26-5,02 (m, 5H), 5,42-5,81 (m, 1H), 7,08 (d, 0,4H), 7,21-7,43 (m, 4,6H), 7,53-7,69 (m, 0,8H), 7,85-7,97 (m, 1,2H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 10,79 min. LC-MS (ES^+) $m/e=578,2$ ($\text{M}+\text{H}$).

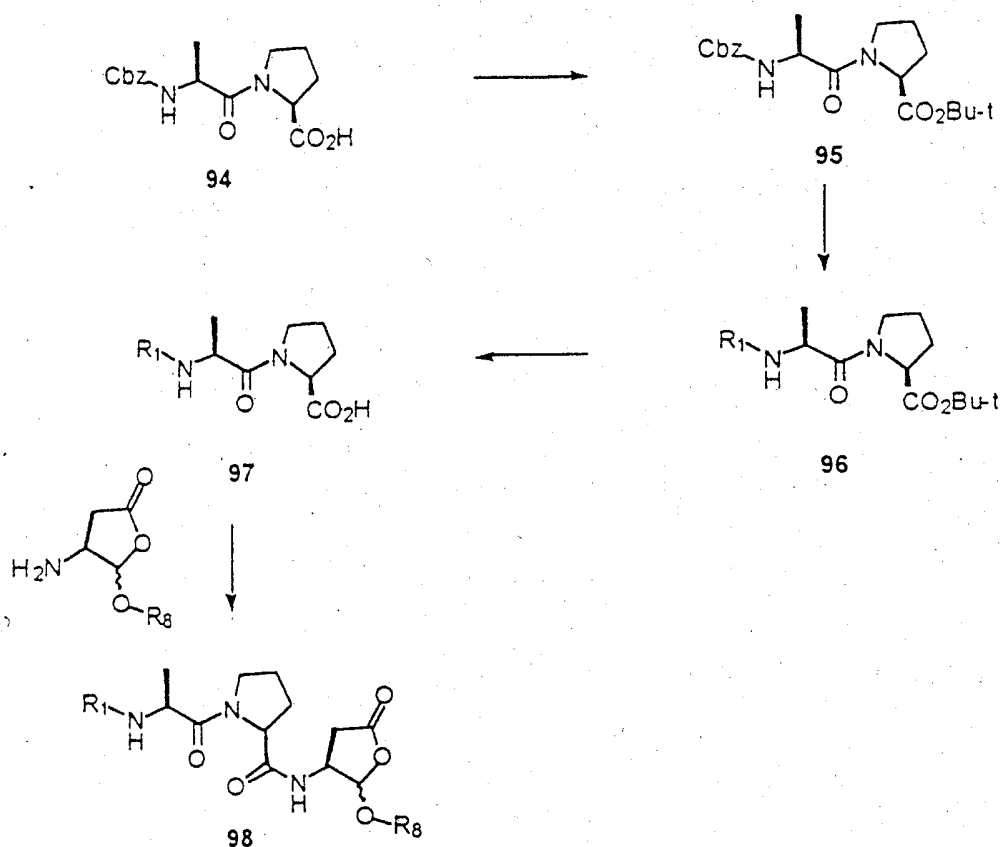


93

{2-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-ylkarbamoyl)-pyrrolidin-1-yl}-1-methyl-2-oxoethyl}amid chinolin-6-karboxylové kyseliny (93)

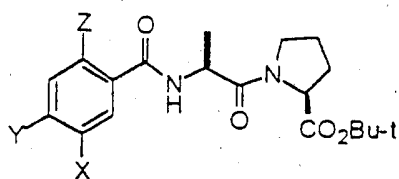
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 75 a 6-chinolinkarboxylové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 76. Získá se 344 mg (71 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,11-1,58 (m, 3H), 1,69-2,40 (m, 4H), 2,42-3,11 (m, 2H), 3,80-4,01 (m, 1H), 4,29-4,99 (m, 5H), 5,445,54 (m, 0,5H), 5,63-5,73 (d, 0,4H), 5,73-5,79 (d, 0,1H), 7,18-7,43 (m, 5H), 7,56-7,67 (m, 1H), 8,08 (d, 1H), 8,13-8,25 (m, 1H), 8,40-8,56 (m, 2H), 8,88-8,99 (m, 1H). Analytická HPLC (kolona kyano) (směs 2 diastereomerů) 10,27, 10,50 min. LC-MS (ES $^+$) $m/e=531,2$ (M+H).

Schéma XVII



terc.butylester 1-(2-benzyloxykarbonylaminopropionyl)pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (95)

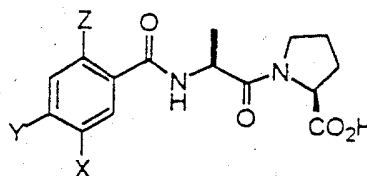
Sloučenina se připraví podle postupu pospaného v Pierre Chevallet, Patrick Garrouste, Barbara Malawaska & Jean Martinez, *Tetrahedron Letters*, Vol. 34, str. 74097412, (1993). Směs 10,0 g (31,2 mmol) Cbz-ala-pro-OH, 180 g (1,31 mol) *terc.*butylbromidu, 7,11 g (31,2 mmol) benzyltriethylamoniumchloridu a 180 g (1,30 mol) uhličitanu draselného a 225 ml *N,N*-dimethylacetamidu (DMA) se míchá 24 hodin při teplotě 55 °C. Reakční směs se ochladí na teplotu místnosti a zředí se 1 litrem ledové vody, extrahuje se třikrát 200 ml ethylacetátu. Organická vrstva se suší nad bezvodým síranem sodným, filtruje se a odpaří se ve vakuu za získání 14 g oleje, který se čistí pomocí velmi rychlé chromatografie za použití směsi hexanu a ethylacetátu 95/5 až 50/50. Získá se 11,73 g (výtěžek 99,7 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě čirého oleje. ¹H-NMR (500 MHz, deuteriochloroform): δ 1,25-1,50 (m, 12 H), 1,85-2,25 (m, 4H), 3,42-3,70 (m, 2H), 4,25-4,57 (m, 2H), 5,07-5,11 (m, 2H), 5,69 (d, H), 7,28-7,38 (m, 5H); retenční čas analytické HPLC: 11,07 min; LC-MS: m/z = 377 (M+H⁺).



96a, X=Cl, Y=NH₂, Z=H

96b, X=Cl, Y=AcNH, Z=H

96c, X=Cl, Y=AcNH, Z=CH₃O



97a, X=Cl, Y=NH₂, Z=H

97b, X=Cl, Y=AcNH, Z=H

97c, X=Cl, Y=AcNH, Z=CH₃O

terc.butylester 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (96a)

K 10,50 g (27,9 mmol) roztoku sloučeniny 95 v 100 ml methanolu se přidá suspenze 5,00 g 10% palladia na uhlí v 50 ml ethylacetátu. Reakční směs se míchá 48 hodin ve vodíkové atmosféře, filtruje se přes křemelinu a rozpouštědlo se odpaří a získá se voskovitá pevná látka. Ta se rozpustí ve 100 ml dichlormethanu a 50 ml dimethylformamidu a roztok se ochladí na 0 °C. Přidá se 5,82 g (27,2 mmol) 4-amino-3-chlorbenzoové kyseliny, 14,58 ml (83,7 mmol) DIEA, 3,77 g (27,9 mmol) HOBT a 6,68 g (34,8 mmol) EDC a roztok se míchá 15 minut při 0 °C, potom 24 hodin při teplotě místnosti. Reakční směs se zředí ethylacetátem, promyje se dvakrát hydrogensíranem sodným, dvakrát 10% roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou, potom se suší nad síranem hořečnatým, filtruje a odpaří. Surový produkt se čistí pomocí velmi rychlé kolonové chromatografie za použití směsi dichlormethanu a methanolu (99/1 až 97/3 %) a získá se 7,75 g (70 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500MHz, deuteromethanol) δ 1,27-1,67 (m, 12H), 1,82-2,14 (m, 4H), 3,48-3,85 (m, 2H), 4,26-4,53 (m, 3H), 4,81-4,98 (m, 1H), 6,71 (d, 1H), 7,15 (m, 1H), 7,50 (dd, 1H), 7,75 (d, 1H). Analytická HPLC 10,83 min. LC-MS (ES⁺) m/e=396,3 (MH⁺).

1-[2-(4-Amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylová kyselina (97a)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 96a reakcí s kyselinou trifluoroctovou v dichlormethanu. Po dokončení reakce se rozpouštědlo odpaří ve vakuu a zbytek se opakovaně odpaří z toluenu. Získaný zbytek se suší ve vakuu do konstantní hmotnosti.

terc.butylester 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)-propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (96b)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 95 a 4-acetylamino-3-

chlorbenzoové kyseliny za použití způsobu popsaného pro přípravu sloučeniny 96a. Získá se 9,18 g (77 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,30-1,62 (m, 12H), 1,85-2,16 (m, 3H), 2,16-2,44 (m, 1H), 2,27 (s, 3H), 3,47-3,83 (m, 2H), 4,34-4,54 (m, 1H), 4,8,9 (m, 1H), 7,27-7,39 (m, 1H), 7,59-7,71 (m, 2H), 7,83-7,97 (m, 1H), 8,47 (d, 1H). Analytická HPLC 9,43 min.

1-[2-(4-Acetylmino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylová kyselina (97b)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 96b pomocí reakce s kyselinou trifluoroctovou v dichlormethanu. Po ukončení reakce se rozpouštědlo odpaří ve vakuu a zbytek se opakovaně odpaří z toluenu. Získaný zbytek se suší ve vakuu do konstantní hmotnosti.

4-Acetylmino-5-chlor-2-methoxybenzoová kyselina

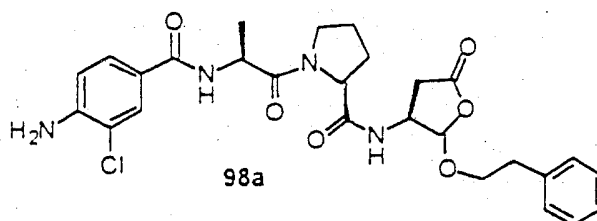
2,09 g (8,11 mmol) methylesteru 4-acetylmino-5-chlor-2-methoxybenzoové kyseliny se rozpustí v 110 ml methanolu a přidá se 25,48 mmol hydroxidu lithného rozpuštěného v 30 ml směsi methanolu a vody 1:1 a roztok se míchá 6 hodin při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu, přidá se ethylacetát a organická fáze se promyje 0,5N roztokem kyseliny chlorovodíkové a potom se dvakrát extrahuje nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného. Vodná fáze se okyselí 12N roztokem kyseliny chlorovodíkové na pH 1 a vyloučená sraženina se extrahuje do dichlormethanu. Spojené extrakty se suší nad bezvodým síranem sodným, filtrují se a odpaří se za získání 0,933 g (výtěžek 50 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteriochloroform) δ 2,31 (s, 3H), 4,10 (s, 3H), 7,78-7,92 (šs, 1H), 8,17 (s, 1H), 8,45 (s, 1H). Analytická HPLC 5,62 min.

terc.butylester 1-[2-(4-acetylamino-5-chlor-2-methoxy-benzoyl-amino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (96c)

K roztoku 1,534 g (4,07 mmol) sloučeniny 95 v 40 ml methanolu se přidá 650 mg 10% palladia na uhlí a směs se míchá 2 hodiny ve vodíkové atmosféře. Suspenze se filtruje přes křemelinu a získá se žlutý olej. Ten se nechá reagovat s 4-acetyl-5-chlor-2-methoxybenzoovou kyselinou podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 96a a získá se 497 mg (výtěžek 52 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,46 (d, 3H), 1,49 (s, 9H), 1,80-2,01 (m, 3H), 2,19-2,40 (m, 1H), 2,22 (s, 3H), 3,58-3,72 (m, 1H), 3,78-3,89 (m, 1H), 3,98-4,09 (s, 3H), 4,31-4,45 (s, 1H), 4,78-4,95 (m, 1H), 7,89-8,10 (m, 2H). Analytická HPLC 11,31 min.

1-[2-(4-Acetylamino-5-chlor-2-methoxybenzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karboxylová kyselina (97c)

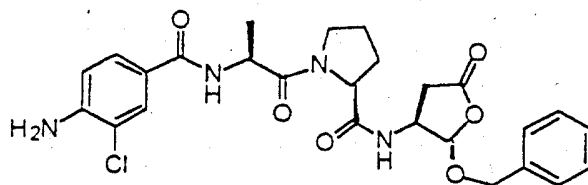
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 96c pomocí reakce s kyselinou trifluoroctovou v dichlormethanu. Po dokončení reakce se rozpouštědlo odpaří ve vakuu a zbytek se opakovaně odpaří z toluenu. Získaný zbytek se suší ve vakuu do konstantní hmotnosti.



(5-oxo-2-fenethyloxytetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98a)

K roztoku 194 mg (0,54 mmol) allylesteru (5-oxo-2-fenethyloxytetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny (připraveného podle

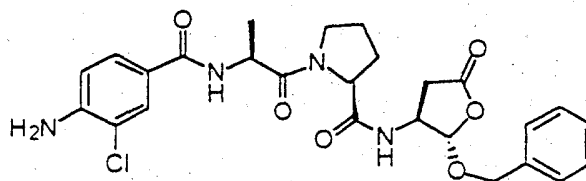
postupu použitého pro přípravu sloučeniny 40 za použití fenethylalkoholu) v 5 ml dichlormethanu se při 0 °C přidá 196 mg (1,26 mmol) DMBA a 32 mg (0,03 mmol) $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$. Roztok se míchá 15 minut a přidá se roztok 166 mg (0,49 mmol) sloučeniny 97a (přípravené ze sloučeniny 96a reakcí s kyselinou trifluor-octovou v dichlormethanu) a 680 μl (3,90 mmol) ve 2 ml dichloremthanu s potom 98 mg (0,73 mmol) HOBT a 122 mg (0,63 mmol) EDC. Roztok se míchá 15 minut při 0 °C, potom 18 hodin při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a zbytek se rozpustí v ethylacetátu a dvakrát se promyje 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a solankou. Suší se nad bezvodým síranem sodný a odpaří za získání oranžové pevné látky, která se čistí pomocí velmi rychlé kolonové chromatografie za použití směsi dichlormethanu a methanolu (99/1 až 97/3 %) jako eluentu a získá se 190 mg (73 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,29 (d, 0,6H), 1,41 (d, 2,4H), 1,78 (m, 1H), 2,08 (m, 3H), 2,56 (m, 1H), 2,77 (dd, 1H), 2,94 (t, 2H), 3,53 (m, 0,3H), 3,67 (m, 0,8H), 3,85 (m, 2H), 3,96-4,08 (m, 1H), 4,40 (m, 2H), 4,62 (m, 1H), 4,67-4,79 (m, 1H), 5,57 (d, 0,7H), 5,60 (d, 0,3H), 6,78 (dd, 1H), 7,21 (m, 5H), 7,58 (m, 1H), 7,79 (m, 1H), 8,26 (d, 1H). Analytická HPLC 14,52 min. LC-MS (ES^+) $m/e=543,2$ (MH^+).



98b

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98b)

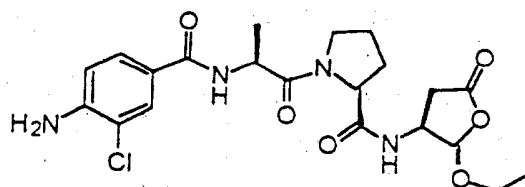
Sloučenina se připraví ze syn diastereomeru allylesteru (2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny (40) a sloučeniny 97a podle způsobu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Izoluje se 720 mg (výtěžek 51 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě světle žluté pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,16 (d, 0,5H), 1,40 (d, 2,5H), 1,64-2,25 (m, 4H), 2,61 (dd, 1H), 2,79 (dd, 1H), 3,37-3,59 (m, 1H), 3,59-3,74 (m, 1H), 3,77-3,92 (m, 1H), 4,29-4,47 (m, 1H), 4,47-5,02 (m, 4H), 5,48 (s, 0,5H), 5,66 (d, 1H), 5,68 (d, 0,5H), 6,79 (d, 1H), 7,17-7,52 (m, 5H), 7,48-7,62 (m, 1H), 7,68-7,83 (m, 1H). Analytická HPLC 15,98 min. LC-MS (ES^+) $m/e=529,2$ (MH^+).



98c

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98c)

Sloučenina se připraví z allylesteru anti-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-karbamové kyseliny (40) a sloučeniny 97a podle způsobu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Izoluje se 186,6 mg (výtěžek 46 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,30-1,52 (m, 3H), 1,76-2,33 (m, 4H), 2,41-2,59 (m, 1H), 2,90 (dd, 0,15H), 3,04 (dd, 0,85H), 3,44-3,75 (m, 1,5H), 3,82-3,95 (m, 1H), 4,27-4,42 (m, 2H), 4,42-4,56 (m, 0,5H), 4,56-4,86 (m, 4H), 5,42-5,55 (m, 1H), 6,79 (d, 1H), 7,21-7,42 (m, 4,6H), 7,54-7,63 (m, 1,4H), 7,76-7,83 (m, 0,65H), 8,60-8,68 (m, 0,35H). Analytická HPLC 15,19 min. LC-MS (ES^+) $m/e=529,3$ (MH^+).



98d

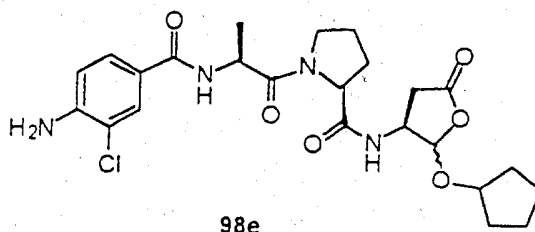
allylester 2-(ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 3-allyloxykarbonyl-amino-4-hydroxybutanové kyseliny tak, jak popsáno pro přípravu sloučeniny 40 za použití ethanolu. Po chromatografii za použití směsi hexanu a ethylacetátu (95/5 až 80/20) se získá 0,94 g allylesteru anti-2-(ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny (vyšší R_f), 1,96 g syn diastereomeru (nižší R_f) a 8,08 g směsi diastereomerů (celkový výtěžek 60 %). ¹H-NMR (500 MHz, deuterochloroform) pro anti diastereomer: δ 1,13-1,31 (m, 3H), 2,31-2,45 (m, 1H), 2,92-3,08 (m, 1H), 3,52-3,72 (m, 1H), 3,78-3,92 (m, 1H), 4,10-4,25 (m, 1H), 4,45-4,70 (m, 2H), 5,00 (šs, 1H), 5,12-5,45 (m, 3H), 5,80-5,95 (m, 1H); pro syn diastereomer 1,13-1,35 (m, 3H), 2,38-2,50 (m, 1H), 2,75-2,92 (m, 1H), 3,60-3,73 (m, 1H), 3,82-3,95 (m, 1H), 4,40-4,70 (m, 3H), 5,10-5,52 (m, 4H), 5,80-5,94 (m, 1H); LC-MS: m/z = 230 (M+H⁺) pro oba diastereomery.

(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98d)

Sloučenina se připraví z allylesteru (2-ethoxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny a sloučeniny 97a podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Izoluje se 175 mg (77 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. ¹H-NMR (500MHz, deuteromethanol) δ 1,13 (t, 0,5H), 1,23 (t, 2,5H), 1,36 (d, 0,5H), 1,44 (d, 2,5H), 1,75-2,38 (m, 4H), 2,56 (dd,

1H), 2,76 (dd, 1H), 3,45-3,97 (m, 5H), 4,47 (dd, 1H), 4,59-4,67 (m, 1H), 4,74 (kv, 1H), 5,55 (d, 0,2H), 5,56 (d, 0,8H), 6,75-6,82 (m, 1H), 7,56 (dd, 1H), 7,77 (d, 1H), 8,39 (d, 1H). Analytická HPLC 8,17 min. LC-MS (ES⁺) m/e=467,4 (MH⁺).



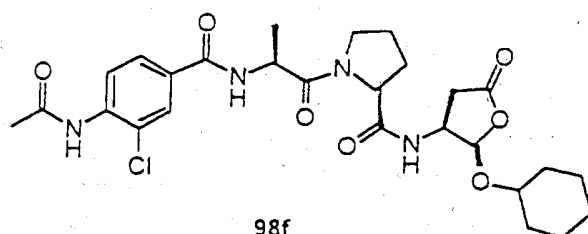
allylester (2-cyklopentyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 3-allyloxykarbonylamino-4-hydroxybutanové kyseliny podle postupu, který je popsán pro přípravu sloučeniny 40 za použití cyklopentanolu. Získá se sloučenina uvedená v názvu ve formě směsi diastereomerů. Po čištění pomocí velmi rychlé kolonové chromatografie za použití směsi hexanu a ethylacetátu (90/10 až 80/20 se získá syn diastereomer sloučeniny uvedené v názvu: syn diastereomer ¹H NMR (500MHz, deuteriochloroform) δ 1,5-2,0 (m, 8H), 2,45 (dd, 1H), 2,81 (dd, 0,9H), 3,0 (dd, 0,1H), 4,31 (m, 1H), 4,59 (m, 4H), 5,23 (m, 1H), 5,32 (m, 1H), 5,45 (s, 0,1H), 5,51 (s, 0,9H), 5,92, (m, 1H) ppm; anti diastereomer ¹H-NMR (500 MHz, deuteriochloroform) δ 1,50 (m, 2H), 1,67 (m, 6H), 2,36 (d, 1H), 2,8 (dd, 0,08H), 2,96 (dd, 0,92H), 4,13 (m, 1H), 4,25 (m, 1H), 4,55 (š, 2H), 5,20 (d, 1H), 5,30 (m, 2H), 5,43 (s, 0,92H), 5,5 (d, 0,08H), 5,89 (s, 1H) ppm.

(2-cyklopentyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98e)

Sloučenina se připraví z allylesteru (2-cyklopentyloxy-5-oxo-

tetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny a sloučeniny 97a podle způsobu použitého pro přípravu sloučeniny 98a a získá se 280 mg (51 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuterio-methanol) δ 1,38 (d, 0,5H), 1,44 (d, 2,5H), 1,49-2,35 (m, 12H), 2,47 (dd, 0,7H), 2,56 (dd, 0,3H), 2,75 (dd, 0,3H), 2,81-2,88 (m, 0,1H), 2,97 (dd, 0,6H), 3,47-3,76 (m, 0,2H), 3,82-3,96 (m, 1H), 4,10-4,40 (m, 2H), 4,40-4,46 (m, 1H), 5,44 (d, 0,5H), 5,50 (d, 0,2H), 5,65 (d, 0,3H), 6,79 (d, 1H), 7,54-7,64 (m, 1H), 7,78 (d, 1H), 8,21-8,31 (m, 1H). Analytická HPLC 15,02, 15,34 min. LC-MS (ES $^+$) m/e=507,3 (MH $^+$)



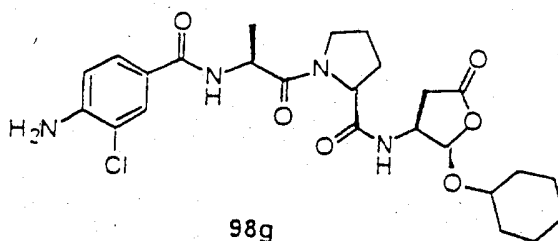
allylester (2-cyklohexyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 3-allyloxykarbonylamino-4-hydroxybutanové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 40 za použití cyklohexanolu. Získá se 4,62 g (výtěžek 85 %) sloučeniny uvedené v názvu jako směsi diastereomerů ve formě světle žlutého oleje. Po čištění pomocí velmi rychlé kolonové chromatografie za použití směsi hexanu a ethylacetátu (90/10 až 80/20) jako eluentu se získá 394 mg (výtěžek 7 %) syn diastereomeru sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteriochloroform) δ 1,11-2,09 (m, 10H), 2,35-2,61 (dd, 1H), 2,72-2,98 (dd, 1H), 3,60-3,83 (m, 1H), 4,32-4,72 (m, 3H), 5,06-5,43 (m, 2H), 5,60 (d, 1H), 5,82-6,03 (m, 1H).

(2-cyklohexyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(4-acylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylo-

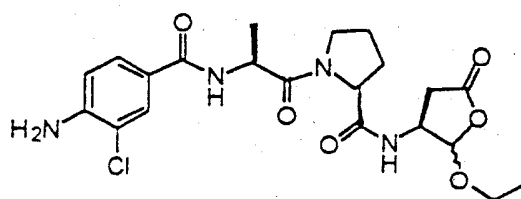
vé kyseliny (98f)

Sloučenina se připraví z allylesteru syn-(2-cyklohexyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny a sloučeniny 97b podle způsobu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 121 mg (výtěžek 33 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,06-1,61 (m, 9H), 1,61-2,37 (m, 7H), 2,22 (s, 3H), 2,52-2,81 (m, 2H), 3,49-3,78 (m, 2H), 3,84-3,97 (m, 1H), 4,42-4,57 (m, 1H), 4,57-4,69 (m, 1H), 5,67-5,81 (m, 1H), 7,727,89 (m, 1H), 7,89-8,12 (m, 2H). Analytická HPLC 9,84 min. LC-MS (ES^+) $m/e=563,3$ (MH^+).



(2-cyklohexyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98g)

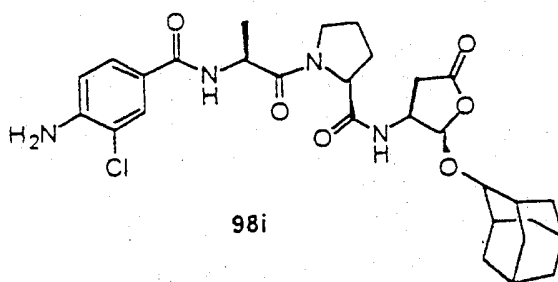
Sloučenina se připraví z allylesteru syn-(2-cyklohexyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny a sloučeniny 97a podle způsobu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 153 mg (výtěžek 47 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteromethanol) δ 1,06-2,38 (m, 14H), 1,42 (d, 3H), 2,50-2,66 (m, 1H), 2,69-2,82 (dd, 1H), 3,06-3,75 (m, 2H), 3,80-3,94 (m, 1H), 4,40-4,52 (m, 1H), 4,57-4,65 (m, 1H), 4,70-4,80 (m, 1H), 5,72 (d, 1H), 6,71 (m, 1H), 7,50-7,63 (m, 1H), 7,78 (d, 0,6H), 8,42 (d, 0,4H). Analytická HPLC 10,30 min. LC-MS (ES^+) $m/e=521,2$ (MH^+).



98h

(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karbamové kyseliny (98h)

Sloučenina se připraví z allylesteru(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny a sloučeniny 97a podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Izoluje se 195 mg (výtěžek 82 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,32-1,55 (m, 3H), 1,58-1,77 (m, 3H), 1,98-2,54 (m, 4H), 2,68-2,76 (d, 0,3H), 2,79-2,89 (m, 0,7H), 2,96-3,10 (m, 0,7H), 3,18-3,27 (dd, 0,3H), 3,72-4,18 (m, 4H), 4,46-5,12 (m, 3H), 5,60 (s, 0,4H), 5,74-5,84 (m, 0,6H), 7,03 (d, 0,8H), 7,75-7,86 (m, 1H), 8,01 (d, 0,7H), 8,35 (d, 0,3H), 8,74 (d, 0,2H). Analytická HPLC 8,31 min. LC-MS (ES $^+$) $m/e=467,3$ (MH $^+$).



98i

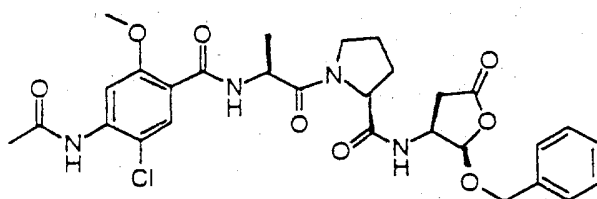
allylester [5-oxo-2-(tricyklo[3,3,1,1 ^{0,0}]dec-2-yloxy)-tetrahydrofuran-3-yl]karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 3-allyloxykarbonylamino-4-hydroxybutanové kyseliny podle postupu popsaného pro

přípravu sloučeniny 40 za použití 6,21 g (5 ekvivalentů) 2--adamantanolu. Získá se 1,52 g (výtěžek 61 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě žlutého oleje. ^1H NMR (500MHz, deuterochloroform) δ 1,38-2,22 (m, 14H), 2,40 (d, 0,2H), 2,53 (dd, 0,7H), 2,87 (dd, 0,7H), 2,87 (dd, 0,8H), 3,00-3,12 (m, 0,3H), 3,84-3,97 (m, 1H), 4,40-4,71 (m, 3H), 5,18-5,44 (m, 2H), 5,53-5,69 (m, 1H), 5,82-6,02 (m, 1H).

[5-oxo-2-(tricyklo[3,3,1, $1^{0,0}$]dec-2-yloxy)-tetrahydrofuran-3-yl]amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98i)

Sloučenina se připraví z allylesteru [5-oxo-2-(tricyklo[3,3,1, $1^{0,0}$]dec-2-yloxy)tetrahydrofuran-3-yl]karbamové kyseliny a sloučeniny 97a podle způsobu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Izoluje se 76 mg (výtěžek 13 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. ^1H -NMR (500MHz, deuteromethanol) δ 1,38-2,22 (m, 14H), 2,40 (d, 0,2H), 2,53 (dd, 0,7H), 2,87 (dd, 0,8H), 3,00-3,12 (m, 0,3H), 3,84-3,97 (m, 1H), 4,40-4,71 (m, 3H), 5,18-5,44 (m, 2H), 5,53-5,69 (m, 1H), 5,82-6,02 (m, 1H). Analytická HPLC. 11,89 min. LC-MS (ES $^+$) m/e= 573,2 (MH $^+$).

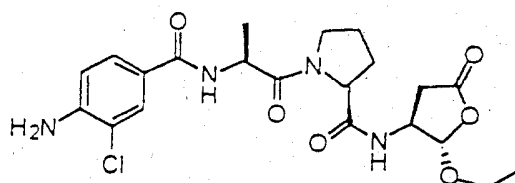


98j

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetylamino-5-chlor-2-methoxybenzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98j)

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru syn-{2-[2-(2-benzyl-oxy-5-oxotetrahydrofuran-3-ylkarbamoyl)pyrrolidin-1-yl]-1-me-

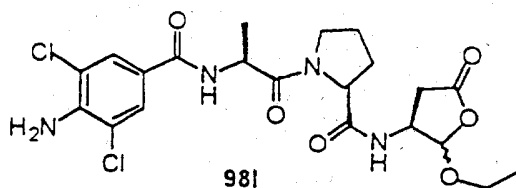
thyl-2-oxoethyl}karbamové kyseliny a sloučeniny 97c podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 222 mg (82 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuterio-methanol) δ 1,23 (d, 0,6H), 1,42 (d, 2,4H), 1,72-2,27 (m, 4H), 2,23 (s, 3H), 2,63 (dd, 1H), 2,77-2,88 (m, 1H), 3,43-3,52 (m, 0,5H), 3,56-3,71 (m, 1,5H), 3,74-, 3,85 (m, 1H), 3,98 (s, 3H), 4,38-4,50 (m, 1,5H), 4,51-4,92 (m, 4,5H), 5,63-5,76 (m, 1H), 7,23-7,40 (m, 5H), 7,97 (s, 1H), 8,45 (d, 1H), 8,69-8,80 (m, 1H). Analytická HPLC 11,63 min. LC-MS (ES^+) $m/e = 601,2$ (MH^+).



98k

Syntéza (2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amidu 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98k)

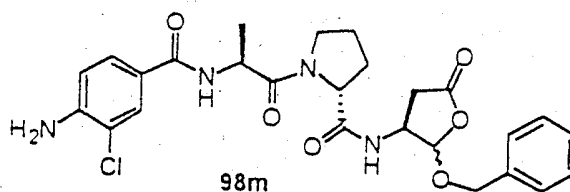
Sloučenina se připraví z allylesteru anti-(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny a sloučeniny 97a podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 175 mg (59 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,10-1,28 (m, 3H), 1,42 (d, 0,6H), 1,46 (d, 2,4H), 1,75-2,45 (m, 4H), 2,45-2,70 (m, 1H), 2,80-3,05 (m, 1H), 3,50-3,95 (m, 4H), 4,20-4,75 (m, 3H), 4,75-4,90 (m, 1H), 5,32 (s, 0,8H), 5,38 (s, 0,2H), 6,80 (d, 1H), 7,55-7,84 (m, 2H). Analytická HPLC: 10,47 min. LC-MS (ES^+): $m/e = 467,3$ ($\text{M}+\text{H}^+$).



98l

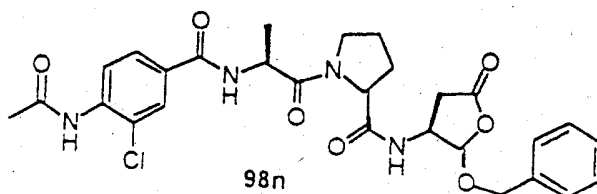
Syntéza (2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amidu 1-[2-(4-amino-3,5-dichlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98l)

Sloučenina se připraví z allylesteru (2-ethoxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny a terc.butyl 1-[2-(4-amino-3,5-dichlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny podle způsobu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 158 mg (výtěžek 54 %) sloučeniny uvedené v názvu. ^1H -NMR (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,08-1,30 (m, 3H), 1,32-1,52 (m, 3H), 1,72-2,44 (m, 4H), 2,40-3,05 (m, 2H), 3,50-3,97 (m, 4H), 4,25-4,70 (m, 3H), 4,70-4,86 (m, 1H), 5,33 (s, 0,4H), 5,47 (s, 0,1H), 5,56 (d, 0,4H), 5,62 (d, 0,1H), 7,50 (s, 1H), 7,80 (s, 1H). Analytická HPLC: 10,84 min. LC-MS (ES $^+$): m/e = 501,2 (M+H $^+$).



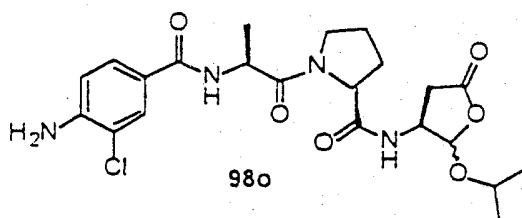
(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98m)

Sloučenina se připraví podle způsobu použitého pro přípravu sloučeniny 98a za použití Cbz-Ala-D-pro-OH. Získá se 230 mg (výtěžek 69 %) sloučeniny uvedené v názvu. ^1H -NMR (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,30 (d, 1,2H), 1,45 (d, 1,8H), 1,62-2,40 (m, 4H), 2,40-3,10 (m, 2H), 3,30-3,97 (m, 2H), 4,33-4,95 (m, 5H), 5,30 (s, 0,5H), 5,68 (d, 0,5H), 6,80 (d, 1H), 7,25-7,95 (m, 7H). Analytická HPLC: 11,56, 11,91 min. LC-MS (ES $^+$): m/e = 529,2 (M+H $^+$).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98n)

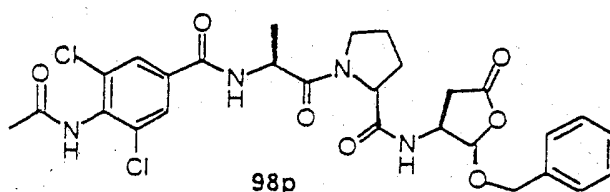
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97b a allylesteru syn-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle způsobu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 210 mg (64 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,33 (d, 0,6H), 1,44 (d, 2,4H), 1,68-2,40 (m, 4H), 2,26 (s, 3H), 2,55-3,05 (m, 2H), 3,40-3,90 (m, 2H), 4,20-4,95 (m, 5H), 5,68 (d, 0,8H), 5,84 (d, 0,2H), 7,15-8,30 (m, 8H). Analytická HPLC: 15,67 min. LC-MS (ES^+): $m/e = 571,1$ ($\text{M}+\text{H}^+$).



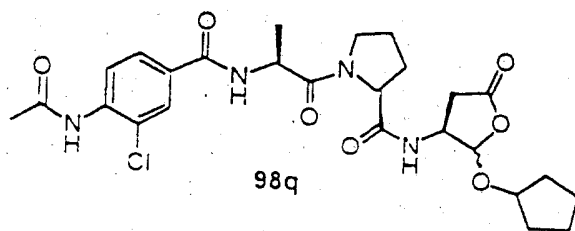
Allylester (2-isopropoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 40 za použití isopropanolu. Získá se 3,80 g (výtěžek 81 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bezbarvého oleje. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform) δ 1,10-1,35 (m, 6H), 2,32-2,60 (m, 1H), 2,82 (dd, 0,5H), 3,02 (dd, 0,5H), 3,82-4,11 (m, 1H), 4,48-4,66 (m, 3H), 5,20-5,36 (m, 2H), 5,54 (dd, 1H), 5,82-6,05 (m, 1H). LC-MS (ES^+): $m/e = 244,2$ ($\text{M}+\text{H}^+$).

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97a a allylesteru (2-isopropoxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 200 mg (výtěžek 66 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,05-1,35 (m, 6H), 1,35-1,50 (m, 3H), 1,70-2,45 (m, 4H), 2,45-3,05 (m, 2H), 3,55-4,10 (m, 3H), 4,15-4,88 (m, 4H), 5,48 (s, 0,4H), 5,58 (s, 0,1H), 5,64 (d, 0,4H), 5,70 (d, 0,1H), 6,78 (d, 1H), 7,58 (d, 1H), 7,80 (s, 1H). Analytická HPLC: 12,19, 12,40 min. LC-MS (ES⁺): m/e = 581,2 (M+H⁺).

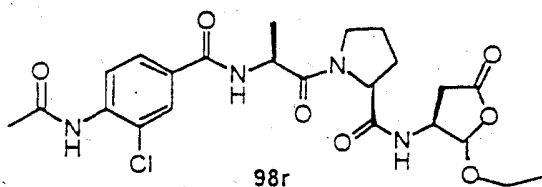


Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 1-[2-(4-acetylamino-3,5-dichlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny a allylesteru syn-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 230 mg (výtěžek 72 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,36 (d, 0,6H), 1,47 (d, 2,4H), 1,68-2,47 (m, 4H), 2,23 (s, 3H), 2,60-3,15 (m, 2H), 3,40-3,90 (m, 2H), 4,15-4,95 (m, 5H), 5,68 (d, 0,8H), 5,84 (d, 0,2H), 7,20-7,98 (m, 7H). Analytická HPLC: 13,07 min. LC-MS (ES⁺): m/e = 605,1

(M+H⁺).

(2-cyklopentyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98q)

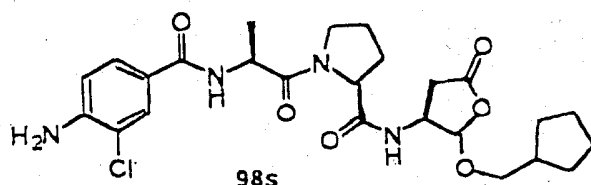
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97b a allylesteru (2-cyklopentyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 215 mg (69 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,35-1,90 (m, 11H), 1,90-2,35 (m, 4H), 2,24 (s, 3H), 2,40-3,10 (m, 2H), 3,50-3,95 (m, 3H), 4,15-4,90 (m, 3H), 5,44 (s, 0,55H), 5,56 (s, 0,15H), 5,64 (d, 0,22H), 5,71 (d, 0,08H), 7,70-8,25 (m, 3H). Analytická HPLC: 12,13 min. LC-MS (ES⁺): m/e = 549,2 (M+H⁺).



Syntéza (2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98r)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97b a allylesteru syn-(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 68 mg (24 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500 MHz, 1:1, deute-

rochloroform:deuteromethanol) δ 1,13 (t, 0,6H), 1,28 (t, 2,4H), 1,38 (d, 0,6H), 1,48 (d, 2,4H), 1,75-2,40 (m, 4H), 2,22 (s, 3H), 2,55-2,88 (m, 2H), 3,50-3,92 (m, 4H), 4,40-4,90 (m, 3H), 5,57 (d, 0,8H), 5,61 (d, 0,2H), 7,60-8,20 (m, 3H). Analytická HPLC: 8,64 min. LC-MS (ES⁺): m/e = 509,2 (M+H⁺).



Příprava allylesteru (2-cyklopentylmethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny

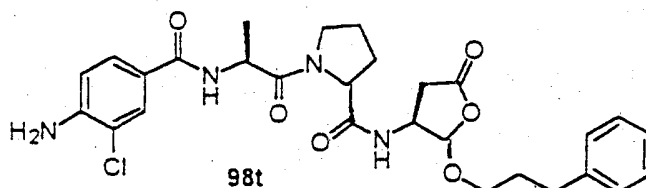
Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 3-allyloxykarbonylamino-4-hydroxy-butanové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 40 za použití 6,5 ml (60 mmol) cyklopentylmethanolu. Získá se 2,98 g (celkový výtěžek 52 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě směsi epimerů. Po čištění se získá 0,97 g (výtěžek 17 %) 4(S),5(R) ve formě bezbarvého oleje. ¹H. NMR (500 MHz, deuteriochloroform) δ 1,19 (m, 2H), 1,54 (m, 4H), 1,71 (m, 2H), 2,16 (m, 1H), 2,44 (dd, J=17,2, 10,4 Hz, 1H), 2,82 (dd, J=17,2, 8,4 Hz, 1H), 3,44 (dd, J=9,3, 7,2 Hz, 1H), 3,71 (dd, J=9,3, 7,2 Hz, 1H), 4,57 (m, 3H), 5,32 (m, 3H), 5,41 (d, J=5,2 Hz, 1H), 5,91 (ddt, J=17,1, 10,4, 5 Hz, 1H) ppm. LC-MS (ES⁺): m/e = 284.

Také se izoluje 0,66 g (výtěžek 11 %) epimerní směsi a 1,35 g (výtěžek 24 %) 4(S),5(S) epimeru ve formě voskovité pevné látky. ¹H-NMR (500 Hz, deuteriochloroform) δ 1,20 (m, 2H), 1,54 (m, 4H), 1,69 (m, 2H), 2,10 (m, 1H), 2,37 (d, J=8,1 Hz, 1H), 2,97 (dd, J=18,0, 7,6 Hz, 1H), 3,42 (dd, J=7,3, 1,7 Hz, 1H), 3,49 (m, 2H), 3,64 (dd, J=9,0, 7,3 Hz, 1H), 4,19 (š, 1H), 4,55 (m, 2H), 5,25 (m, 2H), 5,36 (s, 1H), 5,87 (m, 1H) ppm. LC-MS

(ES⁺): m/e=284 (M+H).

(2-cyklopentylmethoxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98s)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97a a allylesteru syn-(2-cyklopentylmethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 195 mg (výtěžek 51 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform: deuteromethanol) δ 1,15-1,90 (m, 11H), 1,90-2,40 (m, 5H), 2,55-2,78 (m, 2H), 3,50-3,90 (m, 4H), 4,38-4,92 (m, 3H), 5,53 (d, 0,8H), 5,57 (d, 0,2H), 6,78 (d, 1H), 7,50-8,15 (m, 2H). Analytická HPLC: 10,48 min. LC-MS (ES⁺): m/e = 521,2 (M+H⁺).

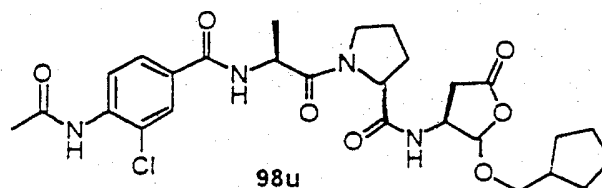


allylester (5-oxo-2-(3-fenylpropoxy)tetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 3-allyloxykarbonylamino-4-hydroxybutanové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 40 za použití 3-fenylpropanolu. Získá se 1,15 g (výtěžek 32 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bezbarvého oleje. ¹H-NMR (500 MHz, deuteriochloroform) δ 1,82-2,05 (m, 2H), 2,38 (dd, 1H), 2,68 (m, 2H), 2,82 (dd, 1H), 3,55-3,65 (m, 1H), 3,82-3,92 (m, 1H), 4,48-4,72 (m, 3H), 5,12-5,59 (m, 3H), 5,82-6,03 (m, 1H), 7,11-7,45 (m, 5H). Analytická HPLC: 9,08 min. LC-MS (ES⁺): m/e = 320,2 (M+H⁺).

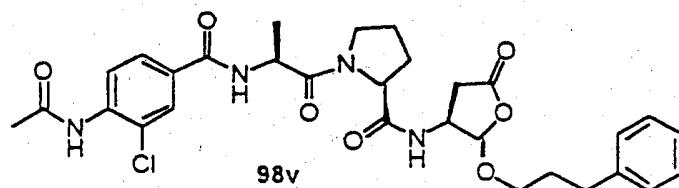
(5-oxo-2-(3-fenylpropoxyl)tetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98t)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97b a allylesteru syn-(5-oxo-2-(3-fenylpropoxy)tetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 200 mg (výtěžek 57 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,34 (d, 0,6H), 1,44 (d, 2,4H), 1,75-2,40 (m, 6H), 2,50-2,95 (m, 4H), 3,47-3,95 (m, 4H), 4,38-4,82 (m, 3H), 5,52 (d, 0,8H), 5,56 (d, 0,2H), 6,75-8,25 (m, 8H). Analytická HPLC: 10,79 min. LC-MS (ES^+): $m/e = 557,2$ ($\text{M}+\text{H}^+$).



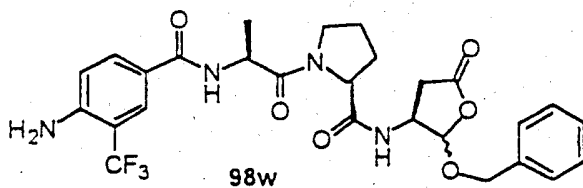
Syntéza (2-cyklopentylmethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amidu 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98u)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97b a allylesteru syn-(2-cyklopentylmethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 215 mg (výtěžek 67 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,38 (d, 0,6H), 1,47 (d, 2,4H), 1,11-1,88 (m, 8H), 1,92-2,40 (m, 5H), 2,24 (s, 3H), 2,53-2,86 (m, 2H), 3,30-3,90 (m, 4H), 4,38-4,89 (m, 3H), 5,53 (d, 0,8H), 5,60 (d, 0,2H), 7,68-8,22 (m, 3H). Analytická HPLC: 9,90 min. LC-MS (ES^+): $m/e = 563,3$ ($\text{M}+\text{H}^+$).



(5-oxo-2-(3-fenylpropoxyl)tetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98v)

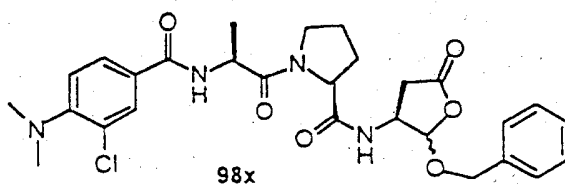
Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny a allylesteru syn-(5-oxo-2-(3-fenylpropoxyl)tetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 238 mg (výtěžek 75 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,33 (d, 0,6H), 1,56 (d, 2,4H), 1,78-2,45 (m, 6H), 2,27 (s, 3H), 2,53-2,97 (m, 4H), 3,53-3,94 (m, 4H), 4,47-4,86 (m, 3H), 5,53 (d, 0,8H), 5,62 (d, 0,2H), 7,11-8,26 (m, 8H). Analytická HPLC: 10,27 min. LC-MS (ES^+): $m/e = 599,2$ ($\text{M}+\text{H}^+$).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-trifluormethylbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98w)

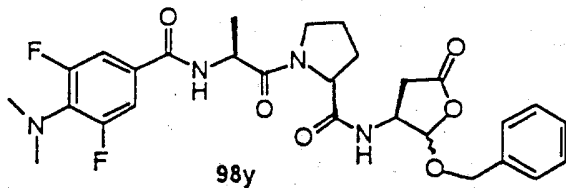
Sloučenina se připraví z terc.butylesteru {2-[2-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-ylkarbmoyl)pyrrolidin-1-yl]-1-methyl-2-oxoethyl}karbamové kyseliny a 4-amino-3-trifluormethylbenzoové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a.

Získá se 56 mg (výtěžek 48 %) sloučeniny uvedené v názvu. ^1H -NMR (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,20-1,55 (m, 3H), 1,75-2,50 (m, 4H), 2,50-3,10 (m, 2H), 3,50-4,00 (m, 2H), 4,30-5,00 (m, 5H), 5,42 (s, 0,4H), 5,51 (s, 0,2H), 5,62 (d, 0,3H), 5,78 (d, 0,1H), 6,84 (d, 1H), 7,20-8,15 (m, 7H). Analytická HPLC: 14,90, 15,20 min. LC-MS (ES^+) : m/e = 563,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).



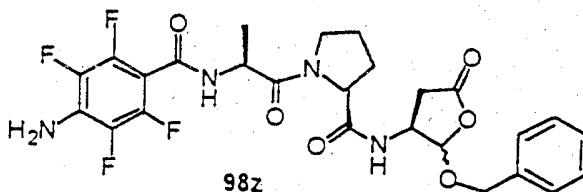
(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(3-chlor-4-dimethylaminobenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98x)

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru {2-[2-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-ylkarbmoyl)pyrrolidin-1-yl]-1-methyl-2-oxoethyl}-karbamové kyseliny a 3-chlor-4-dimethylaminobenzoové kyseliny podle postupu pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 82 mg (výtěžek 44 %) sloučeniny uvedené v názvu. ^1H -NMR (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,181,53 (m, 3H), 1,70-2,40 (m, 4H), 2,55-3,10 (m, 2H), 2,84 (s, 6H), 3,45-3,94 (m, 2H), 4,25-4,95 (m, 5H), 5,46 (s, 0,3H), 5,51 (s, 0,2H), 5,63 (d, 0,4H), 5,73 (d, 0,1H), 7,05 (d, 1H), 7,15-7,95 (m, 7H). Analytická HPLC: 11,85, 12,19 min. LC-MS (ES^+): m/e = 557,3 ($\text{M}+\text{H}^+$).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-dimethyl-amino-3,5-difluorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98y)

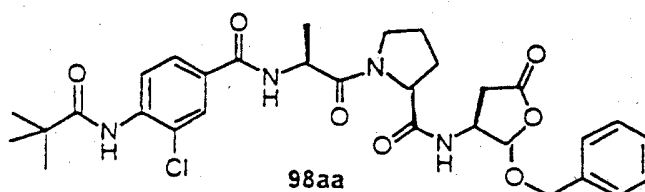
Sloučenina se připraví z terc.butylesteru {2-[2-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-ylkarbmoyl)pyrrolidin-1-yl]-1-methyl-2-oxoethyl}karbamové kyseliny a 4-dimethylamino-3,5-dichlorbenzoové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 106 mg (výtěžek 65 %) sloučeniny uvedené v názvu). $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform: deuteromethanol) δ 1,10-1,55 (m, 3H), 1,75-2,30 (m, 4H), 2,45-3,15 (m, 2H), 2,84 (s, 6H), 3,40-3,95 (m, 2H), 4,15-4,95 (m, 5H), 5,47 (s, 0,35H), 5,54 (s, 0,15H), 5,67 (d, 0,4H), 5,77 (d, 0,1H), 7,20-7,70 (m, 7H). Analytická HPLC: 12,21, 12,51 min. LC-MS (ES^+): $m/e = 559,2$ ($\text{M}+\text{H}^+$).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-2,3,5,6-tetrafluorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98z)

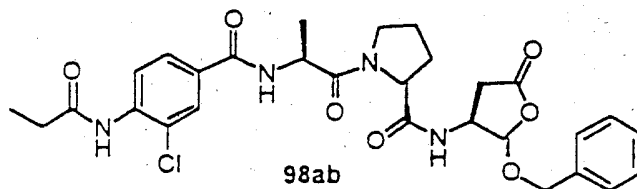
Sloučenina se připraví z terc.butylesteru {2-[2-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-ylkarbmoyl)pyrrolidin-1-yl]-1-methyl-2-oxoethyl}-karbamové kyseliny a 4-amino-2,3,5,6-tetrafluorbenzoové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 58 mg (výtěžek 73 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,30-1,50 (m, 3H), 1,62-2,35 (m, 4H), 2,45-3,12 (m, 2H), 3,50-3,90 (m, 2H), 4,20-4,95 (m, 5H), 5,42 (s, 0,4H), 5,52 (s, 0,1H), 5,64 (d, 0,4H), 5,82 (d, 0,1H), 7,25-7,65 (m, 5H). Analytická

HPLC: 16,56, 16,90 min. LC-MS (ES⁺): m/e = 567,2 (M+H⁺).



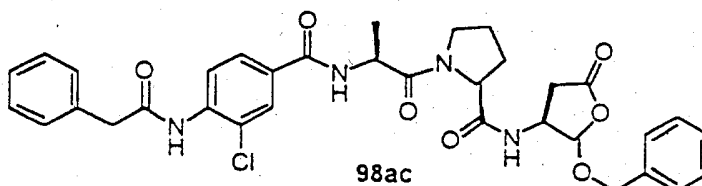
(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-{2-[3-chlor-4-(2,2-dimethylpropionylamino)benzoylamino]propionyl}pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98aa)

K suspenzi 100 mg (0,19 mmol) sloučeniny 98b a 200 mg poly(4-vinylpyridinu) se přidá 70 μ l (0,57 mmol) pivaloylchloridu. Získaná suspenze se míchá přes noc při teplotě místnosti, filtruje se a zředí se 25 ml ethylacetátu. Organická vrstva se promyje dvakrát 25 ml 10% vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného, jednou 25 ml nasyceného roztoku chloridu sodného, suší se nad síranem hořečnatým a odpaří se do sucha a získá se 98 mg (výtěžek 85 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,10-1,55 (m, 3H), 1,38 (s, 9H), 1,65-2,40 (m, 4H), 2,60-3,10 (m, 2H), 3,46-3,88 (m, 2H), 4,20-4,95 (m, 5H), 5,62 (d, 0,8H), 5,78 (d, 0,2H), 7,15-8,30 (m, 8H). Analytická HPLC: 11,82 min. LC-MS (ES⁺): m/e = 613,2 (M+H⁺).



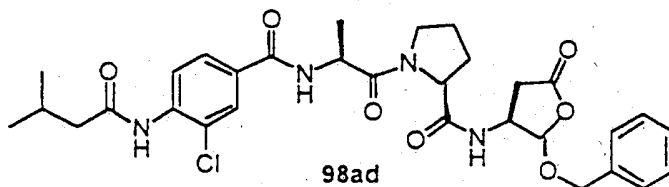
(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(3-chlor-4-propionylamino)benzoylamino]propionylpyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98ab)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 98b a propionylchloridu podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98aa. Získá se 104 mg (95 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,16 (t, 0,6H), 1,18 (d, 0,6H), 1,27 (t, 2,4H), 1,38 (d, 2,4H), 1,72-2,35 (m, 4H), 2,45-2,58 (m, 2H), 2,58-3,05 (m, 2H), 3,45-3,85 (m, 2H), 4,20-4,88 (m, 5H), 5,64 (d, 0,8H), 5,76 (d, 0,2H), 7,20-8,35 (m, 8H). Analytická HPLC: 5,89 min. LC-MS (ES^+): m/e ($\text{M}+\text{H}^+$).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(3-chlor-4-fenylacetyl-amino)benzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98ac)

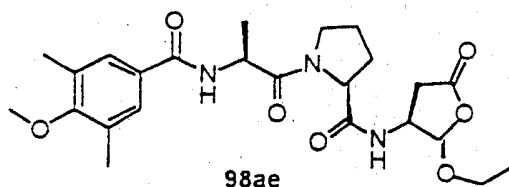
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 98b a fenylacetylchloridu podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98aa. Získá se 85 mg (77 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,18 (d, 0,6H), 1,40 (d, 2,4H), 1,72-2,38 (m, 4H), 2,58-3,05 (m, 2H), 3,46-3,78 (m, 2H), 3,85 (s, 2H), 4,18-4,92 (m, 5H), 5,63 (d, 0,8H), 5,75 (d, 0,2H), 7,15-8,34 (m, 13H). Analytická HPLC: 11,63 min. LC-MS (ES^+): m/e = 647,2 ($\text{M}+\text{H}^+$).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amide 1-[2-(3-chlor-4-methylbutyrylamino)benzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-

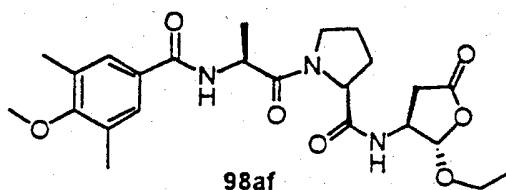
karboxylové kyseliny (98ad)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 98b a isovalerylchloridu podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98aa. Získá se 60 mg (58 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,07 (d, 5H), 1,15 (d, 0,5H), 1,27 (d, 1H), 1,45 (d, 2,2H), 1,67-2,30 (m, 5H), 2,34 (d, 2H), 2,58-3,05 (m, 2H), 3,48-3,88 (m, 2H), 4,10-4,98 (m, 5H), 5,68 (d, 0,7H), 5,78 (m, 0,3H), 7,18-8,33 (m, 8H). Analytická HPLC: 10,74 min. LC-MS (ES^+): $m/e = 613,2$ ($\text{M}+\text{H}^+$).



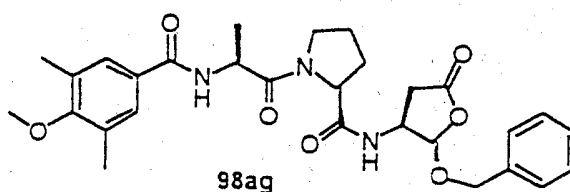
(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-Methoxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98ae)

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 1-[2-(4-methoxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny a allylesteru syn-(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 174 mg (výtěžek 81 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform): 1,04 (t, 0,45H), 1,27 (t, 2,55H), 1,34-1,45 (m, 3H), 1,95-2,45 (m, 10H), 2,78-2,84 (m, H), 3,60-3,90 (m, 8H), 4,50-4,70 (m, 2H), 4,90-4,94 (m, H), 5,45 (d, 0,85H), 5,61 (d, 0,15H), 6,99 (d, H), 7,15 (d, H), 7,45 (s, 2H); retenční čas při analytické HPLC: 10,09 min; LC-MS: $m/z = 476$ ($\text{M}+\text{H}^+$).



(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-methoxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98af)

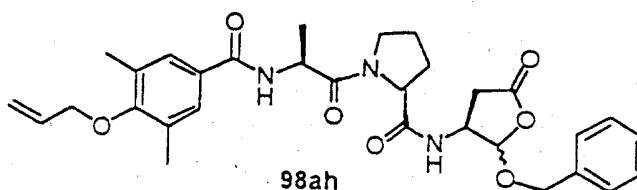
Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 1-[2-(4-methoxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny a allylesteru anti-(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 168 mg (výtěžek 77 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform): δ 1,10-1,35 (m, 3H), 1,35-1,60 (m, 3H), 1,90-2,45 (m, 10H), 2,60-3,00 (m, H), 3,55-3,95 (m, 8H), 4,15-4,60 (m, 2H), 4,83-5,00 (m, H), 5,29 (s, H), 6,95-7,06 (m, H), 7,50 (s, 2H), 7,92 (d, H); retenční čas při analytické HPLC: 10,14 min; LC-MS: $m/z = 476$ ($\text{M}+\text{H}^+$).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-methoxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98ag)

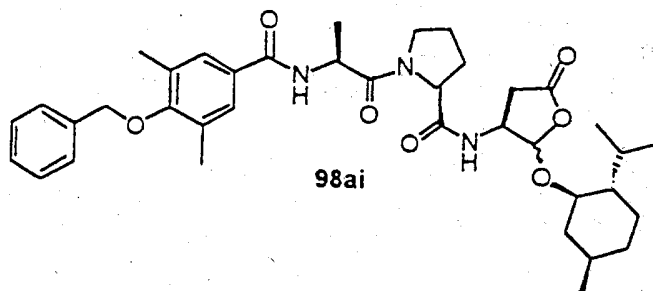
Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 1-[2-(4-methoxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny a allylesteru syn-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu

sloučeniny 98a. Získá se 406 mg (výtěžek 71 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform): δ 1,09 (d, 0,6H), 1,35 (m, 2,4H), 1,90-2,20 (m, 3H), 2,22-2,50 (m, 10H), 2,84-2,90 (m, H), 3,52-3,62 (m, 1,6H), 3,65-3,80 (m, 3,4H), 4,10-4,40 (m, H), 4,50-4,75 (m, 3H), 4,82-4,95 (m, 2H), 5,54 (d, 0,8H), 5,80 (d, 0,2H), 6,87 (d, H), 7,10-7,40 (m, 6H), 7,45 (s, 2H), retenční čas při analytické HPLC: 16,71 min¹; LC-MS: m/z = 538 ($\text{M}+\text{H}^+$).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-allyloxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98ah)

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 1-[2-(4-allyloxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny a sloučeniny 40 podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 264 mg (výtěžek 46 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform): δ 1,09-1,43 (m, 3H), 1,90-2,20 (m, 3H), 2,20-2,38 (m, 7H), 2,38-2,52 (m, H), 2,80-2,95 (m, H), 3,52-3,67 (m, H), 3,70-3,80 (m, H), 4,10-4,40 (m, 2H), 4,40-4,95 (m, 5H), 5,26-5,55 (m, 3H), 6,00-6,14 (m, H), 6,87 (d, H), 7,10-7,70 (m, 8H); retenční čas při analytické HPLC: 18,56 a 18,92 min¹; LC-MS: m/z = 564 ($\text{M}+\text{H}^+$)



allylester {2-[1R-(2S-isopropyl-5R-methylcyklohexyloxy)]-5-oxotetrahydrofuran-3-yl}karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 3-allyloxykarbonylamino-4-hydroxybutanové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 40 za použití (1R,2S,5R)-(-)-mentholu. Získá se 0,32 g syn diastereomeru (nižší R_f) sloučeniny uvedené v názvu a 4,25 g směsi anti/syn diastereomerů (celkový výtěžek 67 %). ¹H-NMR (500 MHz, deuteriochloroform) směr: δ 0,70-1,05 (m, 13H), 1,20-1,47 (m, 2H), 1,60-1,80 (m, 2H), 1,94-2,20 (m, 2H), 2,35-2,50 (m, H), 2,82-3,04 (m, H), 3,40-3,61 (m, H), 4,43-4,70 (m, 3H), 5,15-5,35 (m, 2H), 5,48-5,61 (m, H), 5,90-5,94 (m, H); pro syn diastereomer 0,70-1,05 (m, 13H), 1,20-1,47 (m, 2H), 1,60-1,80 (m, 2H), 1,94-2,18 (m, 2H), 2,40-2,50 (m, H), 2,82-2,92 (m, H), 3,54-3,61 (m, H), 4,45-4,70 (m, 3H), 5,18-5,35 (m, 2H), 5,58-5,61 (m, H), 5,90-5,93 (m, H); LC-MS: m/z = 340 (M+H⁺) pro směr anti/syn diastereomerů.

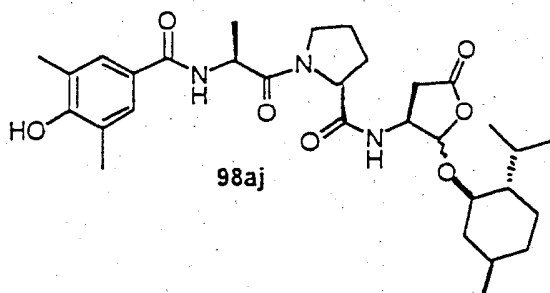
4-Benzylloxy-3,5-dimethylbenzoová kyselina

Sloučenina se připraví podle způsobu popsaného pro přípravu 4-allyloxy-3,5-dimethylbenzoové kyseliny. Získá se 2,43 g (56 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500 MHz, deuteriochloroform): δ 4,87 (s, 2H), 7,36-7,48 (m, 5H), 7,92 (s, 2H); LC-MS: m/z = 255 (M-H⁺).

{2-[1R-(2S-isopropyl-5R-methylcyklohexyloxy)]-5-oxotetrahydrofuran-3-yl}-amid 1-[2-(4-benzylloxy-3,5-dimethylbenzoylamino)-propionyl]-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98ai)

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 1-[2-(4-benzylloxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny a allylesteru {2-[1R-(2S-isopropyl-5R-methylcyklohe-

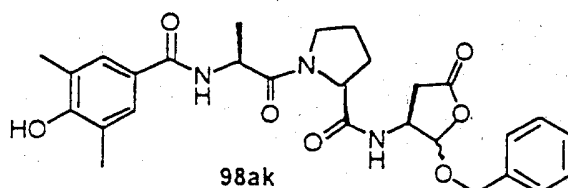
xyloxy)]-5-oxotetrahydrofuran-3-yl}karbamové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 130 mg (výtěžek 39 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform): δ 0,45-1,10 (m, 12H), 1,15-1,90 (m, 8H), 1,90-2,45 (m, 12H), 2,80-2,84 (m, H), 3,50-3,85 (m, 3H), 4,45-4,70 (m, 2H), 4,80-4,95 (m, 3H), 5,62 (d, H), 7,05 (d, H), 7,17 (d, H), 7,30-7,60 (m, 7H), 7,62-7,75 (m, H); retenční čas při analytické HPLC: 15,90 a 16,08 min; LC-MS: m/z = 662 ($\text{M}+\text{H}^+$).



{2-(1R-(2S-isopropyl-5R-methyl-cyklohexyloxy))-5-oxotetrahydrofuran-3-yl}amid 1-[2-(4-hydroxy-3,5-dimethylbenzoylamino)-propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98aj)

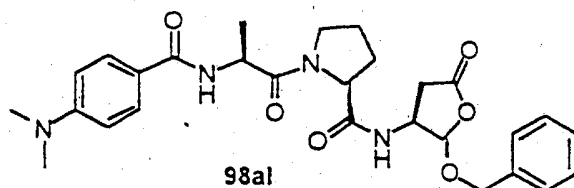
Roztok 110 mg (0,17 mmol) {2-[1R-(2S-isopropyl-5R-methylcyklohexyloxy))-5-oxotetrahydro-furan-3-yl}amidu 1-[2-(4-benzyloxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny ve 2 ml ethylacetátu se míchá s 20 mg 10% palladia na uhlí 24 hodin ve vodíkové atmosféře, potom se filtruje přes křemelinu a odpaří se ve vakuu. Zbytek se čistí pomocí chromatografie za použití směsi dichlormethanu a methanolu (99/1 až 96/4) jako eluentu a získá se 58 mg sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform): δ 0,70--1,00 (m, 10H), 1,20-1,80 (m, 10H), 1,90-2,40 (m, 11H), 2,82-2,86 (m, H), 3,57-3,78 (m, 3H), 4,55-4,67 (m, 2H), 4,90-4,94 (m, H), 5,29 (s, H), 5,62 (d, H), 6,90 (d, H), 7,14 (d, H), 7,42 (s, 2H); retenční čas při analytické HPLC: 12,84 a 13,05

min; LC-MS: $m/z = 572$ ($M+H^+$).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(4-hydroxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98ak)

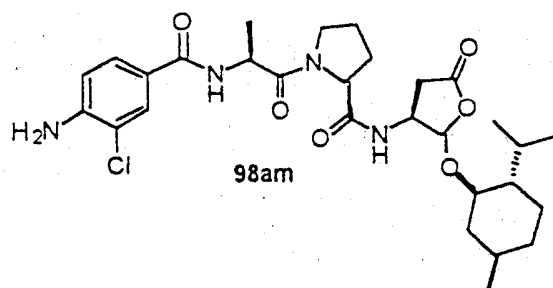
Roztok 230 mg (0,41 mmol) sloučeniny 98ah v 10 ml dichlormethanu se 20 hodin při teplotě místnosti reaguje s 65 mg (0,42 mmol) DMBA a 50 mg $Pd(PPh_3)_4$. Směs se odpaří ve vakuu do sucha a čistí se pomocí velmi rychlé chromatografie za použití směsi dichlormethanu a methanolu (99,5/0,5 až 97/3) jako eluentu. Získá se 181 mg sloučeniny uvedené v názvu. ^1H -NMR (500 MHz, deuterochloroform): δ 1,08 (d, 0,75H), 1,20-1,35 (m, 2,25H), 1,70-2,50 (m, 12H), 2,80-2,90 (m, H), 3,50-3,65 (m, H), 3,70-3,80 (m, H), 4,10-4,25 (m, H), 4,35-4,98 (m, 3H), 5,53 (d, 0,75H), 5,85 (d, 0,25H), 6,81 (d, H), 7,13-7,60 (m, 8H); retenční čas při analytické HPLC: 10,38 a 10,56 min; LC-MS: $m/z = 524$ ($M+H^+$).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-dimethylaminobenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98al)

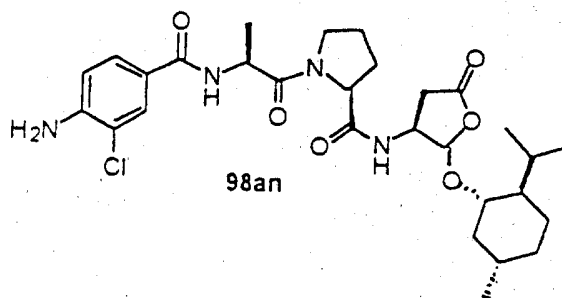
Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 1-[2-(4-dimethylaminobenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny a

allylesteru syn-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 60 mg (výtěžek 45 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform): δ 1,04 (d, 0,75H), 1,35 (d, 2,25H), 1,80-2,50 (m, 5H), 2,75-3,20 (m, 8H), 3,45-3,75 (m, 2H), 4,05-4,20 (m, 0,5H), 4,30-4,80 (m, 3,5H), 4,80-4,95 (m, 1,5H), 5,52 (d, H), 5,75-6,00 (m, 0,5H), 6,60-6,90 (m, 3H), 7,10-7,50 (m, 4H), 7,50-7,80 (m, 2H); retenční čas analytické HPLC: 10,46 min; LC-MS: $m/z = 523$ ($M+H^+$).



{2R-[1R-(2S-isopropyl-5R-methyl-cyklohexyloxy)]-5-oxotetrahydrofuran-3-yl}amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)-propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98am)

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (97a) a allylesteru syn-{2-[1R-(2S-isopropyl-5R-methylcyklohexyloxy)]-5-oxotetrahydrofuran-3-yl}karbamové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 103 mg (67 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform): δ 0,70-1,10 (m, 12H), 1,20-1,50 (m, 5H), 1,50-1,85 (m, 2H), 1,90-2,30 (m, 5H), 2,75-2,85 (m, H), 3,50-3,70 (m, 2H), 3,70-3,82 (m, H), 4,20-4,65 (m, 4H), 4,80-4,95 (m, H), 5,61 (d, H), 6,70-6,73 (m, H), 6,95 (d, H), 7,15 (d, H), 7,49-7,51 (m, H), 7,73 (s, H); retenční čas při analytické HPLC: 12,88 min; LC-MS: $m/z = 577$ ($M+H^+$).



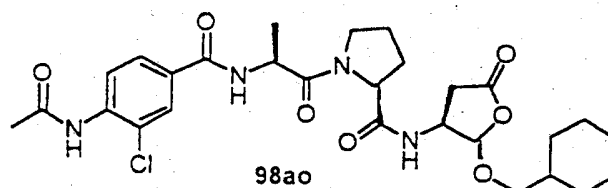
allylester {2-[1S-(2R-isopropyl-5S-methylcyklohexyloxy)]-5-oxotetrahydro-furan-3-yl}karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 3-allyloxykarbonylamino-4-hydroxybutanové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 40 za použití (1S,2R,5S)-(+)-mentholu. Získá se 855 mg anti diastereomeru (vyšší Rf) sloučeniny uvedené v názvu, 503 mg syn diastereomeru (nižší Rf) a 459 mg směsi anti/syn diastereomerů (celkový výtěžek 66 %). ¹H-NMR (500 MHz, deuteriochloroform) anti diastereomer: δ 0,74-1,00 (m, 12H), 1,20-1,45 (m, 2H), 1,58-1,72 (m, 2H), 1,98-2,12 (m, 2H), 2,18-2,40 (m, H), 2,98-3,03 (m, H), 3,49-3,54 (m, H), 4,17 (š, H), 4,59 (š, 2H), 4,97 (š, H), 5,22-5,33 (m, 2H), 5,58 (s, H), 5,87-5,93 (m, H); pro syn diastereomer 0,75-1,02 (m, 12H), 1,25-1,45 (m, 2H), 1,57-1,70 (m, 2H), 2,00-2,16 (m, 2H), 2,40-2,52 (m, H), 2,78-2,90 (m, H), 3,40-3,50 (m, H), 4,58 (š, 2H), 5,24-5,35 (m, 2H), 5,51-5,52 (d, H), 5,85-5,98 (m, H); LC-MS : m/z = 340 (M+H⁺) pro oba diastereomery.

{2R-[1S-(2R-isopropyl-5S-methyl-cyklohexyloxy)]-5-oxotetrahydrofuran-3-yl}amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98an)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97a a allylesteru syn-{2-[1S-(2R-isopropyl-5S-methylcyklohexyloxy)]-5-oxotetrahydrofuran-3-yl}karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 88 mg (výtěžek 50 %) sloučeniny

uvedené v názvu. ^1H -NMR (500 MHz, deuterochloroform): δ 0,70-1,10 (m, 12H), 1,20-1,50 (m, 14H), 1,50-1,70 (š, 2H), 1,90-2,25 (m, 4H), 2,27-2,37 (m, H), 2,40-2,50 (m, H), 2,75-2,79 (m, H), 3,35-3,80 (m, 3H), 4,20-4,57 (m, 3H), 4,60-4,70 (m, H), 4,88-4,92 (m, H), 5,53 (d, H), 6,716,75 (m, H), 6,90 (d, H), 7,20 (d, H), 7,50-7,53 (m, H), 7,75 (d, H); retenční čas při analytické HPLC: 13,20 min; LC-MS: m/z = 577 ($M+H^+$).



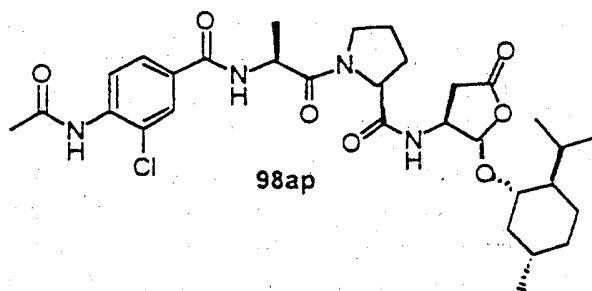
allylester (2-cyklohexylmethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 3-allyloxykarbonylamino-4-hydroxybutanové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 40 za použití cyklohexylmethanolu. Získá se 1,04 g (vyšší R_f) (výtěžek 35 %) anti diastereomeru sloučeniny uvedené v názvu a 1,295 g (nižší R_f) (výtěžek 44 %) syn diastereomeru. ^1H NMR (500 MHz, deuterochloroform) pro anti diastereomer: δ 0,90-0,96 (m, 2H), 1,10-1,30 (m, 3H), 1,55-1,85 (m, 6H), 2,37-2,41 (d, H), 2,97-3,03 (m, H), 3,34-3,38 (m, H), 3,58-3,62 (m, H), 4,55-4,70 (m, 2H), 4,70-4,73 (m, H), 5,03 (šs, H), 5,22-5,37 (m, 3H), 5,87-5,93 (m, H); pro syn diastereomer 0,91-0,97 (m, 2H), 1,10-1,31 (m, 3H), 1,56-1,90 (m, 7H), 2,44-2,48 (m, H), 2,81-2,87 (m, H), 3,35-3,39 (m, H), 3,63-3,67 (m, H), 4,53-4,70 (m, 3H), 5,20-5,50 (m, 3H), 5,89-5,95 (m, H); LC-MS: m/z = 298 ($M+H^+$) pro oba diastereomery.

(2-cyklohexylmethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-

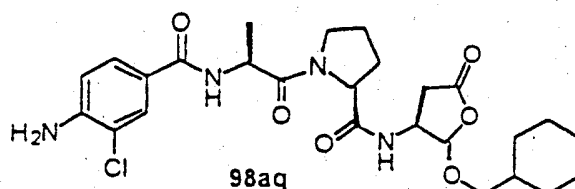
karboxylové kyseliny (98ao)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97b a allylesteru syn-(2-cyklohexylmethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 212 mg (výtěžek 64 %) sloučeniny uvedené v názvu. ^1H NMR (500 MHz, deuteriochloroform): δ 0,70-1,30 (m, 5H), 1,30-1,85 (m, 9H), 1,85-2,60 (m, 8H), 2,75-3,00 (m, H), 3,10-3,80 (m, 4H), 4,30-4,95 (m, 3H), 5,42 (d, 0,85H), 5,62 (d, 0,15H), 6,87 (d, 0,15H), 7,08 (d, 0,85H), 7,25 (d, H), 7,60-7,90 (m, 3H), 8,08 (d, 0,15H), 8,50 (d, 0,85H); retenční čas při analytické HPLC: 11,81 min; LC-MS: m/z = 577 ($M+H^+$).



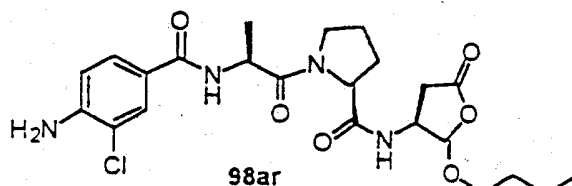
{2R-[1S-(2R-isopropyl-5S-methylcyklohexyloxy)]-5-oxotetrahydrofuran-3-yl}amid 1-[2-(4-acetylamino-3-chlor-benzoylamino)-propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98ap)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97b a allylesteru syn-{2-[1S-(2R-isopropyl-5S-methylcyklohexyloxy)]-5-oxotetrahydrofuran-3-yl}karbamové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 223 mg (výtěžek 63 %) sloučeniny uvedené v názvu. ^1H -NMR (500 MHz, deuteriochloroform): δ 0,70-1,15 (m, 12H), 1,20-1,85 (m, 8H), 1,85-2,60 (m, 9H), 2,74-2,88 (m, H), 3,35-3,85 (m, 3H), 4,40-4,55 (m, H), 4,65-4,78 (m, H), 4,88-4,91 (m, H), 5,53 (d, H), 7,00-7,25 (m, 2H), 7,60-7,90 (m, 3H), 8,50 (d, H); retenční čas při analytické HPLC: 13,31 min; LC-MS: m/z = 619 ($M+H^+$).



(2-cyklohexylmethoxy-5-oxotetrahydro-furan-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98aq)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97a a allylesteru syn-(2-cyklohexylmethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 113 mg (výtěžek 56 %) sloučeniny uvedené v názvu. ^1H NMR (500 MHz, deuteriochloroform): δ 0,70-1,35 (m, 5H), 1,35-1,90 (m, 5H), 1,90-2,20 (m, 3H), 2,30-2,60 (m, H), 2,80-3,00 (m, H), 3,15-3,80 (m, 4H), 4,28-4,75 (m, 4H), 4,89-4,93 (m, H), 5,42 (d, H), 6,74 (d, H), 6,87 (d, H), 7,30 (d, H), 7,51-7,53 (m, H), 7,74 (d, H); retenční čas při analytické HPLC: 12,02 min; LC-MS: $m/z = 535$ ($M+H^+$).



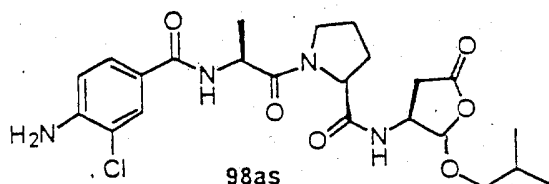
allylester (2-butoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 3-allyloxykarbonylamino-4-hydroxybutanové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 40 za použití n-butanolu. Získá se 878 mg (výtěžek 29 %) sloučeniny uvedené v názvu (313 mg anti diastereomeru, 260 mg syn diastereomeru a 305 mg směsi). ^1H -NMR (500 MHz, deuteriochloroform) pro anti diastereomer: δ (vyšší

Rf) 0,89-0,96 (t, 3H), 1,32-1,40 (m, 2H), 1,54-1,63 (m, 2H), 2,37-2,41 (d, H), 2,98-3,04 (kv, H), 3,55-3,60 (m, H), 3,77-3,82 (m, H), 4,19-4,22 (m, H), 4,58 (š, 2H), 5,03 (š, H), 5,23-5,40 (m, 3H), 5,87-5,93 (m, H), pro syn diastereomer (nižší Rf) 0,91-0,95 (t, 3H), 1,34-1,39 (m, 2H), 1,56-1,63 (m, 2H), 2,42-2,50 (m, H), 2,83-2,87 (m, H), 4,07-4,11 (t, H), 4,45-4,50 (m, 0,5H), 4,51-4,70 (m, 2,5H), 5,23-5,35 (m, 2H), 5,42-5,43 (d, H), 5,80-5,95 (m, H); LC-MS: $m/z = 258$ ($M+H^+$) pro oba diastereomery.

(2-butoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98ar)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97a a allylesteru syn-(2-butoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 118 mg (výtěžek 48 %) sloučeniny uvedené v názvu jako syn diastereomeru. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform): δ 0,80-1,02 (m, 2H), 1,35-1,51 (m, 5H), 1,51-1,70 (m, 2H), 1,90-2,27 (m, 3H), 2,30-2,46 (m, H), 2,80-2,90 (m, H), 3,55-3,94 (m, 4H), 4,30-4,75 (m, 4H), 4,90-5,00 (m, H), 5,44-5,46 (m, H), 6,73-6,80 (m, H), 6,80-6,93 (m, H), 7,16-7,25 (m, H), 7,497,60 (m, H), 7,70-7,84 (m, H); retenční čas pro analytickou HPLC: 9,71 min; LC-MS: $m/z = 495$ ($M+H^+$).

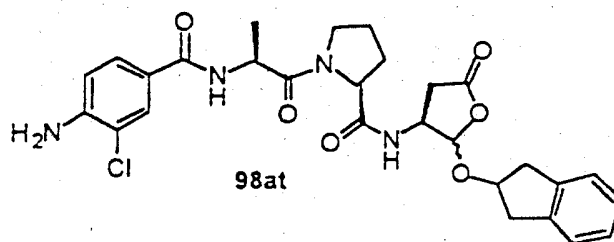


allylester (2-isobutoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 3-allyloxykarbonyl-amino-4-hydroxybutanové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny za použití isobutanolu. Získá se 190 mg (výtěžek 7,3 %) sloučeniny uvedené v názvu jako anti diastereomeru a 290 mg (výtěžek 11 %) syn diastereomeru. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform) pro anti diastereomer: δ (vyšší R_f) 0,85-1,05 (m, 6H), 1,82-1,98 (m, H), 2,37-2,42 (d, H), 2,98-3,04 (m, H), 3,31-3,35 (m, H), 3,55-3,58 (m, H), 4,20-4,30 (t, H), 4,58 (š, 2H), 5,07 (š, H), 5,22-5,43 (m, 3H), 5,845,96 (m, H), pro syn diastereomer (nižší R_f) 0,85-1,05 (m, 6H), 1,88-1,95 (m, H), 2,40-2,51 (m, H), 2,83-2,90 (m, H), 3,33-3,36 (m, H), 3,61-3,65 (m, H), 3,87-3,88 (d, H), 4,40-4,68 (m, 3H), 5,20-5,40 (m, 2H), 5,42-5,43 (d, H), 5,80-5,97 (m, H); LC-MS: m/z = 258 ($M+H^+$) pro oba diastereomery.

(2-isobutoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98as)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97a a allylesteru syn-(2-isobutoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny za použití postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 93 mg (výtěžek 38 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform): δ 0,74-0,76 (t, 0,6H), 0,80-1,00 (m, 5,4H), 1,40-1,50 (m, 3H), 1,90-2,22 (m, 3H), 2,33-2,45 (m, H), 2,80-2,90 (m, H), 3,32-3,38 (m, H), 3,55-3,80 (m, 3H), 4,38 (š, H), 4,50-4,60 (m, H), 4,70-4,80 (m, H), 4,90-5,00 (m, H), 5,42-5,45 (m, H), 6,74-6,76 (d, H), 6,86-6,88 (d, H), 7,31-7,33 (d, H), 7,51-7,53 (m, H), 7,74-7,75 (d, H); retenční čas při analytické HPLC: 9,63 & 9,80 min; LC-MS: m/z = 495 ($M+H^+$).



allylester [2-(indan-2-yl)oxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví z 5,2 g (20 mmol) terc.butylesteru 3-allyloxykarbonylamino-4-hydroxybutanové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny vzorce 40 za použití 8,05 g (60 mmol) 2-indanolu. Získá se 4,10 g (výtěžek 65 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě směsi epimerů. Po čištění se získá 1,76 g (výtěžek 28 %) 4(S),5(R) epimeru ve formě žlutého oleje. ^1H NMR (500 MHz, deuteriochloroform) δ 2,42 (dd, $J=17,2$, 10,5Hz, 1H), 2,79 (dd, $J=17,2$, 8,4Hz, 1H), 2,99 (dd, $J=16,7$, 4,1Hz, 1H), 3,04 (dd, $J=16,7$, 4,1Hz, 1H), 3,22 (dd, $J=17,2$, 6,6Hz, 1H), 3,26 (dd, $J=17,2$, 6,6Hz, 1H), 4,53 (m, 3H), 4,70 (m, 1H), 5,20 (m, 2H), 5,60 (d, $J=5,3\text{Hz}$, 1H), 5,87 (m, 1H), 7,17 (m, 4H) ppm. LC-MS (ES^+): $m/e=318$ ($\text{M}+\text{H}$). Analytická HPLC (kolona C18): 17,094 min.

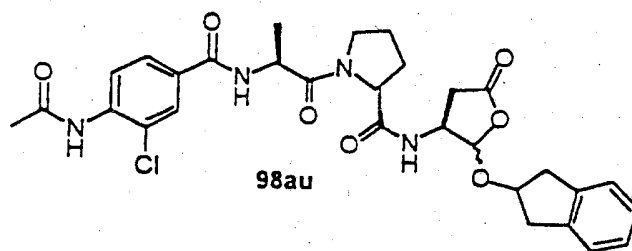
Také se izoluje 0,75 g (výtěžek 12 %) a 1,59 g (25 %) 4(S),5(S) epimeru ve formě bílé pevné látky. ^1H -NMR (500MHz, deuteriochloroform) δ 2,38 (d, $J=17,9\text{Hz}$, 1H), 3,0 (m, 3H), 3,22 (m, 2H), 4,13 (m, 1H), 4,58 (m, 2H), 4,68 (m, 2H), 4,98 (šs, 1H), 5,26 (m, 1H), 5,57 (s, 1H), 5,88 (ddt, $J=18,0$, 11,1, 5,4Hz, 1H), 7,20 (m, 4H) ppm. LC-MS (ES^+): $m/e=318$ ($\text{M}+\text{H}$). Analytická HPLC (kolona C18): 17,025 (5,5 %), 17,325 (94,5 %) min.

[2-(indan-2-yloxy)-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]amid

1-[2-(4-

amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98at)

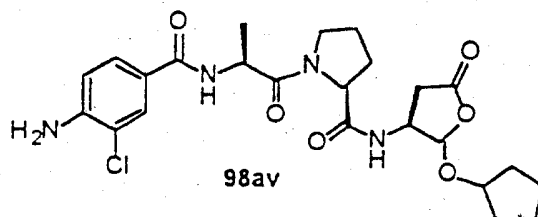
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97a a allylesteru [2-(indanol-2-yl)oxy-5-oxotetrahydro-furan-3-yl]karbamové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 0,20 g (výtěžek 58 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě směsi epimerů 71:29 jako bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform) δ 1,0-1,5 (m, 3H), 1,6-2,3 (m, 4H), 2,42 (m, 1H), 2,6-3,4 (m, 6H), 3,5-4,1 (m, 3H), 4,2-4,9 (m, 4H), 5,65 (d, $J=5,0\text{Hz}$, 0,80H), 5,8 (m, 0,07H), 5,85 (d, $J=5,0\text{Hz}$, 0,13H), 6,8-7,3 (m, 6H), 7,4-7,9 (m, 3H) ppm. Analytická HPLC (kolona C18) 16,035 (71,4 %), 16,476 (28,6 %) min. LC-MS (ES^+): $m/e=555$ ($\text{M}+\text{H}$).



[2-(indan-2-yloxy)-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]amid 1-[2-(4-ace-tylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylo-vé kyseliny (98au)

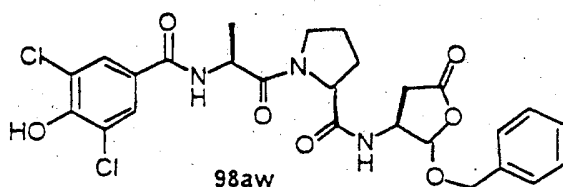
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97b a allylesteru [2-(indanol-2-yl)oxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]karbamové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 0,22 g (výtěžek 57 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě směsi epimerů 76:24 jako bělavé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform) δ 1,08 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 0,4H), 1,26 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 0,6H), 1,35 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 2H), 1,8-2,3 (m, 3H), 2,28 (s, 2H), 2,29 (s, 1H), 2,4 (m, 1H), 2,8 (m, 1H), 3,10 (m,

2H), 3,27 (m, 2H), 3,58 (m, 2H), 3,69 (m, 1H), 4,5-4,9 (m, 4H), 5,65 (d, $J=5,3\text{Hz}$, 0,68H), 5,84 (d, $J=5,3\text{Hz}$, 0,18H), 6,38 (š, 0,14H), 6,9-7,7 (m, 6H), 7,6-7,9 (m, 3H), 8,33 (šd, $J=6,8\text{Hz}$, 0,18H), 8,51 (šd, $J=8,0\text{Hz}$, 0,82H) ppm. Analytická HPLC (kolona C18) 15,596 (76,2 %), 15,932 (23,8 %) min. LC-MS (ES^+): $m/e=597$ ($\text{M}+\text{H}$).



(2-cyklopentyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98av)

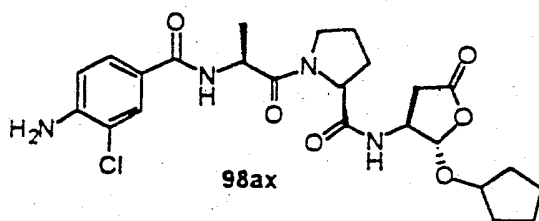
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97a a allylesteru syn-(2-cyklopentyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 0,19 g (výtěžek 59 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bělavé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform) δ 1,2-2,4 (m, 15H), 2,4-3,1 (m, 2H), 3,6-3,9 (m, 2H), 4,2-4,4 (m, 2H), 4,5-5,0 (m, 4H), 5,40 (d, $J=5,0\text{Hz}$, 0,35H), 5,55 (d, $J=5,0\text{Hz}$, 0,65H), 6,8-8,2 (m, 5H) ppm. Analytická HPLC (kolona C18) 14,065 min. LC-MS (ES^+): $m/e=507$ ($\text{M}+\text{H}$).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(3,5-dichlor-4-hydroxybenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové

kyseliny (98aw)

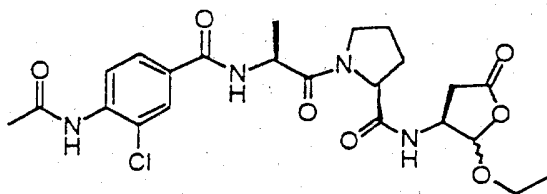
Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 1-[2-(4-allyloxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny a sloučeniny syn-40 podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 1,087 g (výtěžek 64 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě světle žluté pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteriochloroform) δ 1,09 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 0,6H), 1,33 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 2,4H), 1,96 (m, 1H), 2,03 (m, 1H), 2,10 (m, 1H), 2,28 (m, 0,8H), 2,40 (dd, $J=17,3$, 10,2Hz, 0,8H), 2,56 (m, 0,2H), 2,85 (dd, $J=17,3$, 8,5Hz, 0,8H), 3,09 (dd, $J=17,7$, 10,2Hz, 0,2H), 3,57 (m, 1H), 3,73 (dt, $J=9,2$, 7,9Hz, 0,8H), 4,09 (m, 0,2H), 4,21 (d, $J=7,9\text{Hz}$, 0,2H), 4,44 (d, $J=9,5\text{Hz}$, 0,2H), 4,55 (dd, $J=8,0$, 3,0Hz, 0,8H), 4,62 (d, $J=11,6\text{Hz}$, 1H), 4,70 (m, 1H), 4,80 (m, 1H), 4,89 (d, $J=11,6\text{Hz}$, 0,8H), 5,52 (d, $J=5,2\text{Hz}$, 0,8H), 5,82 (d, $J=5,2\text{Hz}$, 0,2H), 6,51 (š, 0,2H), 6,62 (š, 0,8H), 7,0-7,4 (m, 7H), 7,43 (s, 0,4H), 7,66 (d, $J=1,0\text{Hz}$, 1,6H) ppm. Analytická HPLC (kolona C18) 10,135 min. LC-MS (ES^+): $m/e = 564$, 566 (6:4) ($\text{M}+\text{H}$).



(2-cyklopentyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98ax)

Sloučenina se připraví podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny (98av) za použité anti-(2-cyklopentyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amidu. Získá se 0,24 g (výtěžek 74 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bělavé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteriochloroform) δ 1,41 (d, $J=6,5\text{Hz}$, 3H), 1,7 (m,

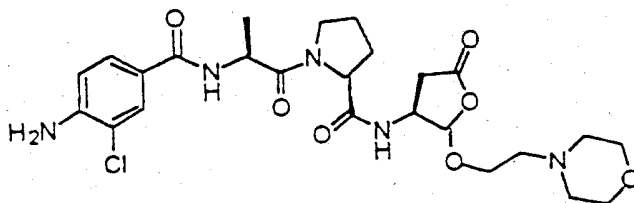
7H), 1,98 (š, 2H), 2,13 (š, 2H), 2,27 (m, 1H), 2,69 (m, 1H), 2,86 (dd, $J=18,0$, 6,8Hz, 0,7H), 2,98 (dd, $J=18,3$, 8,2Hz, 0,3H), 3,60 (š, 1,4H), 3,77 (š, 0,6H), 4,1-4,6 (m, 5H), 4,82 (m, 1H), 5,27 (m, 0,65H), 5,51 (d, $J=5,3$ Hz, 0,05H), 5,59 (šs, 0,3H), 6,76 (š, 1H), 7,00 (š, 1H), 7,49 (š, 1H), 7,74 (š, 1H), 7,89 (š, 1H) ppm. Analytická HPLC (kolona C18) 9,756 min. LC-MS (ES^+): $m/e=507$ ($M+H$).



98ay

(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98ay)

Sloučenina se připraví z allylesteru (2-ethoxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny a sloučeniny 97b podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 51 mg (výtěžek 18 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. ^1H -NMR (500MHz, 1:1 deuteriochloroform:deuteromethanol) δ 1,08-1,35 (m, 3H), 1,35-1,55 (m, 3H), 1,75-2,44 (m, 4H), 2,26 (s, 3H), 2,44-3,07 (m, 2H), 3,48-3,97 (m, 2H), 4,18-4,92 (m, 5H), 5,32 (d, 0,4H), 5,47 (d, 0,1H), 5,58 (d, 0,4H), 5,64 (d, 0,1H), 7,70-8,35 (m, 3H). Analytická HPLC 10,37, 10,54 min. LC-MS (ES^+) $m/e=509,2$ ($M+H^+$).



98az

allylester [2-(2-chlorethoxy)-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]karbamové kyseliny

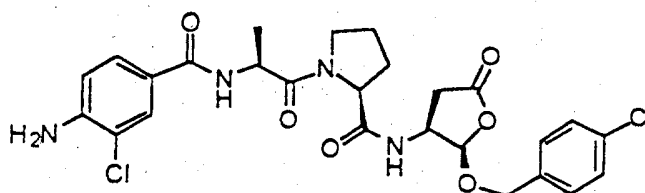
Sloučenina se připraví z 5,2 g (20 mmol) terc.butylesteru 3-allyloxykarbonylamino-4-hydroxybutanové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 40 za použití 4,05 ml (60 mmol) chlorethanolu. Získá se 1,84 g (výtěžek 35 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě směsi epimerů. Pro antidiastereomer: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform) δ 2,42 (dd, $J=18,1\text{Hz}$, 1H), 3,00 (dd, $J=18,1$, 7,8Hz, 1H), 3,63 (m, 2H), 3,85 (m, 1H), 4,02 (m, 1H), 4,23 (m, 1H), 4,57 (šs, 2H), 5,17 (šs, 1H), 5,22 (d, $H=11,5\text{Hz}$, 1H), 5,29 (d, $J=16,8\text{Hz}$, 1H), 5,44 (s, 1H), 5,89 (m, 1H) ppm; LC-MS (ES^+) $m/e=264$ ($\text{M}+\text{H}$). Pro syn-diastereomer: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform) δ 2,47 (dd, $J=17,3$, 10,7Hz, 1H), 2,83 (dd, $J=17,3$, 8,4Hz, 1H), 3,65 (m, 2H), 3,83 (m, 1H), 4,11 (m, 1H), 4,57 (m, 3H), 5,22 (d, $H=10,4\text{Hz}$, 1H), 5,30 (d, $J=17,2\text{Hz}$, 1H), 5,33 (m, 1H), 5,47 (d, $J=5,2\text{Hz}$, 1H), 5,89 (ddt, $J=17,1$, 11,0, 5,4Hz, 1H) ppm; LC-MS (ES^+) $m/e=264$ ($\text{M}+\text{H}$).

allylester [2-(2-morfolin-4-ylethoxy)-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví z allylesteru [2-(2-chlorethoxy)-5-oxotetrahydrofuran-3-yl] karbamové kyseliny a reakcí s 2 ekvivalenty morfolinu a 1 ekvivalentem jodidu draselného v dimethylformamidu.

[2-(2-morfolin-4-ylethoxy)-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98az)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97a a allylesteru syn-[2-(2-morfolin-4-ylethoxy)-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]karbamové kyseliny podle způsobu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a.



98ba

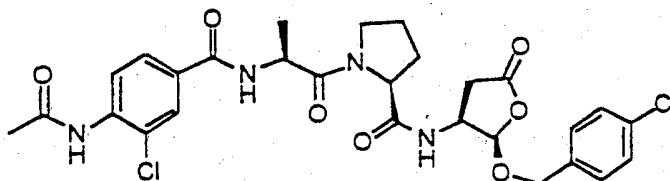
allylester [2-(4-chlorbenzyloxy)-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]-
karbamové kyseliny

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru 3-allyloxykarbonyl-
amino-4-hydroxybutanové kyseliny podle postupu popsaného pro
přípravu sloučeniny 40 za použití 4-chlorbenzylalkoholu. Získá
se sloučenina uvedená v názvu ve formě bílé pevné látky. Anti-
diastereomer: HPLC (kolona C18) 10,924 min; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz,
deuteriochloroform) δ 2,41 (d, $J=8,0\text{Hz}$, 1H), 3,02 (dd, $J=18,1$,
7,5Hz, 1H), 4,25 (š, 1H), 4,56 (m, 2H), 4,58 (d, $J=11,7\text{Hz}$,
1H), 4,79 (d, $J=11,7\text{Hz}$, 1H), 4,99 (š, 1H), 5,22 (dd, $J=10,4$,
1,1Hz, 1H), 5,28 (dd, $J=17,2$, 1,3Hz, 1H), 5,44 (s, 1H), 5,86
(m, 1H), 7,25 (d, $J=8,4\text{Hz}$, 2H), 7,32 (d, $J=8,4\text{Hz}$, 2H) ppm; LC-
MS (ES $^+$) $m/e=326$ (M+H); Syn-diastereomer: HPLC (kolona C18)
10,780 min; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform) δ 2,47 (dd,
 $J=17,3$, 10,5Hz, 1H), 2,85 (dd, $J=17,3$, 8,4Hz, 1H), 4,55 (m,
3H), 4,58 (d, $J=11,7\text{Hz}$, 1H), 4,84 (d, $J=11,7\text{Hz}$, 1H), 5,23 (dd,
 $J=10,4$, 1,1Hz, 1H), 5,30 (d, $J=16,6\text{Hz}$, 1H), 5,49 (d, $J=5,0\text{Hz}$,
1H), 5,89 (ddt, $J=17,1$, 11,0, 5,4Hz, 1H), 7,23 (d, $J=8,3\text{Hz}$,
2H), 7,31 (d, $J=8,3\text{Hz}$, 2H) ppm; LC-MS (ES $^+$) $m/e= 326$ (M+H).

[2-(4-chlorbenzyloxy)-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]amid 1-[2-(4-
amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové
kyseliny (98ba)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97a a allylesteru syn-[2-
(4-chlorbenzyloxy)-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]karbamové kyseli-
ny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá
se 154 mg (výtěžek 65 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě

světle růžové pevné látky. HPLC (kolona C18) 10,597 min; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform) δ 1,14 (d, $J=6,8\text{Hz}$, 0,75H), 1,34, (d, $J=6,8\text{Hz}$, 2,25H), 1,6 (š, 0,25H), 1,91 (m, 1H), 2,03 (m, 1H), 2,10 (m, 1H), 2,29 (m, 0,75H), 2,40 (dd, $J=17,3$, 10,3Hz, 0,75H), 2,51 (m, 0,25H), 2,82 (dd, $J=17,3$, 8,5Hz, 0,75H), 3,08 (dd, $J=17,9$, 10,9Hz, 0,25H), 3,58 (m, 1H), 3,72 (dd, $J=16,5$, 8,7Hz, 0,75H), 4,10 (m, 0,25H), 4,22 (d, $J=8,0\text{Hz}$, 0,25H), 4,39 (d, $J=10,8\text{Hz}$, 0,25H), 4,54 (dd, $J=9,1$, 2,9Hz, 0,75H), 4,60 (d, $J=11,9\text{Hz}$, 0,75H), 4,68 (m, 1H), 4,85 (d, $J=11,7\text{Hz}$, 0,75H), 4,86 (m, 1H), 5,49 (d, $J=5,2\text{Hz}$, 0,75H), 5,81 (d, $J=5,2\text{Hz}$, 0,25H), 6,2 (š, 0,25H), 6,74 (m, 2H), 7,05 (d, $J=8,5\text{Hz}$, 0,5H), 7,17 (d, $J=8,4\text{Hz}$, 0,5H), 7,30 (m, 3,25H), 7,48 (dd, $J=8,4$, 2,0Hz, 0,75H), 7,56 (d, $J=1,9\text{Hz}$, 0,25H), 7,73 (d, $J=1,9\text{Hz}$, 0,75H), 8,42 (d, $J=5,7\text{Hz}$, 0,25H) ppm; LC-MS (ES $^+$) $m/e=563$, 565 (M+H).



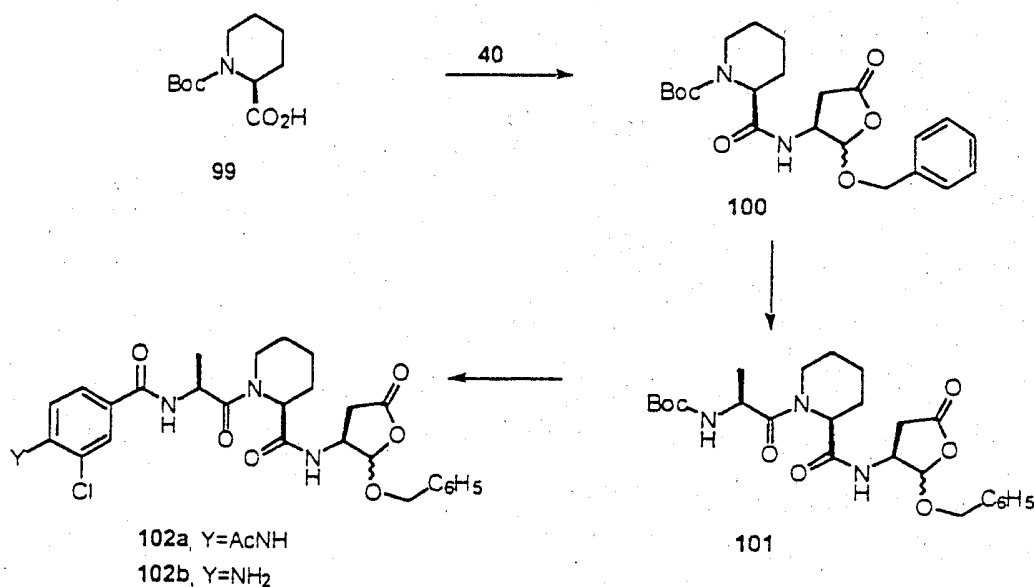
98bb

[2-(4-chlorbenzyloxy)-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]amide 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (98bb)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 97b a allylesteru syn-[2-(4-chlor-benzyloxy)-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]karbamové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 165 mg (výtěžek 64 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě světle žluté pevné látky. HPLC (kolona C18) 10,491 min; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform) δ 1,16 (d, $J=6,8\text{Hz}$, 0,6H), 1,35, (d, $J=6,8\text{Hz}$, 2,4H), 1,94 (m, 1H), 2,04 (m, 1H), 2,10 (m, 1H), 2,25 (s, 3H), 2,28 (m, 1H), 2,40 (dd, $J=17,3$, 10,4Hz,

0,8H), 2,53 (m, 0,2H), 2,84 (dd, $J=17,3$, 8,5Hz, 0,8H), 3,02 (dd, $J=17,5$, 10,5Hz, 0,2H), 3,58 (m, 1H), 3,72 (ddd, $J=17,2$, 8,3, 8,3Hz, 0,8H), 4,13 (m, 0,2H), 4,22 (d, $J=8,2$ Hz, 0,2H), 4,40 (d, $J=10,9$ Hz, 0,2H), 4,54 (dd, $J=8,1$, 3,0Hz, 0,8H), 4,60 (d, $J=11,8$ Hz, 0,8H), 4,69 (m, 1H), 4,85 (d, $J=11,5$ Hz, 0,8H), 4,87 (m, 1H), 5,49 (d, $J=5,2$ Hz, 0,8H), 5,80 (d, $J=5,2$ Hz, 0,2H), 6,47 (š, 0,2H), 6,95 (d, $J=8,3$ Hz, 0,8H), 7,05 (d, $J=8,3$ Hz, 0,4H), 7,18 (d, $J=8,3$ Hz, 0,4H), 7,29 (m, 3,2H), 7,49 (dd, $J=8,6$, 1,9Hz, 0,2H), 7,63 (dd, $J=8,6$, 1,9Hz, 0,8H), 7,74 (d, $J=1,9$ Hz, 1H), 7,85 (d, $J=1,9$ Hz, 0,8H), 8,25 (d, $J=6,4$ Hz, 0,2H), 8,51 (m, 0,8H) ppm; LC-MS (ES⁺) $m/e=605$, 607 (M+H).

Schéma XVIII



terc.butylester 2-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-ylkarbamoyl)piperidin-1-karboxylové kyseliny (100)

Sloučenina se připraví z 1-terc.butylesteru piperidin-1,2-dikarboxylové kyseliny 99 a sloučeniny 40 podle způsobu použitého pro přípravu sloučeniny 75. Získá se 2,63 g (výtěžek 57 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500MHz, deuterochloroform) δ 1,15-1,79 (m, 15H), 2,12-2,50 (m, 2H), 2,56-2,83 (m, 1H), 2,89 (dd, 0,5H), 3,05 (dd, 0,5H), 3,81-4,15 (šs, 1H),

4,36-4,97 (m, 3H), 5,37-5,61 (m, 1H), 6,42-6,89 (šs, 1H), 7,17-7,51 (m, 5H). LC-MS (ES⁺) m/e=419,4 (MH⁺).

terc.butylester {2-[2-(2-benzyloxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-ylkarbamoyl)piperidin-1-yl]-1-methyl-2-oxo-ethyl}karbamové kyseliny (101)

terc.Butylester 2-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-ylkarbamoyl)piperidin-1-karboxylové kyseliny (100) se rozpustí v 25 ml 20% kyseliny trifluoroctové v dichlormethanu a míchá se 50 minut při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se azeotropicky čtyřikrát destiluje s dichlormethanem. Získaný olej se rozpustí v 20 ml dichlormethanu a 5 ml dimethylformamidu, ochladí se na 0 °C a reaguje se s 4,7 ml (27,0 mmol) DIEA, 970 mg (5,1 mmol) Boc-alaninu, 924 mg (6,8 mmol) HOBT a 1,31 g (6,8 mmol) EDC a roztok se 18 hodin míchá v dusíkové atmosféře. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu, zbytek se rozpustí v ethylacetátu a dvakrát se promyje 0,5N roztokem hydrogen-síranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou. Organická vrstva se suší nad bezvodým síranem sodným a odpaří se. Získá se oranžová pevná látka, která se rozpustí v dichlormethanu a přikape se k diethyletheru a získá se bílá sraženina. Získá se 1,21 g (výtěžek 73 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. ¹H-NMR (500MHz, deuteriochloroform) δ 1,10-1,79 (m, 18H), 1,98-2,19 (m, 0,5H), 2,28-2,88 (m, 3H), 2,89-3,13 (m, 0,5H), 3,78-3,95 (m, 0,5H), 4,21-5,16 (m, 5,5H), 5,38-5,59 (m, 0,3H), 5,66 (d, 0,4H), 5,80 (d, 0,3H), 7,24-7,40 (m, 5H). LC-MS (ES⁺) m/e=490,3 (MH⁺).

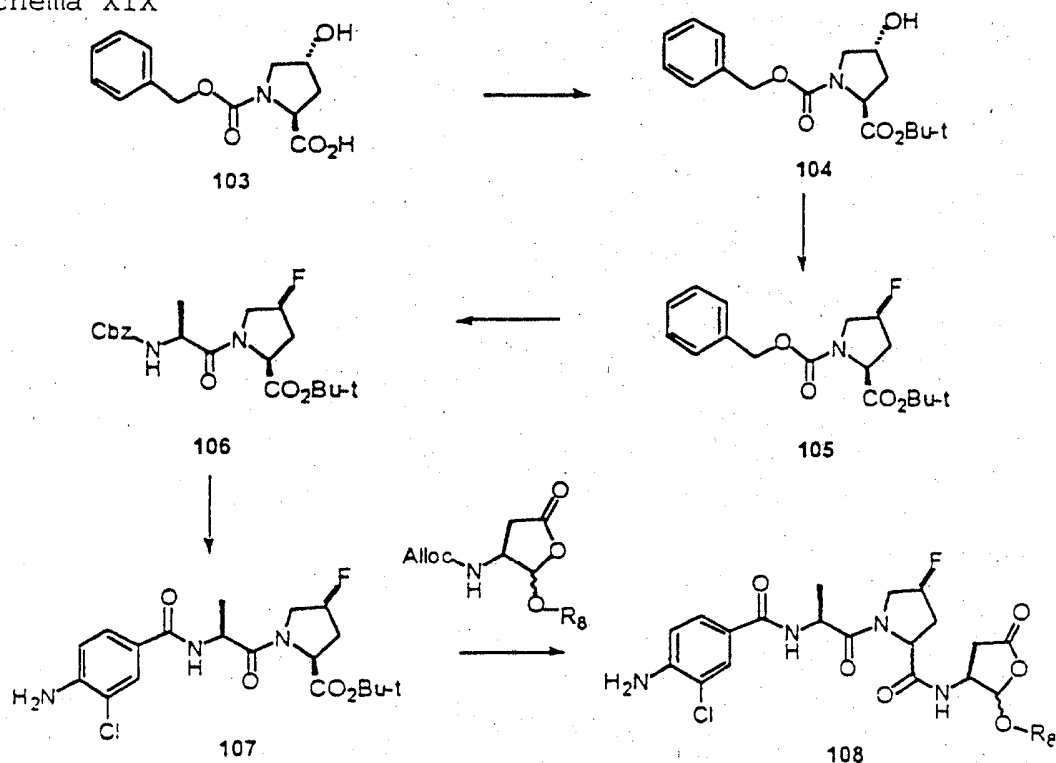
(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]piperidin-2-karboxylové kyseliny (102a)

Sloučenina se připraví z terc.butylesteru {2-[2-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydro-furan-3-ylkarbamoyl)piperidin-1-yl]-1-methyl-2-oxoethyl}karbamové kyseliny a 4-acetylamino-3-chlorbenzoové kyseliny podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 71 mg (výtěžek 47 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuterochloroform) δ 1,10-1,97 (m, 10H), 2,10-2,68 (m, 5H), 2,73-3,24 (m, 2H), 3,62-3,92 (m, 1H), 4,24-5,27 (m, 5H), 5,48-5,59 (m, 0,5H), 5,75-5,85 (m, 0,5H), 6,51-6,61 (d, 1H), 7,05-7,45 (m, 4H), 7,52-8,12 (m, 4H). Analytická HPLC 8,30 min. LC-MS (ES^+) $m/e=585,3$ (MH^+).

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]piperidin-2-karboxylové kyseliny (102b)

Sloučenina se připraví podle postupu popsaného výše pro přípravu sloučeniny 102a. Získá se 0,06 g (výtěžek 27 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě žluté pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuterochloroform) δ 1,2-1,8 (m, 7H), 2,1-2,6 (m, 2H), 2,7-3,2 (m, 4H), 3,6-4,0 (m, 1H), 4,3-4,9 (m, 7H), 5,0-5,8 (m, 2H), 6,5-7,0 (m, 2H), 7,2-7,8 (m, 8H) ppm. Analytická HPLC (kolona kyano) 14,559 (39,6 %), 15,198 (60,4 %). LC-MS (ES^+): $m/e=543$ ($\text{M}+\text{H}$)

Schéma XIX



1-benzylester 2-*terc.*butylester 4-hydroxy-pyrrolidin-1,2-di-karboxylové kyseliny (104)

Sloučenina 104 se připraví podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 95.

Suspenze 4,854 g (18 mmol) Cbz-Hyp-OH ve 135 ml DMA, 4,105 g (18 mmol) benzyltriethylamoniumchloridu, 64 g (46 mmol) uhličitánu draselného a 99 ml (859 mmol) 2-brom-2-methylpropanu se míchá 18 hodin při 55 °C. Směs se zředí ledovou vodou a třikrát se extrahuje ethylacetátem. Organická vrstva se promyje vodou, 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného a solankou a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a získá se 5,368 g (výtěžek 98 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě žlutého oleje. ¹H-NMR (500MHz, deuterochloroform) δ 1,33 (s, 5H), 1,47 (s, 4H), 2,01-2,14 (m, 1H), 2,22-2,38 (m, 1H), 3,50-3,72 (m, 2H), 4,34-4,45 (m, 1H), 4,45-4,53 (m, 1H), 5,04-5,20 (m, 2H), 7,22-7,42 (m, 5H). Analytická HPLC 10,14 min. LC-MS (ES⁺) m/e=322,2

(MH⁺).

1-benzylester 2-terc.butylester 4-fluorpyrrolidin-1,2-dikarboxylové kyseliny (105)

Roztok 4,262 g (13,96 mmol) sloučeniny 104 ve 100 ml dichlormethanu se při -78 °C reaguje s 1,80 ml (13,6 mmol) DAST, míchá se 10 minut a potom se ohřeje na teplotu místnosti a míchá se 60 hodin v dusíkové atmosféře. Směs se nalije do 350 ml 10% ledového roztoku hydrogenuhlíčitanu sodného a dvakrát se extrahuje dichlormethanem. Organická vrstva se promyje vodou, solankou, suší se nad bezvodým síranem sodným a odpaří se za získání 4,299 g hnědého oleje, který se čistí pomocí velmi rychlé kolonové chromatografie na silikagelu za použití směsi hexanu a ethylacetátu (90/10 až 80/20 %) jako eluentu. Získá se 2,805 g (výtěžek 64 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě žlutého oleje. ¹H-NMR (500MHz, deuterochloroform) δ 1,37 (s, 4,5H), 1,45 (s, 4,5H), 2,20-2,55 (m, 2H), 3,61-3,93 (m, 2H), 4,41 (d, 0,5H), 4,49 (d, 0,5H), 5,03-5,21 (m, 3H), 7,23-7,44 (m, 5H). Analytická HPLC 12,15 min. LC-MS (ES⁺) m/e=324,2 (MH⁺).

1-benzylester 2-terc.butylester 1-(2-benzyloxykarbonylamino-propionyl)-4-fluorpyrrolidin-1,2-dikarboxylové kyseliny (106)

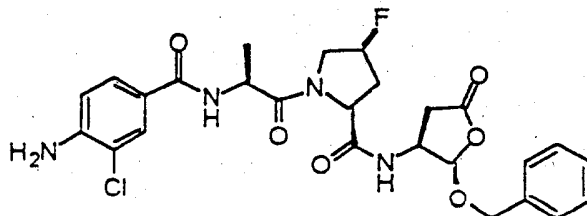
Roztok 2,72 g (8,42 mmol) sloučeniny 105 v 50 ml methanolu a 1,27 g 10% palladia na uhlí se míchá 2 hodiny ve vodíkové atmosféře, potom se filtruje přes křemelinu a rozpouštědlo se odpaří a získá se 1,526 g žlutého oleje. Tento olej se rozpustí v 30 ml dichlormethanu a reaguje se při 0 °C s 1,5 ml (8,6 mmol) DIEA, 2,34 g (10,5 mmol) Cbz-ala-OH a 2,32 g (12 mmol) EDC. Směs se míchá dalších 10 minut při teplotě 0 °C, potom se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se 18 hodin. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a zbytek se rozpustí v ethyl-

acetátu, potom se dvakrát promyje 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou. Organická vrstva se suší nad bezvodým síranem sodným a odpaří se za získání bílé pevné látky, která se čistí pomocí velmi rychlé kolonové chromatografie za použití směsi hexanu a ethylacetátu (80/20 až 60/40 %) jako eluentu. Získá se 286 g (výtěžek 86 % z 1-benzylesteru 2-terc.butylesteru 4-fluorpyrrolidin-1,2-dikarboxylové kyseliny). $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,26-1,59 (m, 12H), 2,20-2,67 (m, 2H), 3,45-4,13 (m, 2H), 4,25-4,47 (m, 1H), 4,58-4,71 (m, 1H), 4,96-5,17 (m, 2H), 5,19-5,45 (m, 1H), 7,23-7,48 (m, 5H). Analytická HPLC 16,36min. LC-MS (ES^+) $m/e=395,3$ (MH^+).

terc.butylester 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (107)

Suspenze 2,65 g (6,72 mmol) sloučeniny 106 v 40 ml methanolu a 1,32 g 10% palladia na uhlí se míchá 1,5 hodiny ve vodíkové atmosféře, filtruje se přes křemelinu a odpaří se za získání 1,694 g voskovité pevné látky. Pevná látka se rozpustí v 25 ml dichlormethanu a reaguje se při 0 °C s 3,4 ml (19,5 mmol) DIEA, 1,362 g (7,9 mmol) 4-amino-3-chlorbenzoové kyseliny, 1,164 g (8,62 mmol) HOBt a 1,645 g (8,57 mmol) EDC. Směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se 18 hodin. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Zbytek se rozpustí v ethylacetátu, čtyřikrát se promyje vodou, dvakrát 0,5N roztokem hydrogensíranu sodného, dvakrát nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a solankou. Organická vrstva se suší nad bezvodým síranem sodným a odpaří se za získání bílé pevné látky, která se čistí pomocí velmi rychlé kolonové chromatografie za použití směsi dichlormethanu a methanolu (99/1 až 98/2 %) jako eluentu. Získá se 2,705 g (výtěžek 97 %) produktu ve formě bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,33 (s,

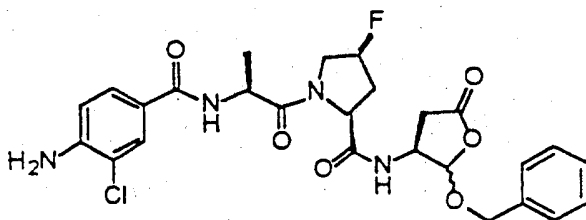
9H), 1,48 (d, 3H), 2,31-2,55 (m, 2H), 3,93 (dd, 1H), 4,02-4,21 (m, 1H), 4,59-4,76 (m, 1H), 5,31 (šs, 0,5H), 5,41 (šs, 0,5H), 6,78 (d, 1H), 7,57 (dd, 1H), 7,78 (s, 1H), 8,31 (d, 1H). Analytická HPLC 14,14 min. LC-MS (ES⁺) m/e=414,2 (MH⁺).



108a

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (108a)

Sloučenina se připraví z allylesteru syn-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny a sloučeniny 107a podle způsobu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Izoluje se 41 mg (výtěžek 15 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. ¹H-NMR (500MHz, deuteromethanol) δ 0,94 (d, 0,3H), 1,07 (d, 1H), 1,40 (m, 1,7H), 2,21-2,65 (m, 2,2H), 2,70-2,85 (m, 1,4H), 2,96-3,08 (m, 1,4H), 2,96-3,08 (dd, 0,4H), 3,57-4,24 (m, 3H), 4,41-4,93 (m, 4H), 5,14-5,45 (m, 1H), 5,60-5,67 (m, 0,6H), 5,77 (d, 0,4H), 6,77 (dd, 1H), 7,15-7,41 (m, 5H), 7,51-7,62 (m, 1H), 7,77 (dd, 1H). Analytická HPLC 12,83 min. LC-MS (ES⁺) m/e= 547,1 (MH⁺).

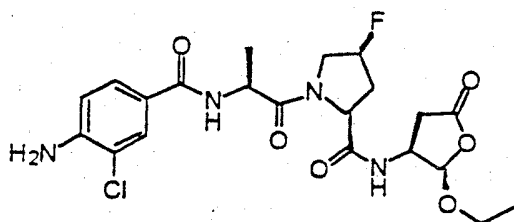


108b

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karboxylové

kyseliny (108b)

Sloučenina se připraví z allylesteru (2-benzyloxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny a sloučeniny 107a podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 98a. Izoluje se 654 mg (výtěžek 54 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,07 (d, 0,5H), 1,25-1,56 (m, 2,5H), 2,21-2,65 (m, 2,3H), 2,68-2,89 (m, 1H), 2,91-3,10 (m, 0,7H), 3,57-4,23 (m, 2H), 4,32-4,95 (m, 5H), 5,16-5,52 (m, 1H), 5,45-5,50 (m, 0,3H), 5,54-5,58 (m, 0,2H), 5,61-5,67 (m, 0,3H), 5,77 (d, 0,2H), 6,72-6,84 (m, 1H), 7,16-7,41 (m, 5H), 7,50-7,65 (m, 1H), 7,71-7,87 (m, 1H). Analytická HPLC 12,83 min. LC-MS (ES $^+$) $m/e=547,1$ (MH $^+$).

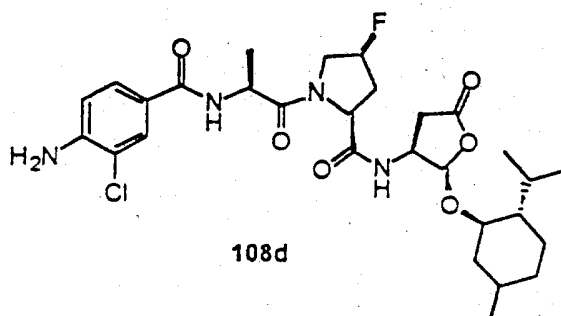


108c

(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4-fluor-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (108c)

Sloučenina se připraví z allylesteru syn-(2-ethoxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny a sloučeniny 107a podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 100,3 mg (výtěžek 38 %) sloučeniny uvedené v názvu. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteromethanol) δ 1,09 (t, 1,2H), 1,25 (t, 1,8H), 1,40 (d, 1H), 1,49 (d, 2H), 2,33-2,61 (m, 2H), 2,65-2,95 (m, 2H), 3,44-4,30 (m, 4H), 4,47-4,79 (m, 3H), 5,18-5,25 (m, 0,2H), 5,27-5,36 (m, 0,5H), 5,39-5,46 (m, 0,3H), 5,56 (m, 1H), 6,72-6,94 (m, 0,8H), 7,54-7,69 (m, 0,8H), 7,79 (d, 0,55H), 8,06 (d,

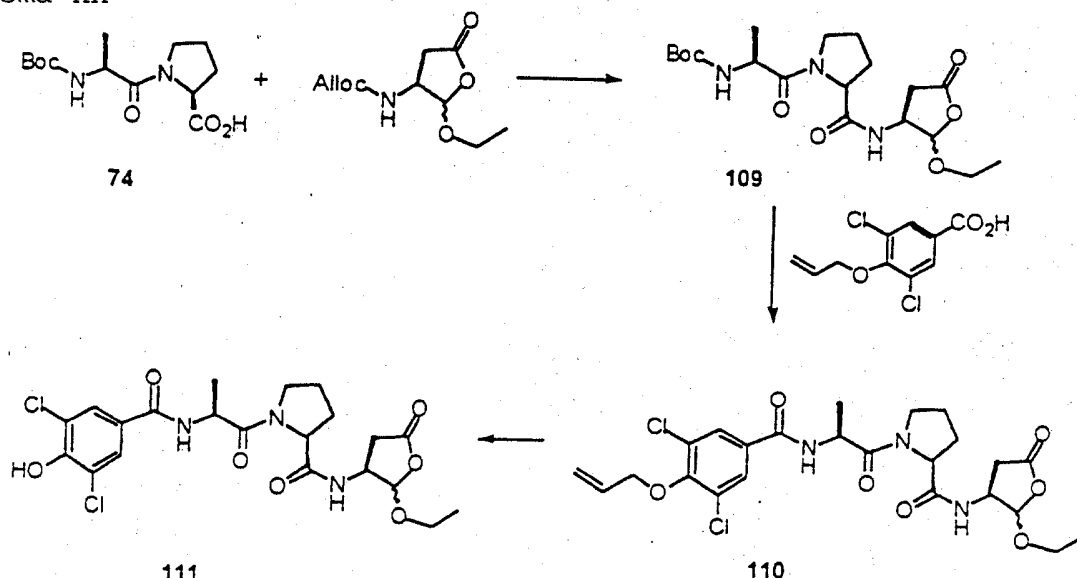
0,55H), 9,00 (d, 0,3H). Analytická HPLC 8,46 min. LC-MS (ES⁺)
m/e= 485,2 (MH⁺).



[2-(2-isopropyl-5-methylcyclohexyl)-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4-fluor-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (108d)

Sloučenina se připraví z allylesteru {2-(1R-(2S-isopropyl-5R-methylcyclohexyloxy)]-5-oxotetrahydrofuran-3-yl}karbamové kyseliny a sloučeniny 107a podle postupu popsáného pro přípravu sloučeniny 98a. Získá se 95 mg (výtěžek 31 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H-NMR (500 MHz, deuteromethanol) δ 0,42 (d, 2H), 0,57 (d, 2H), 0,60-1,10 (m, 10H), 1,22-1,76 (m, 6H), 1,96-2,17 (m, 1H), 2,29-2,60 (m, 2H), 2,61-2,88 (m, 1,5H), 3,02-3,23 (dd, 0,5H), 3,37-3,47 (m, 0,5H), 3,50-3,61 (m, 0,5H), 3,63-4,24 (m, 2H), 4,48-4,62 (m, 3H), 5,18-5,48 (m, 1H), 5,72 (d, 0,4H), 5,82 (d, 0,6H), 6,77-6,84 (m, 1H), 7,53-7,67 (m, 1H), 7,78 (d, 0,4H), 7,84 (d, 1H). Analytická HPLC 8,34 min. LC-MS (ES⁺) m/e= 595 (MH⁺).

Schéma XX



terc.butylester {2-[2-(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-ylkarbamoyl)-pyrrolidin-1-yl]-1-methyl-2-oxoethyl}karbamové kyseliny (109)

Sloučenina se připraví z allylesteru (2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny 74 podle způsobu použitého pro přípravu sloučeniny 75. Získá se 660 mg (výtěžek 73 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě světle žluté pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteromethanol) δ 1,14-1,36 (m, 6H), 1,42 (s, 9H), 1,75-2,29 (m, 0,5H), 2,99 (dd, 0,5H), 3,43-3,91 (m, 4H), 4,07-4,52 (m, 2,5H), 4,53-4,72 (m, 0,5H), 5,37 (s, 0,5H), 5,57 (d, 0,5H). Analytická HPLC (směs 2 diastereomerů) 7,92, 8,14 min. LC-MS (ES $^+$) m/e = 414,3 (MH $^+$).

(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-allyloxy-3,5-dichlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (110)

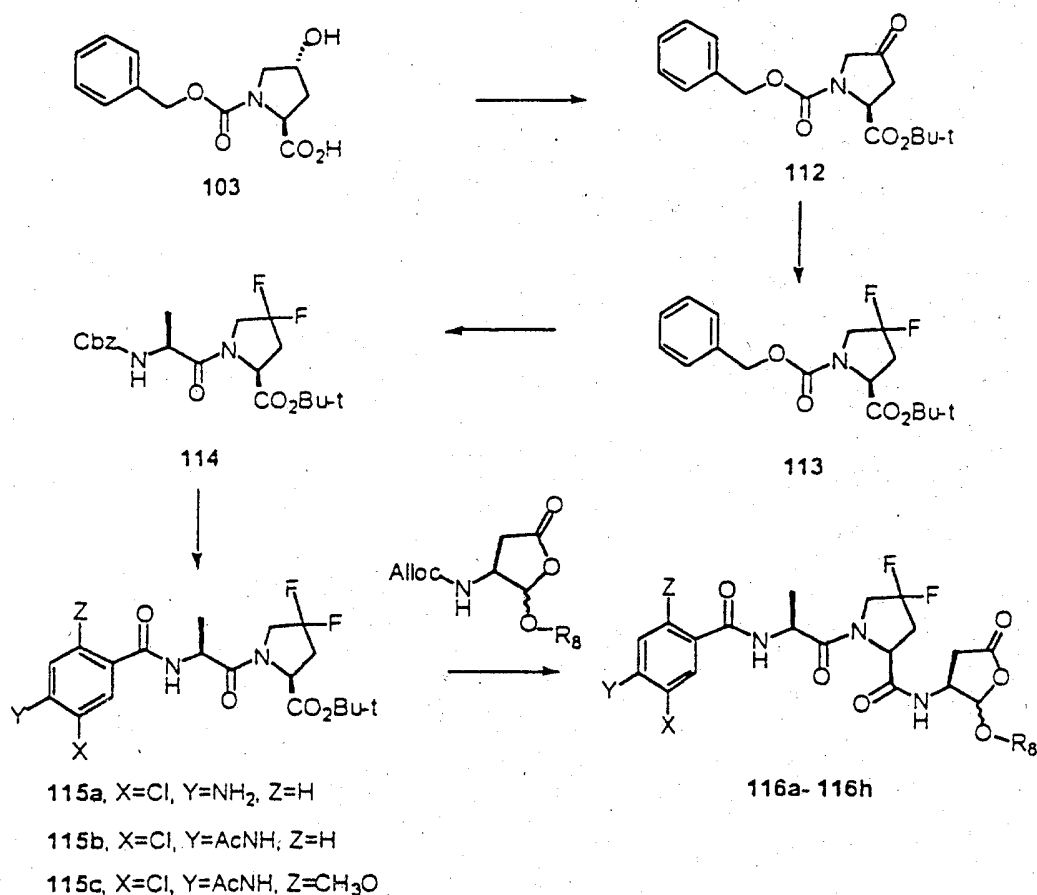
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 109 a 4-allyloxy-3,5-dichlorbenzoové kyseliny podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 82. Získá se 228 mg (65 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. $^1\text{H NMR}$ (500 MHz,

deuteromethanol) δ 1,10-1,30 (m, 4H), 1,32-1,52 (m, 3H), 1,63-2,31 (m, 4H), 2,41-2,50 (d, 0,5H), 2,52-2,61 (dd, 0,5H), 2,67-2,81 (m, 0,5H), 2,94-3,05 (dd, 0,5H), 3,47-3,96 (m, 4H), 4,21-4,81 (m, 5H), 5,22-5,32 (m, 1H), 5,35-5,49 (m, 1,5H), 5,55-5,63 (m, 0,5H), 6,06-6,21 (m, 1H), 7,90 (s, 1H). Analytická HPLC (směs 2 diastereomerů) 12,56 min. LC-MS (ES⁺) m/e = 542,3 (MH⁺).

(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(3,5-dichlor-4-hydroxybenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (111)

K roztoku 194 mg (0,36 mmol) sloučeniny 110 v 5 ml dichlormethanu se při 0 °C přidá 70,7 mg (0,45 mmol) DMBA a 50,3 mg (0,044 mmol) Pd(PPh₃)₄. Roztok se po 15 minutách ohřeje na teplotu místnosti, míchá se 2 hodiny, zředí se dichlormethanem, potom se dvakrát promyje vodou a solankou. Organická vrstva se suší nad bezvodým síranem sodným a odpaří se za získání surového produktu. Po čištění pomocí velmi rychlé chromatografie za použití směsi dichlormethanu a methanolu (99/1 až 95/5 %) jako eluentu se získá 138,6 mg (výtěžek 77 %) sloučeniny uvedené v názvu. ¹H NMR (500MHz, deuteromethanol) δ 1,13-1,31 (m, 3H), 1,35-1,49 (m, 3H), 1,84-2,35 (m, 4H), 2,43-3,05 (m, 2H), 3,48-3,93 (m, 4H), 4,22-4,80 (m, 3H), 5,38 (d, 0,4H), 5,46 (s, 0,1H), 5,55-5,61 (m, 0,5H), 7,76-7,94 (m, 2H). Analytická HPLC 8,70 min. LC-MS (ES⁺) m/e=502,2 (MH⁺).

Schéma XXI



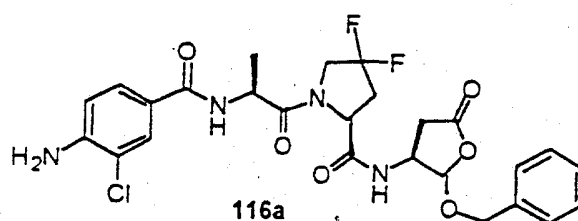
Sloučeniny 116a-116h se připraví podle postupu popsaného pro přípravu sloučeniny 98 pouze náhradou terc.butylesteru 1-(2-benzyloxykarbonylaminopropionyl)-4,4-difluorpyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (114) za terc.butylester 1-(2-benzyloxykarbonylaminopropionyl)pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (95).

Příprava terc.butylesteru 1-(2-benzyloxykarbonylamino-propionyl)-4,4-difluorpyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (114)

Roztok 0,42 g (1,23 mmol) 1-benzylesteru 2-terc.butylesteru 4,4-difluorpyrrolidin-1,2-dikarboxylové kyseliny (113) (Karnewsky, a kol., J. Med. Chem. 33, str. 1459-1469 (1990)) a 0,22 g 10% palladia na uhlí v 6 ml methanolu se míchá 3 hodiny při tlaku vodíku 10⁵ Pa. Směs se filtruje přes křemelinu a

odpaří se. Zbytek se rozpustí ve 4 ml dichlormethanu a 2 ml dimethylformamidu a ochladí se na 0 °C. Přidá se 0,30 g (1,35 mmol) 2-benzyloxykarbonylaminopropionové kyseliny, 0,30 g (1,54 mmol) EDC, 0,65 ml DIEA a 0,17 g (1,23 mmol) HOBt a reakční směs se míchá 0,5 hodiny při 0 °C, potom 16 hodin při teplotě místnosti v dusíkové atmosféře. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a zbytek se rozpustí v ethylacetátu, potom se promyje 10% roztokem hydrogensíranu sodného, nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného, vodou a solankou, suší se nad síranem sodným a odpaří se. Po čištění pomocí velmi rychlé chromatografie na silikagelu za použití směsi 25:75 ethylacetátu a hexanu se získá 0,39 g (výtěžek 77 %) terc.-butylesteru 1-(2-benzyloxykarbonylaminopropionyl)-4,4-difluor-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny ve formě bezbarvého oleje.

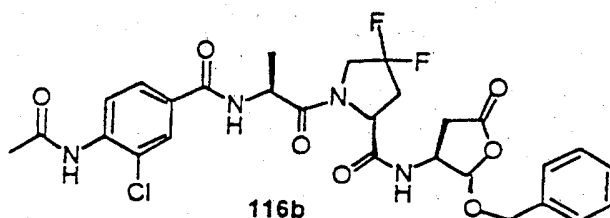
¹H-NMR (500 MHz, deuteriochloroform) δ 1,3-1,6 (m, 12H), 2,5 (m, 0,8H), 2,7 (m, 1,2H), 3,9 (m, 1H), 4,1 (m, 1H), 4,4 (m, 1H), 4,7 (m, 1H), 5,1 (m, 2H), 5,59 (šd, J=7,7Hz, 0,8H), 5,7 (šd, J=7,7Hz, 0,2H), 7,35 (m, 5H) ppm. Analytická HPLC (kolona kyano) 17,069 min. LC-MS (ES⁺): m/e=413 (M+H), 357 (M+H-terc.-butyl), 313 [M+H-(CO₂terc.butyl)].



(2-benzyloxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4,4-difluor-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (116a)

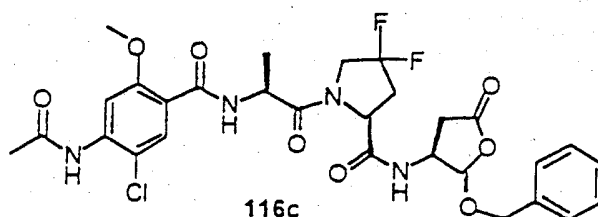
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 115a a sloučeniny syn-40. Získá se 0,14 g (výtěžek 73 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bělavé pevné látky. ¹HNMR (500 MHz, deuteromethanol) δ

1,0-1,5 (m, 3H), 2,0-3,5 (m, 4H+CH₃OH), 3,5-5,5 (M, 6H+H₂O), 5,6-5,8 (m, 1H), 6,7-6,8 (m, 1H), 7,1-7,8 (m, 8H), 8,2-8,6 (m, 1H) ppm. Analytická HPLC (kolona kyano) 13,744 min. LC-MS (ES⁺): m/e=565 (M+H).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4,4-difluorpyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (116b)

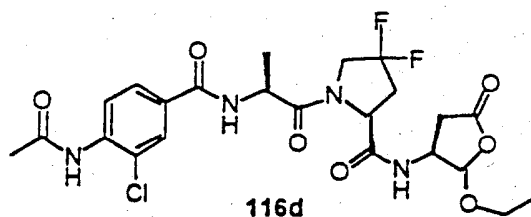
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 115b a sloučeniny syn-40. Získá se 0,08 g (výtěžek 38 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bělavé pevné látky. ¹H-NMR (500 MHz, deuterochloroform) δ 1,03 (d, J=6,9Hz, 0,4H), 1,30 (d, J=6,9Hz, 0,6H), 2,25 (d, J=2,9Hz, 3H), 2,4-3,2 (m, 4H), 3,6-4,4 (m, 4H), 4,6-4,9 (m, 3H), 5,52 (d, J=5,2Hz, 0,6H), 5,78 (d, J=5,2Hz, 0,4H), 6,6 (šs, 1H), 6,9-7,9 (m, 8H), 8,39 (d, J=8,1 Hz, 0,4H), 8,44 (d, J= 8,3Hz, 0,6H), 8,74 (d, J=6,8Hz, 1H) ppm. Analytická HPLC (kolona kyano) 11,830 min. LC-MS (ES⁺): m/e= 607 (M+H).



(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetylamino-5-chlor-2-methoxybenzoylamino)propionyl]-4,4-difluorpyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (116c)

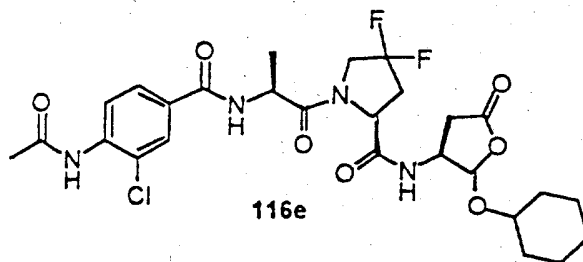
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 115c a sloučeniny syn-40. Získá se 0,07 g (výtěžek 29 %) sloučeniny uvedené v názvu ve

formě bělavé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform) δ 0,99 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 1,35H), 1,32 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 1,65H), 2,25 (s, 1,5H), 2,26 (s, 1,5H), 2,3-3,2 (m, 4H), 3,95 (s, 0,55H), 3,98 (s, 0,45H), 3,7-4,1 (m, 2,5H), 4,2-4,5 (m, 1,5H), 4,6-4,9 (m, 3H), 5,52 (d, $J=5,3\text{Hz}$, 0,55H), 5,80 (d, $J=5,3\text{Hz}$, 0,45H), 7,0-7,4 (m, 4H), 7,7-7,9 (m, 2H), 8,0-8,4 (m, 2H), 8,49 (d, $J=6,5\text{Hz}$, 1H), 8,93 (d, $J=6,7\text{Hz}$, 1H) ppm. Analytická HPLC (kolona kyano) 12,959 min. LC-MS (ES^+): $m/e=637$ ($\text{M}+\text{H}$).



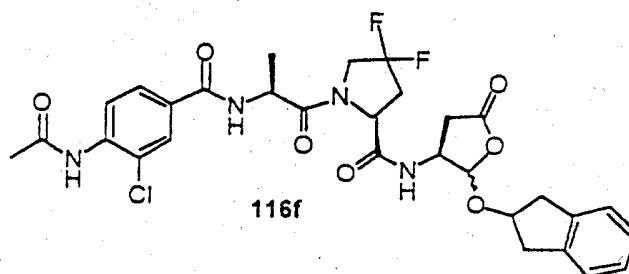
(2-ethoxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4,4-difluorpyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (116d)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 115b a allylesteru syn-(2-ethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny. Získá se 0,27 g (výtěžek 66 %) bělavé pevné látky ve formě směsi epimerů 92:8. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform) δ 1,0-1,5 (m, 6H), 2,25 (s, 1,8H), 2,26 (s, 1,2H), 2,3-3,1 (m, 4H), 3,3-4,3 (m, 4H), 4,5-4,9 (m, 3H), 5,45 (d, $J=5,3\text{Hz}$, 0,75H), 5,59 (d, $J=5,2\text{Hz}$, 0,25H), 6,7-7,1 (m, 2H), 7,62 (dd, $J=8,7, 2,0\text{Hz}$, 1H), 7,76 (m, 1H), 7,85 (d, $J=2,0\text{Hz}$, 1H), 8,48 (m, 1H) ppm. Analytická HPLC (kolona C18) 13,300 (91,8 %), 14,046 (8,2 %) min. LC-MS (ES^+): m/e 545 ($\text{M}+\text{H}$).



(2-cyklohexyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4,4-difluorpyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (116e)

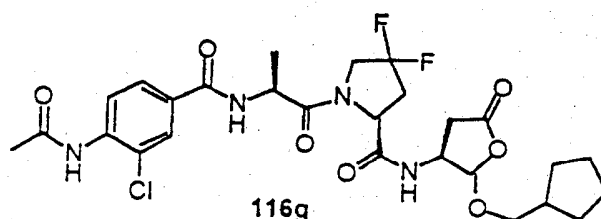
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 115b a allylesteru syn-(2-cyklohexyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny. Získá se sloučenina uvedená v názvu ve formě směsi epimerů 93:7. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform) δ 1,0-2,0 (m, 13H), 2,25 (s, 2H), 2,26 (s, 1H), 2,40 (dd, $J=17,3$, 10,1Hz, 1H), 2,84 (dd, $J=17,3$, 8,5Hz, 1H), 2,5-3,0 (m, 2H), 3,5-4,3 (m, 3,5H), 4,5-4,9 (m, 2,5H), 5,59 (d, $J=5,3\text{Hz}$, 0,75H), 5,76 (d, $J=5,2\text{Hz}$, 0,25 H), 6,74 (šd, $J=5,7\text{Hz}$, 0,25H), 6,93 (šd, $J=7,1\text{Hz}$, 1H), 7,06 (šd, $J=7,8\text{Hz}$, 0,75H), 7,62 (dd, $J=8,6$, 2,0Hz, 1H), 7,78 (m, 1H), 7,85 (d, $J=2,0\text{Hz}$, 1H), 8,35 (šd, $J=6,6\text{Hz}$, 0,25H), 8,50 (šd, $J=8,2\text{Hz}$, 0,75H) ppm. Analytická HPLC (kolona C18) 17,112 (93 %), 17,433 (7 %) min. LC-MS (ES $^+$): $m/e=599$ (M+H).



[2-(indanol-2-yl)oxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]amid 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4,4-difluorpyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (116f)

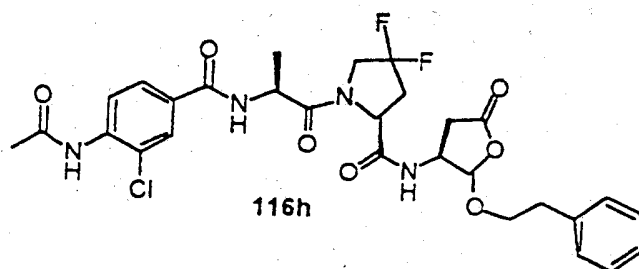
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 115b a allylesteru [2-(indanol-2-yl)oxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl]karbamové kyseliny. Získá se 0,34 g (výtěžek 71 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě směsi epimerů 62:38 jako bělavé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform) δ 1,09 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 0,6H), 1,21

(d, $J=6,9\text{Hz}$, 0,9H), 1,33 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 0,9H), 1,42 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 0,6H), 2,28 (s, 2H), 2,29 (s, 1H), 2,40 (dd, $J=17,4$, 10,3Hz, 1H), 2,4-3,3 (m, 7H), 3,6-4,2 (m, 2H), 4,5-4,8 (m, 4H), 5,66 (m, 0,6H), 5,84 (d, $J=4,3\text{Hz}$, 0,2H), 6,22 (m, 0,2H), 6,7-7,0 (m, 2H), 7,2-7,3 (m, 4H), 7,5-7,7 (m, 1H), 7,8-8,0 (m, 2H), 8,52 (m, 0,6H), 8,62 (šd, $J=6,5\text{Hz}$; 0,4H) ppm. Analytická HPLC (kolona C18) 16,556 (62,0 %), 16,824 (38,0 %) min. LC-MS (ES^+): $m/e=633$ (M+H).



(2-cyklopentylmethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4,4-difluor-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (116g)

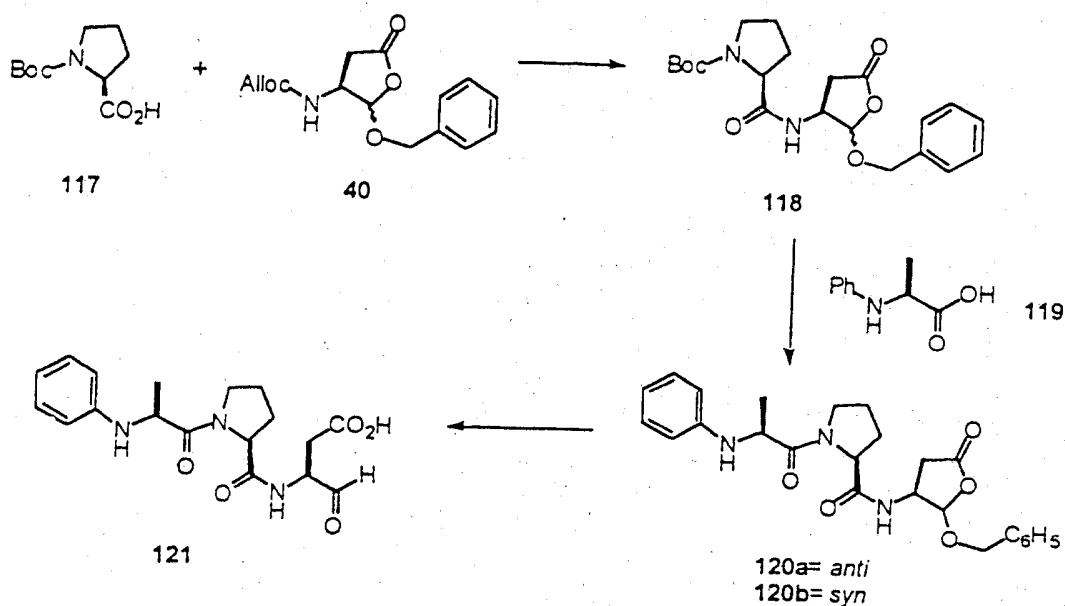
Sloučenina se připraví ze sloučeniny 115b a allylesteru syn-(2-cyklopentylmethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny. Získá se 0,20 g (výtěžek 44 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bělavé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform) δ 1,0-1,8 (m, 11H), 1,9-3,0 (m, 5H), 2,26 (s, 3H), 3,29 (m, 0,25H), 3,47 (m, 0,75H), 3,58 (m, 0,25H), 3,74 (m, 0,75H), 3,8 (m, 0,75H), 4,1 (m, 0,25H), 4,25 (m, 1H), 4,4-4,8 (m, 3H), 5,44 (d, $J=5,2\text{Hz}$, 0,75H), 5,62 (d, $J=5,2\text{Hz}$, 0,25H), 6,7 (š, 0,25H), 6,91 (d, $J=7,1\text{Hz}$, 1H), 7,1 (m, 0,75H), 7,59 (d, $J=8,5\text{Hz}$, 0,25H), 7,63 (dd, $J=8,5$, 2,5Hz, 0,75H), 7,75 (m, 1H), 7,86 (d, $J=1,8\text{Hz}$, 1H), 8,33 (šd, $J=6,5\text{Hz}$, 0,25H), 8,49 (šd, $J=8,4\text{Hz}$, 0,75H) ppm. Analytická HPLC (kolona C18) 17,705 min. LC-MS (ES^+): $m/e = 599$ (M+H).



(2-fenylethoxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid 1-[2-(4-acetyl-amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4,4-difluor-pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (116h)

Sloučenina se připraví ze sloučeniny 115b a allylesteru syn-(5-oxo-2-fenethyloxytetrahydrofuran-3-yl)karbamové kyseliny. Získá se 0,15 g (výtěžek 24 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bělavé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, deuteriochloroform) δ 1,29 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 0,75H), 1,40 (d, $J=6,9\text{Hz}$, 2,25H), 2,25 (s, 2,25H), 2,26 (s, 0,75H), 2,3-3,0 (m, 6H), 3,7-4,8 (m, 7H), 5,38 (d, $J=5,3\text{Hz}$, 0,75H), 5,67 (d, $J=5,1\text{Hz}$, 0,25H), 6,65 (m, 1H), 6,90 (d, $J=7,0\text{Hz}$, 0,75H), 7,06 (d, $J=7,6\text{Hz}$, 0,25H), 7,1-7,3 (m, 5H), 7,57 (d, $J=8,6\text{Hz}$, 0,25H), 7,63 (d, $J=8,6\text{Hz}$, 0,75H), 7,75 (m, 1H), 7,86 (d, $J=1,8\text{Hz}$, 1H), 8,35 (d, $J=6,2\text{Hz}$, 0,25H), 8,49 (d, $J=8,3\text{Hz}$, 0,75H) ppm. Analytická HPLC (kolona C18) 17,265 min. LC-MS (ES^+): $m/e=621$ ($\text{M}+\text{H}$).

Schéma XXII



terc.butylester 2-(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-ylkarbamoyl)pyrrolidin-1-karboxylové kyseliny (118)

Sloučenina se připraví z 1,16 g (4,0 mmol) sloučeniny 40 a Boc-Pro-OH podle postupu použitého pro přípravu sloučeniny 100 (schéma XVIII). Získá se 1,53 g (výtěžek 94 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuterochloroform): 1,61 (š, 9H), 1,88 (š, 2H), 2,00-2,50 (m, 3H), 2,803,10 (m, H), 3,20-3,60 (m, 2H), 4,05-4,45 (m, 1,5H), 4,58-4,80 (m, 1,5H), 4,83-4,98 (m, H), 5,43-5,53 (m, H), 7,26-7,45 (m, 5H), 7,60-7,80 (d, H); Analytická HPLC: 11,32 min; LC-MS: $m/e = 405$ ($M+H^+$).

2-Fenylaminopropionová kyselina (119)

Směs 356 mg (4,0 mmol) alaninu, 816 mg (4,0 mmol) jodbenzenu, 160 mg (0,2 mmol) trans-dichlorbis(tri-*o*-tolylfosfin) palladia (II) $\{\text{Pd}[\text{P}(\text{o-Tol})_3]_2\text{Cl}_2\}$, 40 mg (0,2 mmol) jodidu měďného, 552 mg (4,0 mmol) uhličitanu draselného, 160 mg (0,8 mmol) benzyltriethylamoniumchloridu, 1,6 ml triethylaminu a 0,8 ml vody v

8 ml dimethylformamidu se 20 hodin míchá při 100 °C v dusíkové atmosféře. Směs se ochladí na teplotu místnosti, zředí se 50 ml ethylacetátu a 50 ml vody, okyselí se přidáním 6N kyseliny chlorovodíkové na pH = 2 až 3. Vodná vrstva se extrahuje čtyřikrát 50 ml ethylacetátu. Spojené organické vrstvy se promyjí vodou, solankou, suší se nad bezvodým síranem sodným, filtrují se a odpaří se ve vakuu za získání červeného oleje. Po čištění pomocí směsi hexanu, ethylacetátu a kyseliny octové (95/5/0,5 až 80/20/0,5) se získá 300 mg (výtěžek 45 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě růžové pevné látky. ¹H-NMR (500 MHz, deuteriochloroform/deuteromethanol = 0,5 ml/3 kapky): δ 1,45 (d, 3H), 4,02-4,15 (m, H), 6,57-6,70 (m, 3H), 7,11-7,25 (m, 2H); analytická HPLC: 6,10 min. LC-MS: m/e = 166 (M+H⁺).

(2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)-amid 1-(2-fenylamino-propionyl)pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny (120a a 120b)

Roztok 405 mg (1,0 mmol) sloučeniny 118 se 1 hodinu reaguje s 2 ml kyseliny trifluoroctové v 2 ml dichlormethanu. Reakční roztok se odpaří ve vakuu a azeotropicky čtyřikrát destiluje s dichlormethanem a získá se (2-benzyloxy-5-oxotetrahydrofuran-3-yl)amid pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny ve formě světle žluté pevné látky. ¹H NMR (500 MHz, deuteriochloroform): δ 1,87-2,15 (m, 4H), 2,30-2,70 (m, 2H), 2,80-3,08 (m, H), 3,45 (š, 2H), 4,35-4,98 (m, 3H), 5,30-5,56 (m, H), 7,10-7,60 (m, 5H); analytická HPLC: 7,78/8,20 min; LC-MS: m/e = 305 (M+H⁺).

300 mg (1,8 mmol) 2-Fenylaminopropionové kyseliny (119) v 10 ml dichlormethanu se při 0 °C 10 minut reaguje s 270 mg (2,0 mmol) HOBT a 2,1 g (11 mmol) EDC. Přidají se 2 ml diisopropylethylaminu a potom roztok (2-benzyloxy-5-oxo-tetrahydrofuran-3-yl)amidu pyrrolidin-2-karboxylové kyseliny v 10 ml dichlormethanu. Směs se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti, zředí

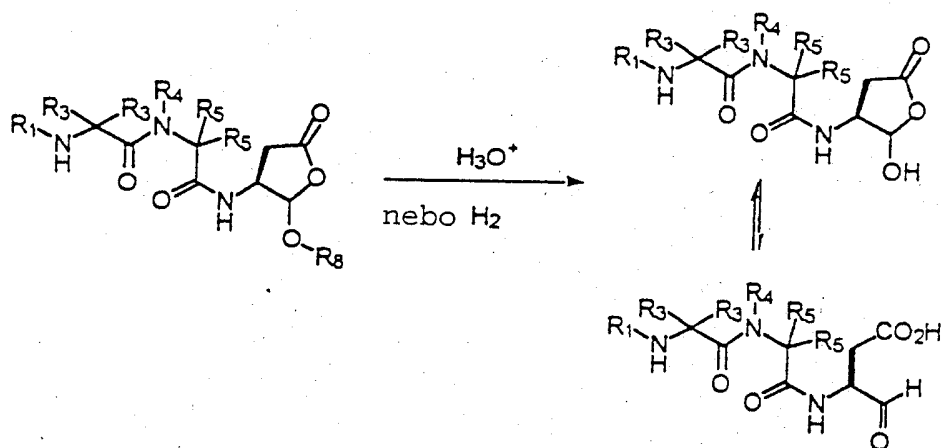
se 40 ml dichlormethanu, promyje se vodou a potom solankou. Organická vrstva se suší nad bezvodým síranem sodným, filtruje se a odpaří se ve vakuu a získá se žlutá pevná látka. Po čištění omocí velmi rychlé chromatografie za použití směsi dichlormethanu a methanolu (99/1 až 98/2) se získá 151 mg (výtěžek 33 %) anti diastereomeru sloučeniny uvedené v názvu 120a a 129 mg (výtěžek 29 %) syn diastereomeru (120 b) ve formě bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform) pro anti diastereomer: δ 1,37-1,41 (m, 3H), 1,50-2,45 (m, 4H), 2,60-2,70 (m, 0,3H), 2,89-2,94 (m, 0,7H), 3,40-3,80 (m, 2H), 4,10-4,50 (m, 3H), 4,50-4,90 (m, 3H), 5,26 (s, 0,3H), 5,38 (s, 0,7H), 6,45-6,60 (m, 2,3H), 6,65-6,80 (m, H), 7,10-7,20 (m, 2,5H), 7,25-7,50 (m, 4,5H), 7,53-7,70 (m, 0,7H), 7,82 (d, H). Pro syn diastereomer: 0,86-0,89 (m, H), 1,20-1,40 (m, 4H), 1,80-2,45 (m, 4H), 2,80-2,86 (m, H), 3,58-3,65 (m, 2H), 4,20-4,40 (m, H), 4,50-4,75 (m, 2H), 4,90 (d, H), 5,52 (d, H), 6,456,70 (m, 3H), 6,75-6,85 (m, H), 7,10-7,20 (m, 2,3H), 7,30-7,50 (m, 5,7H); Analytická HPLC: 10,55 min pro anti diastereomer a 10,62 min pro syn diastereomer; LC/MS: $m/e = 452$ ($M+H^+$) pro oba diastereomery.

4-Oxo-3-{[1-(2-fenylaminopropionyl)pyrrolidin-2-karbonyl]amino}-butanová kyselina (121)

Sloučenina se připraví ze 151 mg (0,33 mmol) sloučeniny 120 pomocí hydrolýzy podle způsobu A. Získá se 101 mg (výtěžek 83 %) sloučeniny uvedené v názvu ve formě bílé pevné látky. $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteriochloroform/deuteromethanol 1/1): δ 1,20-1,65 (m, 2H), 1,65-2,35 (m, 3H), 2,40-3,00 (m, H), 3,20-3,80 (m, 2H), 3,90-4,90 (m, 7H), 7,25-7,80 (m, 5H); Analytická HPLC: 6,38 min.; LC-MS: $m/e = 362$ ($M+H^+$).

Obecné způsoby pro přípravu sloučenin podle provedení C vzorce I (schémata XXIII-XXV)

Schéma XXIII



Způsob hydrolýzy A:

0,005-50mmol vzorek alkylpaloacetalu se rozpustí v 2,5N kyselině chlorovodíkové v acetonitrilu (10/1) a míchá se při teplotě místnosti dokud neskončí chemická reakce. Vznikající vodná vrstva se promyje dvakrát 20 ml diethyletheru a lyofilizuje se za získání produktu.

Způsob hydrolýzy B:

0,005-50mmol vzorek alkylpaloacetalu se převede do čisté kyseliny mravenčí a míchá se přes noc při teplotě místnosti. Směs se trituruje směsí hexanu a diethyletheru 3:1 a získá se sraženina. Rozpouštědlo se slije a sraženina se promyje diethyletherem a získá se produkt.

Způsob hydrolýzy C:

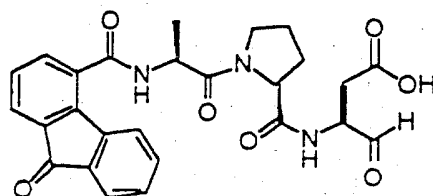
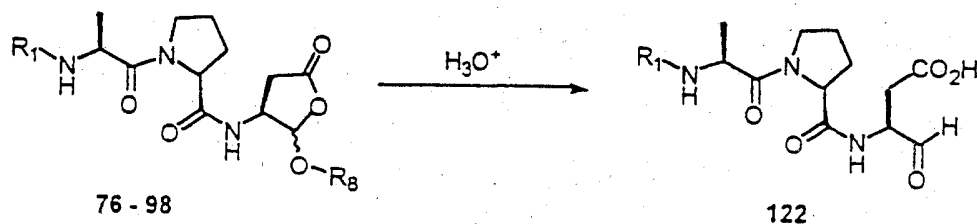
0,005-50mmol vzorek alkylpaloacetalu se rozpustí v methanolu a přidá se 20% $Pd(OH)_2$ na uhlí a míchá se vodíkové atmosféře,

dokud se reakce nedokončí. Získaná suspenze se filtruje a roztok se odpaří ve vakuu, potom se trituruje směsí 3:1 hexanu a diethyletheru a získá se sraženina. Rozpouštědlo se slije a sraženina se promyje diethyletherem a získá se produkt.

Způsob hydrolýzy D:

0,005-50mmol vzorek alkylpaloacetalu ve směsi acetonitrilu a vody (1/2) se protřepává s kyselou pryskyřicí (Dowex 50w x 2, H⁺ typ) dokud se reakce nedokončí. Roztok se filtruje a pryskyřice se promyje směsí acetonitrilu a vody (1/4). Získaná vodná vrstva se promyje diethyletherem, odpaří se do malého objemu ve vakuu, potom se lyofilizuje a získá se produkt.

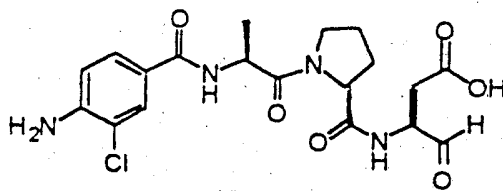
Schéma XXIV:



122a

4-Oxo-3-[(1-{2-[9-oxo-9H-fluoren-4-karbonyl)amino]propionyl}-pyrrolidin-2-karbonyl)amino]butanová kyselina (122a)

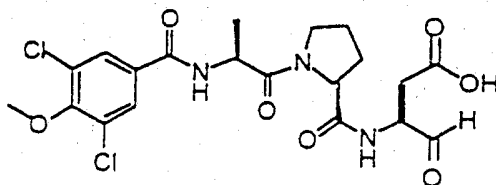
109,0mg (0,19mmol) vzorek sloučeniny 91 se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 88 mg (výtěžek 96 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 7,15 min. LC-MS (ES⁺) m/e=492,2 (M+H).



122b

3-({1-[2-(4-Amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (122b)

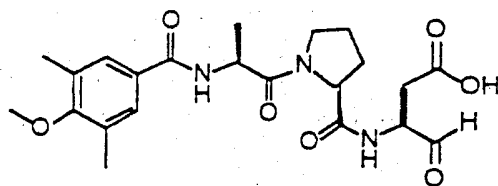
51,0mg (0,096mmol) vzorek sloučeniny 76 se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 43,0 mg (výtěžek 100 %) sloučeniny uvedené v názvu: $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, deuteromethanol/deuterovaná voda: 0,5 ml/10 kapek): δ 1,37-1,52 (m, 3H), 1,80-2,20 (m, 3H), 2,20-2,37 (m, H), 2,49-2,60 (m, H), 2,60-2,75 (m, H), 3,70-3,80 (m, H), 3,80-3,95 (m, H), 4,20-4,35 (m, H), 4,40-4,50 (m, H), 4,50-4,70 (m, H), 4,70-4,85 (m, H), 6,85-6,87 (d, H), 7,58-7,60 (m, H), 7,77 (s, H); retenční čas analytické HPLC: 6,54 min; LC-MS: $m/z = 439$ ($M+H^+$).



122c

3-({1-[2-(3,5-Dichlor-4-methoxybenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (122c)

51,0mg (0,088mmol) vzorek sloučeniny 92 se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 24,0 mg (výtěžek 56 %) sloučeniny uvedené v názvu. Analytická HPLC 6,41 min. LC-MS (ES^+) $m/e=488,3$ ($M+H$).

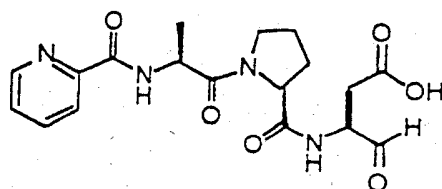


122d

3-({1-[2-(4-Methoxy-3,5-dimethylbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanové kyseliny (122d)

55,0mg (0,102mmol) vzorek sloučeniny 77 se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 44,0 mg (výtěžek 96 %) sloučeniny uvedené

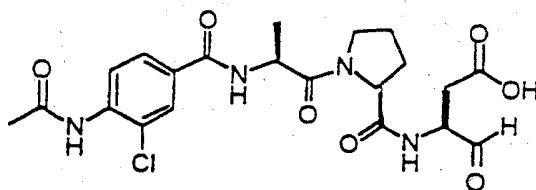
v názvu: analytická HPLC (C18) 8,70 min, ^1H NMR (deuterochloroform, 500MHz): δ 1,23-1,70 (m, 3H), 1,80-2,70 (m, 10H), 2,70-3,15 (m, 2H), 3,58-4,20 (m, 5H), 4,32-5,50 (m, 3H), 5,60-6,00 (m, H), 6,80-7,90 (m, 4H); LC-MS (ES $^+$) m/e=448,2 (M+H).



122e

4-Oxo-3-[(1-{2-[pyridin-2-karbonyl]amino}propionyl)pyrrolidin-2-karbonyl]amino]butanová kyselina (122e)

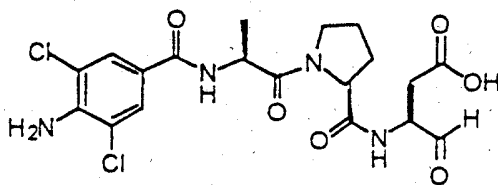
55,0mg (0,114mmol) vzorek sloučeniny 88 se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 30,0 mg (výtěžek 67 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 4,60 min. LC-MS (ES $^+$) m/e=391,3 (M+H).



122f

3-({1-[2-(4-Acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanové kyseliny (122f)

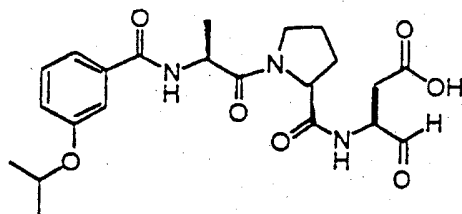
52mg (0,091mmol) vzorek sloučeniny 78 se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 40 mg (výtěžek 91 %) sloučeniny uvedené v názvu: ^1H NMR (500MHz, deuteromethanol) δ 1,08-1,61 (m, 3H), 1,77-2,41 (m, 3H), 2,21 (s, 3H), 2,41-2,77 (m, 2H), 3,43-3,63 (m, 0,3H), 3,65-3,76 (m, 1H), 3,81-3,94 (m, 1H), 4,18-4,34 (m, 1H), 4,42-4,64 (m, 1,7H), 4,77 (kv, 1H), 7,79 (dd, 1H); analytická HPLC 4,97 min. LCMS (ES $^+$) m/e=481,3 (M+H).



122g

3-({1-[2-(4-Amino-3,5-dichlorobenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (122g)

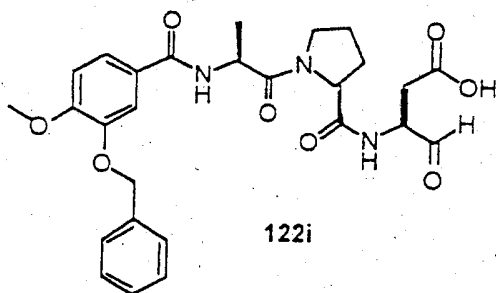
44,3mg (0,079mmol) vzorek sloučeniny 89 se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 30 mg (výtěžek 81 %) sloučeniny uverdené v názvu: analytická HPLC 5,40 min. LC-MS (ES⁺) m/e=473,2 (M+H).



122h

3-({1-[2-(3-Isopropoxybenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (122h)

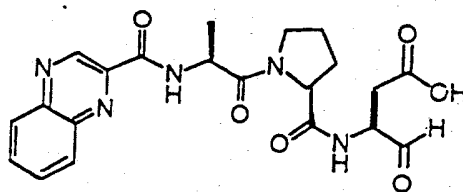
52,0mg (0,097mmol) vzorek sloučeniny 79 se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 30,0mg (výtěžek 69 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 8,92 min. LC-MS (ES⁺) m/e=448,3 (M+H).



122i

3-({1-[2-(3-benzyloxy-4-methoxybenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (122i)

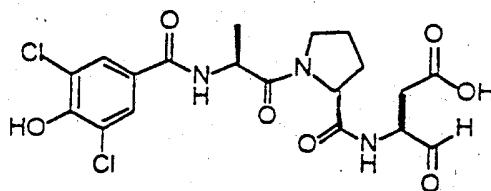
50,8mg (0,082mmol) vzorek sloučeniny 81 se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 22,4mg (výtěžek 52 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 6,72 min. LC-MS (ES⁺) m/e=526,3 (M+H).



122j

4-Oxo-3-[(1-{2-[(chinoxalin-2-karbonyl)amino]propionyl}-pyrrolidin-2-karbonyl)amino]butanová kyselina (122j)

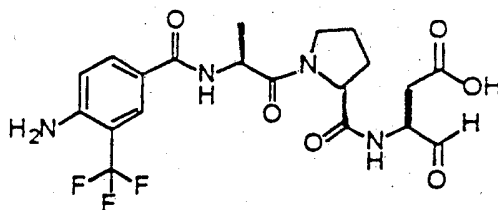
38,0mg (0,072mmol) vzorek sloučeniny 80 se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 32,0 mg (výtěžek 100 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 5,95 min. LC-MS (ES⁺) m/e=442,3 (M+H).



122k

3-({1-[2-(3,5-Dichlor-4-hydroxybenzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (122k)

35mg (0,060mmol) vzorek sloučeniny 83 se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 29,4 mg (výtěžek 75 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 7,91 min. ¹H-NMR (500 MHz, deuteromethanol) δ 1,47 (m, 3H), 1,8-2,3 (m, 4H), 2,49 (m, 1H), 2,61 (m, 1H), 3,5 (šm, 0,2H), 3,69 (šm, 0,9H), 3,84 (šm, 0,9H), 4,27 (m, 1H), 4,46 (m, 1H), 4,57 (m, 1H), 4,73 (m, 1H), 7,83 (m, 2H) ppm, LC-MS (ES⁺) m/e=474,1 (M+H).

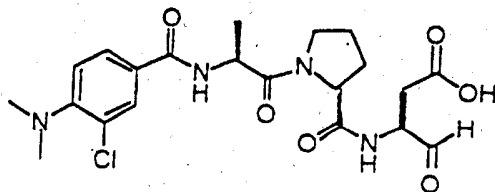


122l

3-({1-[2-(4-Amino-3-trifluormethylbenzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (122l)

pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (122l)

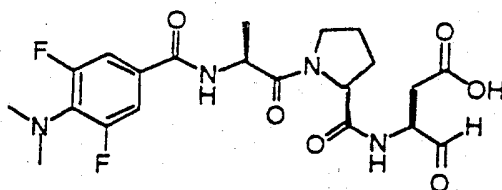
10mg (0,021mmol) vzorek sloučeniny 98w se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 7,9 mg (výtěžek 94 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 6,64 min. LC-MS (ES⁺) m/e=473,3 (M+H).



122m

3-((1-[2-(3-Chlor-4-dimethylaminobenzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (122m)

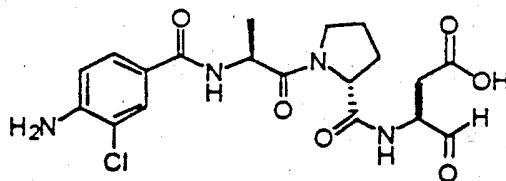
10,0mg (0,021mmol) vzorek sloučeniny 98x se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 7,0 mg (výtěžek 84 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 5,15 min. LC-MS (ES⁺) m/e=467,3 (M+H).



122n

3-((1-[2-(4-Dimethylamino-3,5-difluorobenzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (122n)

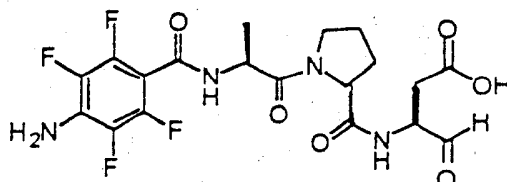
20,0mg (0,043mmol) vzorek sloučeniny 98y se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 16,8 mg (výtěžek 100 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 5,86 min. LC-MS (ES⁺) m/e=469,3 (M+H).



122o

3-({1-[2-(4-Amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (122o)

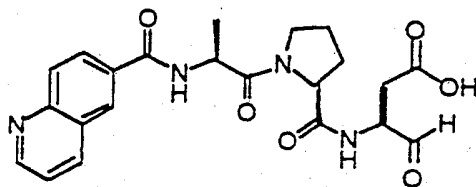
20,0mg (0,046mmol) vzorek sloučeniny 98m se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 16,7mg (výtěžek 100 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 8,47 min. LC-MS (ES⁺) m/e=439,2 (M+H).



122p

3-({1-[2-(4-Amino-2,3,5,6-tetrafluorbenzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (122p)

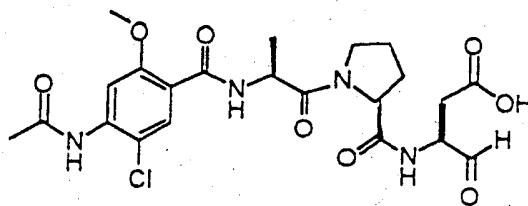
20,0mg (0,042mmol) vzorek sloučeniny 98z se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 15,3mg (výtěžek 91 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 7,90 min. LC-MS (ES⁺) m/e=477,2 (M+H).



122q

4-Oxo-3-[(1-{2-[(chinolin-6-karbonyl)amino]propionyl}-pyrrolidin-2-karbonyl)amino]butanová kyselina (122q)

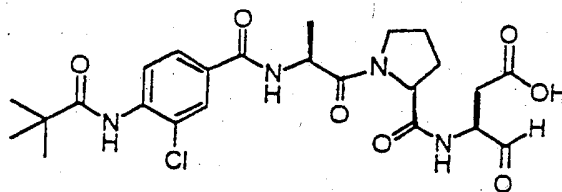
44mg (0,080mmol) vzorek sloučeniny 93 se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 41 mg (výtěžek 100 %) sloučeniny uvedené v názvu: ¹H NMR (500MHz, deuteromethanol) δ 1,24-1,69 (m, 3H), 1,75-2,37 (m, 4H), 2,39-2,87 (m, 2H), 3,46-4,04 (m, 2H), 4,11-4,77 (m, 3H), 8,19 (dd, 1H), 8,33 (d, 1H), 8,56-8,58 (m, 1H), 8,85 (s, 1H), 9,27-9,39 (m, 2H); analytická HPLC 4,91 min. LC-MS (ES⁺) m/e=441,2 (M+H).



122r

3-((1-[2-(4-Acetylamino-5-chlor-2-methoxybenzoylamino)-propionyl]pyrrolidin-2-karbonyl)amino)-4-oxobutanová kyselina (122r)

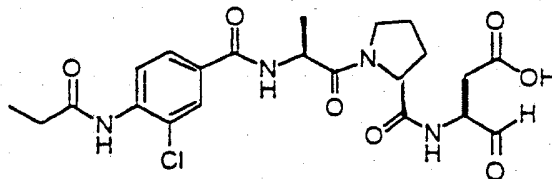
44,5mg (0,074mmol) vzorek sloučeniny 87 se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 34,5 mg (výtěžek 91 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 6,88 min. LC-MS (ES⁺) m/e=511,2 (M+H).



122s

3-((1-[2-(3-Chlor-4-(2,2-dimethylpropionylamino)benzoylamino)-propionyl]pyrrolidin-2-karbonyl)amino)-4-oxobutanová kyselina (122s)

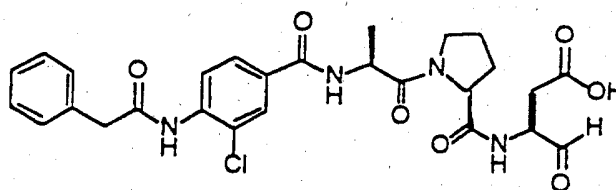
19,0mg (0,036mmol) vzorek sloučeniny 98aa se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 14,5 mg (výtěžek 90 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 7,28 min. LC-MS (ES⁺) m/e=523,3 (M+H).



122t

3-((1-[2-(3-Chlor-4-propionylaminobenzoylamino)propionyl]pyrrolidin-2-karbonyl)amino)-4-oxobutanová kyselina (122t)

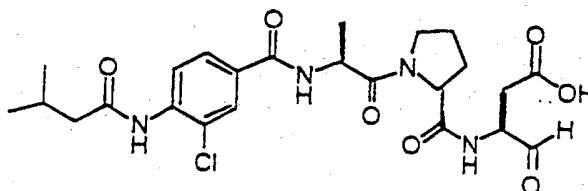
21,0mg (0,042mmol) vzorek sloučeniny 98ab se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 17,5 mg (výtěžek 97%) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 5,72 min. LC-MS (ES⁺) m/e=495,2 (M+H).



122u

3-((1-[2-(3-Chlor-4-fenylacetylaminobenzoylamino)propionyl]-pyrrolidin-2-karbonyl)amino)-4-oxobutanová kyselina (122u)

10,0mg (0,017mmol) vzorek sloučeniny 98ac se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 7,9 mg (výtěžek 85 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 7,52 min. LC-MS (ES⁺) m/e=557,2 (M+H).

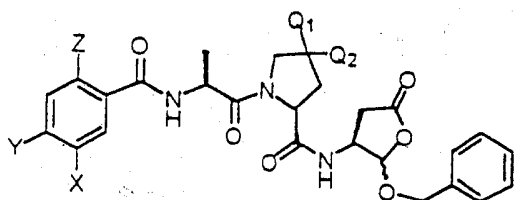


122v

3-[(1-{2-[3-Chlor-4-(3-methylbutyrylamino)benzoylamino]propionyl}pyrrolidin-2-karbonyl)amino]-4-oxobutanová kyselina (122v)

8,0mg (0,015mmol) vzorek sloučeniny 98ad se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 6,5 mg (výtěžek 96 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 6,92 min. LC-MS (ES⁺) m/e=523,2 (M+H).

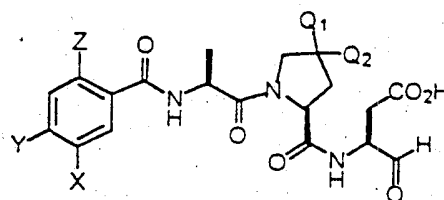
Schéma XXV



108a, X=Cl, Y=NH₂, Z=H, Q₁=F, Q₂=H

116b, X=Cl, Y=AcNH, Z=H, Q₁=Q₂=F

116c, X=Cl, Y=AcNH, Z=CH₃O, Q₁=Q₂=F



123a, X=Cl, Y=NH₂, Z=H, Q₁=F, Q₂=H

123b, X=Cl, Y=AcNH, Z=H, Q₁=Q₂=F

123c, X=Cl, Y=AcNH, Z=CH₃O, Q₁=Q₂=F

3-({1-[2-(4-Amino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4-fluor-pyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (123a)

12,4mg (0,022mmol) vzorek sloučeniny 108b se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 9,6mg (výtěžek 93 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 6,99 min. LC-MS (ES⁺) m/e=473,2 (M+H).

3-({1-[2-(4-Acetylamino-3-chlorbenzoylamino)propionyl]-4,4-difluorpyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (123b)

26,2mg (0,043mmol) vzorek sloučeniny 116b se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 10,8 mg (výtěžek 49 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 9,89 min. LC-MS (ES⁺) m/e=517,2.

3-({1-[2-(4-Acetylamino-3-chlor-2-methoxybenzoylamino)-propionyl]-4,4-difluorpyrrolidin-2-karbonyl}amino)-4-oxobutanová kyselina (123c)

23,1mg (0,036mmol) vzorek sloučeniny 116c se hydrolyzuje podle způsobu A a získá se 1,8mg (výtěžek 9 %) sloučeniny uvedené v názvu: analytická HPLC 11,87 min. LC-MS (ES⁺) m/e=547,1 (M+H).

Biologické způsoby

Za použití způsobů popsaných dále byly získány *in vitro*, *ex vivo* a *in vivo* údaje o vybraných sloučeninách podle předkládaného vynálezu. Výsledky jsou uvedeny v tabulkách 2 až 8. Označení „ND“ znamená, že se sloučenina v uvedeném testu netestovala.

V testech ICE kaspázy znamená kategorie „A“ inhibici <10 nM. Kategorie „B“ znamená inhibici 10 až 100 nM. Kategorie „C“ znamená inhibici >1000 nM. Viz. tabulky 2 a 3.

Při testu PBMC znamená kategorie „A” inhibici <500 nM. Kategorie „B” znamená inhibici 500 až 1000 nM. Kategorie „C” znamená inhibici 1001 až 2000 nM. Kategorie „D” znamená inhibici >2000 nM. Viz tabulka 4.

Při testu úplné krve znamená kategorie „A” inhibici <2500 nM. Kategorie „B” znamená inhibici 2500 až 7500 nM. Kategorie „C” znamená inhibici >7500 nM. Viz tabulka 5.

Při *in situ* metabolickém testu jsou hodnoty $[f(g)) \times f(h)]$ uvedeny následujícím způsobem: kategorie „A” <0,25. Kategorie „B” znamená 0,25 až 0,49. Kategorie „C” znamená 0,5-0,75. Kategorie „D” znamená >0,75. při měření vylučování žluče znamená kategorie „A” < 5 %. Kategorie „B” znamená 5-10 %. Kategorie „C” znamená >10 %. Viz. tabulka 6.

Při i.v. clearance testu jsou hodnoty uvedeny následujícím způsobem: kategorie „A” znamená < 50. Kategorie „B” znamená 50-80. Kategorie „C” znamená > 80. Viz. tabulka 7.

Při testu biologické využitelnosti jsou uvedeny hodnoty C_{max} ($\mu\text{g/ml}$) následujícím způsobem: kategorie „A” znamená < 2,5. Kategorie „B” znamená 2,5-5,0. Kategorie „C” znamená > 5,0. Hodnoty AUC ($\mu\text{g} \times \text{hod/ml}$) jsou uvedeny následujícím způsobem: kategorie „A” znamená < 2,5. Kategorie „B” znamená 2,5-5,0. Kategorie „C” znamená > 5,0. Rozmezí poločasů života (hodiny) jsou uvedeny následujícím způsobem: kategorie „A” znamená < 1,5. Kategorie „B” znamená 1,5-2,0. Kategorie „C” znamená > 2,0. Hodnoty F (%) jsou uvedeny následujícím způsobem: kategorie „A” znamená < 33. Kategorie „B” znamená 33-67. Kategorie „C” znamená > 67. Viz tabulka 8.

In vitro testy

Inhibice enzymu

Hodnoty K_i pro testované sloučeniny s různými kaspázami se získají podle způsobu popsaného v Margolin a kol. (J. Biol. Chem., str. 272 7223-7228 (1997)). Testy se provádějí v 10 mM Tris (Sigma Corp., St Louis MO) pH 7,5, 1 mM dithiothreitolu (DTT, Research Organic INC, Cleveland, OH) a 0,1 % CHAPS (Pierce, Rockford IL) při teplotě 37 °C. Pro kaspázu 3- se pro zlepšení stability enzymu přidá k pufru 8% glycerol. Do 96jamkové mikrotitrační destičky se pipetují 65 μ l alikvoty testového pufru a 5 μ l alikvoty příslušných roztoků inhibitorů v dimethylsulfoxidu, reagují se s 10 μ l kaspázy, potom se zředí testovým puftrem (0,5-40 nM aktivního proteinu pomocí titrace aktivního místa). Pro každé stanovení se použije kontrolní vzorek obsahující dimethylsulfoxid, ale žádnou sloučeninu. Destičky se potom inkubují 15 minut při teplotě 30 °C, potom se přidá 20 μ l příslušného substrátu (konečná koncentrace 1-4 $\times K_m$, konečný objem testu 100 μ l), čímž se zahájí reakce. Reakční rychlost se měří při 37 °C buď sledováním vzrůstu absorbance závislého na čase při 405 nm (pro substráty pNA) nebo fluorescence (Ex 390, Em 460) (pro substráty AMC). Získané rychlosti se vynesou proti koncentraci inhibitoru a upraví se podle Morrisonovy rovnice síly vazby pro kompetitivní inhibitory (Morrison, J.F., Biochem, Biophys. Acta, str. 185, 269-286 (1969)). Pro jednotlivé testy se použijí následující substráty:

Kaspáza-1 Suc-YVAD-pNA (Bachem, King of Prussia, PA) (konečná koncentrace při testu 80 μ M),

Kaspáza-3 Ac-DEVD-pNA (Bachem, King of Prussia, PA) (konečná koncentrace při testu 60 μ M),

Kaspáza-4 Ac-WEHD-AMC (Synpep, Dublin, CA) (konečná koncen-

trace při testu 20 μM),

Kaspáza-7 Ac-DEVD-AMC (Bachem, King of Prussia, PA) (konečná
koncentrace při testu 50 μM),

Kaspáza-8 Ac-DEVD-pNA (Bachem, King of Prussia, PA) (konečná
koncentrace při testu 80 μM),

Tabulka 2: Údaje o inhibici kaspázy-1

Příklad	Kaspáza-1 K_i (nM)
5a	A
5b	A
5c	A
5d	A
5e	B
5f	B

Příklad	Kaspáza-1 Ki (nM)
5g	B
5h	A
5i	A
5j	A
5k	A
5l	B
5m	A
5n	A
5o	B
5p	B
5q	B
5r	B
5s	B
5t	C
5u	B
5v	B
5w	B
5x	A
5y	A
5z	A
5aa	A
5ab	B
5ac	A
5ad	A
5ae	B
5af	B
5ag	A
5ah	B
5ai	A
5aj	B
5ak	B

Příklad	Kaspáza-1 Ki (nM)
5al	A
5am	A
5an	B
5ao	B
5ap	B
5aq	B
5ar	A
5as	A
5at	B
5au	B
5av	B
5aw	A
5ax	A
5ay	A
5az	A
5ba	A
5bb	A
5bc	B
5bd	A
7a	A
7b	B
7c	A
7d	A
7e	B
7f	B
7g	A
7h	B
7i	B
7j	C
7k	B
7l	B

Příklad	Kaspáza-1 Ki (nM)
7m	B
7n	B
7o	A
7p	A
7q	B
7r	B
7s	B
7t	B
7u	B
7v	B
7w	A
7x	B
7y	B
7z	B
7aa	A
7ab	B
7ac	B
7ad	B
7ae	B
7af	B
7ag	B
7ah	A
7ai	A
7aj	A
7ak	A
7al	B
7am	A
7an	A
7ao	B
7ap	B
7aq	B

Příklad	Kaspáza-1 Ki (nM)
7ar	A
7as	A
7at	A
9a	B
9b	A
9c	A
9d	A
9e	A
9f	A
9g	A
15a	A
15b	A
15c	A
15d	B
15e	B
15f	B
16a	B
16b	A
17a	B
17b	B
17c	A
17d	B
17e	B
18a	B
18b	A
18c	B
18d	B
18e	A
18f	B
20a	A
20b	A

Příklad	Kaspáza-1 Ki (nM)
20c	A
20d	B
20e	A
20f	A
20g	A
20h	A
20i	B
20j	B
20k	A
20l	A
20m	A
20n	A
20o	A
20p	A
20q	B
20r	B
20s	A
20t	B
23a	A
23b	B
23c	A
23d	A
23e	A
23f	B
23g	A
23h	A
23i	B
24a	A
24b	C
24c	A
24d	B

Příklad	Kaspáza-1 Ki (nM)
24e	B
25a	A
25b	A
25c	A
25d	A
25e	A
26a	A
26b	A
26c	A
26d	A
26e	A
26f	A
26g	A
26h	A
27a	B
27b	B
27c	B
27d	A
27e	B
27f	B
27g	A
27h	B
27i	B
27j	B
27k	B
27l	B
27m	B
27n	B
28a	A
28b	A
28c	A

Příklad	Kaspáza-1 Ki (nM)
29a	A
29b	A
29c	A
29d	A
29e	A
29f	A
29g	A
29h	A
29i	A
29j	A
29k	A
29l	B
29m	A
29n	B
29o	B
29p	A
29q	A
29r	A
29s	B
32a	C
32b	C
32c	C
32d	C
32e	B
34	C
G1	C
G2	B
42	B
46b	A
46a	C
57	A

Příklad	Kaspáza-1 Ki (nM)
65	A
61	A
69	A
73	A
121	C
122a	A
122b	A
122c	A
122d	A
122e	B
122f	A
122g	A
122h	B
122i	A
122j	B
122k	A
122l	B
122m	B
122n	B
122o	C
122p	A
122q	B
122r	B
122s	B
122t	B
122u	A
122v	B
123a	B
123b	B
123c	B

Tabulka 3: Údaje o inhibici kaspázy-3, kaspázy-4 a kaspázy-8

Příklad	Kaspáza-3 Ki (nM)	Kaspáza-4 Ki (nM)	Kaspáza-8 Ki (nM)
7c	C	ND	C
7d	C	ND	B
7f	C	ND	C
24a	C	ND	ND
29a	C	ND	ND
29b	C	ND	ND
32d	B	ND	ND
46b	B	ND	ND
69	C	ND	B
122b	C	A	B
122d	C	A	C
122f	C	ND	B
122k	C	ND	B

PBMC buněčný test

Test IL-1 β se smíšenou populací mononukleárních buněk lidské periferní krve (PBMC) nebo mononukleárních obohacených adherentních buněk

Zpracování pre-IL-1 β pomocí ICE se může měřit v buněčné kultuře za použití různých zdrojů buněk. Lidské PBMC získané od zdravých dárců poskytují smíšenou populaci subtypů lymfocytů a monojaderných buněk, které poskytují spektrum interleukinů a cytokinů jako odezvu na mnoho tříd fyziologických stimulatorů. Adherentní monojaderné buňky z PBMC nabízejí obohacený zdroj normálních monocytů pro selektivní studii produkce cytokinů aktivovanými buňkami.

Experimentální postup:

Připraví se počátečná série roztoků testované sloučeniny v dimethylsulfoxidu, potom se zředí do RPMI-10% FBS média

(obsahujícího 2 mM L-glutaminu, 10 mM HEPES, 50 U a 50 µg/ml pen/strep) v tomto pořadí a získají se léčiva o čtyřnásobné koncentraci, než je konečná koncentrace, obsahující 0,4 % dimethylsulfoxidu nebo 0,4 % ethanolu. Konečná koncentrace dimethylsulfoxidu je 0,1 % pro všechny roztoky léčiv. Pro počáteční screening sloučeniny se obvykle použije titrace koncentrace, která vymezuje zjevné K_i pro testované sloučeniny určené při testu inhibice ICE.

Obvykle se testuje 5-6 roztoků sloučeniny a buněčná složka testů se provádí dvojnásobně, při dvojnásobném ELISA stanovení u každého supernatantu buněčné kultury.

Izolace PBMS a test IL-1

Buňky „buffy coat“ izolované z jedné pinty (0,473 l) lidské krve (získá se konečný objem 40-45 ml plazmy plus buněk) se zředí médiem na 80 ml a dělí se do zkumavky LeukoPREP (Becton Dickinson) se převrství vždy 10 ml suspenze buněk. Po 15 minutách odstředování při 1500-1800xg se vrstva plazma/médium odsaje a potom se Pasteurovou pipetou odebere vrstva mononukleárních buněk a převede se do 15ml kuželovité odstředovací zkumavky (Corning). Přidá se médium do konečného objemu 15 ml, buňky se pomocí obrácení opatrně promíchají a odstřeďuje se 15 minut při 300xg. PBMC peleta se resuspenduje v malém objemu média, buňky se spočítají a upraví se na 6×10^6 buněk/ml.

Pro buněčný test se do každé jamky 24jamkové mikrotitrační destičky pro tkáňové kultury s plochým dnem (Corning) přidá 1,0 ml suspenze buněk, 0,5 ml roztoku testované sloučeniny a 0,5 ml roztoku LPS (Sigma #L-3012; 20 ng/ml roztok připravený v úplném RPMI médiu; konečná koncentrace LPS 5 ng/ml). Přidání 0,5 ml testované sloučeniny a LPS je obvykle dostačující pro promíchání obsahu jamek. Pro pokus se použijí tři kontrolní

směsí buď s LPS samotným, kontrolním rozpouštědlem a/nebo dalším médiem pro úpravu konečného objemu kultury na 2,0 ml. Buněčné kultury se inkubují 16-18 hodin při 37 °C v přítomnosti 5 % oxidu uhličitého.

Na konci doby inkubace se buňky sklídí a převedou se do 15ml kuželovité odstředovací zkumavky. Po 10 minutách odstředování při 200 xg se supernatanty sklídí a převedou se do 1,5 ml Eppendorfových zkumavek. Je třeba poznamenat, že buněčná peleta se může použít při biochemickém testování pre-IL-1 β a/nebo maturovaného IL-1 β v cytosolových extraktech pomocí Westernového přenosu nebo ELISA se specifickými protilátkami pre-IL-1 β .

Izolace adherentních monojaderných buněk:

PBMC se izoluje a připraví podle postupu pospaného výše. Do jamek se nejprve přidá 1,0 ml média, potom 0,5 ml suspenze PBMC. Po 1 hodině inkubace se destičky opatrně protřepou a z každé jamky se odsají neadherentní buňky. Buňky se potom opatrně třikrát promyjí 1,0 ml média a nakonec se suspendují v 1,0 ml média. Obohacení na adherentní buňky obvykle poskytne 2,5-3,0 x 10⁵ buněk na jamku. Přidání testovaných sloučenin, LPS, podmínky inkubace buněk a zpracování supernatantů probíhá podle postupu popsaného výše.

ELISA:

Pro měření maturovaného IL-1 β se může použít sada Quantikin (R&D Systems). Testy se provádějí podle doporučení výrobce. Pozorují se hladiny maturovaného IL-1 β asi 1-3 ng/ml v PBMC a pozitivním kontrolním vzorku monojaderných buněk. ELISA test se provádí při zředěních supernatantů 1:5, 1:10 a 1:20 z LPS pozitivní kontroly, čímž se vybere optimální zředění superna-

tantů v testovém poli.

Inhibiční účinnost sloučenin se může prezentovat hodnotou IC_{50} , což je koncentrace inhibitoru, při které se v supernatantu detekuje 50 % maturovaného IL-1 β ve srovnání s pozitivní kontrolou.

Odborníkům v této oblasti je zřejmé, že hodnoty získané při testech mohou být závislé na mnoha faktorech. Hodnoty nemusí nutně představovat kvantitativní výsledky.

Tabulka 4: Údaje z PBMC buněčného testu

Příklad	PBMC IC_{50} (nM)
5a	D
5b	B
5c	B
5d	B
5e	B
5f	C
5g	C
5h	A

Příklad	PBMC IC50 (nM)
5i	C
5j	D
5k	D
5l	A
5m	A
5n	B
5r	D
5s	B
5u	C
5v	D
5w	B
5x	B
5y	B
5z	B
5aa	B
5ab	B
5ac	A
5ad	A
5ag	B
5ai	A
5aj	B
5ak	B
5al	D
5am	D
5ao	D
5aq	D
5ar	D
5as	D
5at	D
5au	D
5av	D

Příklad	PBMC IC50 (nM)
5aw	C
5ax	B
5ay	B
5az	B
5ba	C
5bb	B
5bd	C
7a	D
7b	B
7c	A
7d	A
7e	D
7f	D
7g	A
7h	B
7k	B
7l	B
7m	B
7n	B
7o	A
7p	D
7q	D
7s	B
7t	D
7u	D
7v	D
7w	C
7x	D
7y	D
7z	C
9a	B

Příklad	PBMC IC50 (nM)
9b	B
9c	A
9d	B
9e	C
9f	B
9g	C
15a	D
15b	C
15c	B
15d	C
15e	D
15f	D
16a	A
16b	C
17b	C
17c	D
17d	D
17e	B
18a	B
18b	B
18c	B
18d	B
18e	C
18f	D
20a	B
20b	B
20c	C
20d	D
20e	C
20f	B
20g	A

Příklad	PBMC IC50 (nM)
20h	A
20i	B
20j	D
20k	A
20l	B
20m	B
20n	B
20o	A
20p	A
20q	B
20r	B
20s	C
20t	B
23a	C
23b	B
23c	C
23d	B
23e	B
23f	C
23g	C
23h	C
23i	A
24a	B
24b	D
24c	A
24d	B
24e	C
25a	A
25b	B
25c	B
26a	C

Příklad	PBMC IC50 (nM)
26b	B
26c	B
26d	B
26e	A
26f	A
26g	A
26h	A
27a	A
28a	B
28b	B
28c	B
29a	A
29b	C
29c	B
29d	B
29e	A
29g	B
29h	A
29i	A
29j	B
29k	A
29l	B
29m	B
42	D
46b	D
57	B
65	B
61	B
69	A
73	B
122a	D

Příklad	PBMC IC ₅₀ (nM)
122b	B
122c	D
122d	B
122e	C
122f	B
122g	B
122h	C
122i	C
122j	D
122k	A
122l	B

Test úplné krve na produkci IL-1 β

Hodnoty IC₅₀ sloučenin podle předkládaného vynálezu při testu úplné krve se získají pomocí způsobů popsanych níže:

Záměr:

Test úplné krve je jednoduchý způsob pro měření produkce IL-1 β (nebo jiných cytokinů) a aktivity potenciální inhibitorů. Komplexnost tohoto testovacího systému, s plným obsazením typů lymfoidních a zánětlivých buněk, spektrem plazmových proteinů a červených krvinek, je ideální *in vitro* simulací lidských *in vivo* fyziologických podmínek.

Materiály:

Stříkačky prosté pyrogenu (asi 30 cm³)

Sterilní vakuové zkumavky prosté pyrogenu obsahující lyofilizovaný Na₂EDTA (4,5 mg/10ml zkumavku)

Vzorek úplné lidské krve (asi 30-50 cm³)

1,5ml Eppendorfovy zkumavky

Zásobní roztoky testované sloučeniny (25 mM v dimethylsulfoxidu nebo jiném rozpouštědle

Roztok chloridu sodného (0,9%) a HBSS prostý endotoxinu

Zásobní roztok lipopolysacharidu (Sigma; kat. č. # L-3012) při 1 mg/ml v HBSS

IL-1 β ELISA sada (R&D Systems; kat. č. # DLB50)

TNF α ELISA sada (R&D Systems; kat. č. # DTA50)

Vodní lázeň nebo inkubátor

Experimentální postup testu úplné krve:

Inkubátor nebo vodní lázeň se nastaví na teplotu 30 °C. Do 1,5ml Eppendorfových zkumavek se umístí alikvot 0,25 ml krve.

Poznámka: je třeba zajistit převrácení zkumavky se vzorkem úplné krve po každých dvou alikvotech. Pokud se buňky usadí a nejsou jednotně suspendované, mohou vzniknout rozdíly mezi opakovanými stejnými pokusy. Tyto rozdíly mezi opakovanými alikvoty lze také minimalizovat použitím pipety s plastovou jednorázovou špičkou.

Pomocí série zředění se připraví roztoky léčiva ve sterilním salinu prostém pyrogeneru. Pro počáteční screening sloučeniny se obvykle použije série roztoků, která vymezuje zjevné K_i pro testovanou sloučeninu určené při testu inhibice ICE. Pro mimořádně hydrofobní sloučeniny se připraví roztoky v čerstvé plasmě získané od stejného dárce krve nebo v 5% dimethylsulfoxidu obsahujícím PBS, čímž se zvýší rozpustnost.

Přidá se 25 μ l roztoku testované sloučeniny nebo kontrolního vehikula a vzorek se opatrně promíchá. Potom se přidá 5,0 μ l roztoku LPS (250 ng/ml čerstvě připraveného zásobního roztoku: konečná koncentrace LPS 5,0 ng/ml) a vzorek se opět promíchá. Zkumavky se za občasného míchání inkubují při 30 °C ve vodní lázni 16-18 hodin. Alternativně se mohou zkumavky na stejný inkubační čas umístit do otočné sady při 4 otáčkách za minutu.

Tento test se může provést dvojnásobně až trojnásobně s následujícími kontrolními vzorky: negativní kontrola - bez LPS; pozitivní kontrola - bez testovaného inhibitoru; kontrolní vehikulum - nejvyšší koncentrace DMSO nebo rozpouštědla sloučeniny použitého při pokusu. Ke kontrolním zkumavkám se přidá další salin, čímž se normalizují objemy pro kontrolní a experimentální vzorky úplné krve.

Po inkubační době se vzorky úplné krve odstřeďují 10 minut při 2000 otáčkách za minutu, plazma se převede do čerstvé odstřeďovací zkumavky a odstřeďuje se při 1000 x g, aby se odstranily zbývající destičky, pokud je to nutné. Vzorky plazmy se mohou před testem na hladinu cytokinu pomocí testu ELISA zmrazit na -70 °C.

ELISA:

Pro měření IL-1 β a TNF- α se může použít sada Quantikin R & D Systems (614 McKinley Place N.E. Minneapolis, MN 55413). Testy se provádějí podle instrukce výrobce. V pozitivních kontrolních vzorcích se pozorují hladiny IL-1 β 1-5 ng/ml. Aby výsledky ELISA spadaly do lineárního rozmezí standardních křivek ELISA, je obvykle dostačující zředění plazmy pro všechny vzorky 1:200. Pokud se pozorují rozdíly při testu úplné krve, může být nutné optimalizovat standardní zředění. Nerad, J.L. a kol., J. Leukocyte Biol., 52, str. 687-692 (1992).

Tabulka 5: Údaje z testu úplné krve

Příklad	Úplná krev IC ₅₀ (nM)
5a	A
5b	A
5c	A
5d	B
5e	A
5f	B
5h	A
5i	C
5j	C
5k	B
5l	C
5m	A
5n	B
5r	C
5s	C
5u	A
5w	A
5x	A
5y	B
5z	C
5aa	A
5ab	B
5ac	A
5ad	A
5ag	B
5ai	C
5aj	C
5ak	C
5ax	B
5ay	B

Příklad	Úplná krev IC ₅₀ (nM)
5az	A
5bb	B
7a	B
7b	A
7c	A
7d	B
7e	C
7f	B
7g	B
7h	A
7k	A
7l	A
7m	B
7n	A
7o	A
7p	B
7q	A
7s	B
7t	B
7u	B
7v	A
7w	A
7x	C
7y	C
7z	A
7aa	B
7ab	A
7ac	B
7ad	B
7ah	B
7ai	B

Příklad	Úplná krev IC ₅₀ (nM)
7aj	C
7ak	B
7am	B
7an	B
7ao	B
7ap	C
9a	B
9b	B
9c	A
9d	A
9e	B
9f	A
9g	B
15a	B
15b	B
15c	A
16b	A
18a	A
18b	A
18c	A
18d	A
18e	A
18f	B
20a	A
20b	C
20c	B
20d	B
20e	B
20f	A
20g	A
20h	A

Příklad	Úplná krev IC ₅₀ (nM)
20i	A
20k	A
20l	A
20m	A
20n	A
20o	A
20p	A
20q	C
20r	B
20s	A
20t	A
23a	B
23b	B
23c	B
23d	A
23e	B
23f	A
23g	A
23h	A
23i	B
24a	B
24c	B
24d	B
24e	B
25a	B
25b	B
25c	B
25d	A
25e	C
26c	B
26d	A

Příklad	Úplná krev IC ₅₀ (nM)
26e	A
26f	B
26g	B
26h	A
27a	A
27b	A
27d	A
27e	A
27f	B
27g	B
27h	B
27i	B
27l	B
27m	B
27n	A
28a	B
28b	B
28c	C
29a	A
29c	A
29d	A
29e	A
29g	A
29h	A
29i	A
29j	A
29k	A
29l	A
29n	B
29o	A
29p	A

Příklad	Úplná krev IC ₅₀ (nM)
29q	A
29r	A
29s	A
G2	B
42	B
46b	B
57	C
65	A
61	A
69	A
73	A
122a	A
122b	A
122c	B
122d	A
122e	B
122f	A
122g	A
122h	A
122i	A
122j	B
122k	A
122l	A
122m	B
122p	B
122q	B
122r	B
122s	B
123a	A
123b	B

Ex vivo testy

Metabolismus a vylučování

Pro testování metabolismu gastrointestinální stěny (GI), metabolismu jater ($f(h)$) a vylučování žluči se provádí studie u krys jednocestná perfuzní studie. Použitý způsob je popsán v Pang C. S., J. Pharmacol. Exp. Therapeutics, 333, str. 788-798 (1984).

Tabulka 6: Údaje o metabolismu a vylučování

Příklad	$f(g) \times f(h)$	Vylučování žluči
5c	A	C
5k	B	A
5m	B	C
7d	D	A
7f	C	A
7ac	C	C
18f	D	A
20f	B	C
20g	B	A
23b	B	B
24a	C	A
24c	A	C
24e	A	C
25d	C	C
25e	C	B
26c	A	C
26e	B	B
26f	A	C
27a	C	A
27b	B	A
29b	A	B

Příklad	f(g)Xf(h)	Vylučování žluči
29g	B	B
29n	C	A
29o	C	A
29p	B	C
29q	C	A
29r	C	B
46b	B	C
57	B	B
65	B	C
69	C	A
122a	B	A
122b	C	A
122c	C	B
122d	C	A
122r	B	A

In vivo testy

In vivo test clearance u krys - rychlost clearance

Rychlost clearance u krys (ml/min/kg) pro sloučeniny podle předkládaného vynálezu se může určit pomocí způsobů popsaných níže:

Reprezentativní postup

Jeden den před farmakokinetickou studií se kanylují krční žíla a tepna. M. J. Free, R.A. Jaffee; „Cannulation techniques for the collection blood and other bodily fluids“; Animal Models; str. 480-495; N.J. Alexander; Ed.; Academic Press; (1978). Pomocí krční žíly se podává 10 mg léčiva na ml v nosiči, který obvykle obsahuje: propylenglykol/salin obsahující 100 mM hydrogenuhličitanu sodného v poměru 1:1. Zvířata se dávkuje 10 až 20 mg léčiva/kg a vzorky krve se odebírají v čase 0, 2, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 60 a 90 minut ze zbývajících katétru v krční

tepně. Vzorky krve se odstředí na plazmu a skladují se před analýzou při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Farmakokinetická analýza údajů se provádí pomocí nelineární regrese za použití standardního software, jako je Rstrip (MicroMath Software, UT) a/nebo Pcnonlin (SCI Software, NC), čímž se získají údaje o clearance.

Reprezentativní provedení analýzy:

Plazma krys se extrahuje v ekvivalentním objemu acetonitrilu (obsahujícím 0,1% kyselinu trifluoroctovou). Vzorky se potom odstřeďují přibližně při $1\,000 \times g$ a supernatant se analyzuje za použití gradientní HPLC. Typický postup testu je popsán dále.

200 μl plazmy se sráží s 200 μl 0,1% kyseliny trifluoroctové (TFA) v acetonitrilu a 10 μl 50% vodného roztoku chloridu zinečnatého, promíchá se a odstřeďuje se při $1000 \times g$ a supernatant se odebere a analyzuje se pomocí HPLC.

Postup HPLC:

Kolona: Zorbac SB-CN (4,6 x 150 mm) (velikost částic 5 μm)

Teplota na koloně: $50\text{ }^{\circ}\text{C}$

Průtok: 1,0 ml/min

Objem nástřiku: 75 μl

Mobilní fáze: A=0,1% TFA ve vodě a B=100% acetonitril

Použitý gradient: 100 % A až 30 % A v 15,5 min., 0 % A v 16 min., 100 % A v 19,2 min.

Vlnová délka: 214 nm

Standardní křivka se získá při koncentraci 20, 10, 5, 2 a 1 $\mu\text{g/ml}$.

Tabulka 7: Údaje o clearance

Příklad	Test clearance u krys i.v. (ml/min/kg)
7d	A
7f	B
20h	B
20m	A
65	C
122b	B
122c	C
122d	B
122f	A

Biologická využitelnost**Perorální farmakokinetická studie**

Samci krys Sprague-Dawley (Harlan, Indianapolis, IN, 300-350 g) se anestetizují nitrosvalovou injekcí směsi ketaminu/rompunu. Do pravé krční tepny se vloží kanyla PE-50, pomocí které se odebírají vzorky krve. Krysy se před použitím při studii nechají zotavit z chirurgického zákroku přes noc (≥ 16 hodin). Testované sloučeniny se perorálně podávají v 25% Cremophor EL/voda (hmotnostně) nebo 100% propylenglykolu (PG) v objemu dávky 10 ml/kg. Vzorky krve (asi 0,30 ml) se odebírají v 0,25, 0,50, 1,0, 1,5, 2, 3, 4, 6, a 8 hodinách po dávkování, plazma se oddělí odstředěním a před analýzou se skladuje při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Kvantitativní hodnocení vzorků plazmy se provede za použití gradientní HPLC/MS/MS nebo pomocí enzymatického způsobu popsaného dále:

HPLC/MS/MS způsob kvantitativního hodnocení ICE inhibitorů v plazmě krys

Příprava vzorku

- do Eppendorfových odstředovacích viálek se dávkuje alikvotní díly 50 μ l plazmy,
- k plazmě se pro vysrážení plazmových proteinů přidá stejný objem acetonitrilu,
- vzorky se 5 minut míchají a odstřeďují se 5 minut při 14 000 otáčkách za minutu,
- do 12 mm HPLC viálek na kapalné vzorky se umístí 75 μ l supernatantu,
- pro analýzu prostřednictvím hmotového spektrometru se nastříkuje 50 μ l vzorek.

Instrumentální parametry HPLC:

HPLC: Hewlet Packard HP1100 Binary Solvent Delivery System.

Podmínky HPLC gradientu:

A = voda 0,2 % kyseliny mravenčí

B = acetonitril 0,2 % kyseliny mravenčí

Mobilní fáze:

Čas	% A	% B
0	100	0
2	100	0
5	0	100
11	0	100
11,5	100	0
17	100	0

HPLC analytická kolona: Keystone Phenyl -2 Hypersil 2,0x100

mm, 5 μ 120 A velikost pórů, P/N # 105-39-2

Objem nástřiku: 50 μ l

Průtok: 0,20 ml/min

Instrumentální parametry hmotové spektrometrie:

Zařízení: P E Sciex API-365 Tandem Mass Spectrometer

Způsob ionizace: Turbo-ionspray (ESI)

Polarita: pozitivní

Klidová doba: 300 msec

Doba přerušení: 5 msec

Doba skenování: 0,9 sec

Skenovací mód: MRM (Multiple Reaction Monitoring)

ICE enzymatický test pro určení množství inhibitorů ICE v plazmě krys

50 μ l plazmy se extrahuje 150 μ l acetonitrilu, zpracuje se ultrazvukem, míchá se, odstředí se při 10 000 x g a 150 μ l supernatantu se suší při teplotě místnosti za míchání v odparce Sorvall. Vzorky se rekonstruují v 100 μ l pufru (10 mM tris-HCl, pH 7,5 s 0,1 % CHAPS, 1 mM DTT) za současného zpracovávání ultrazvukem. 10 μ l každého vzorku se smísí s 10 μ l ICE (1,1 mg/ml) v mikrotitrační destičce s 60 μ l pufru. Vzorky se inkubují 15 minut při teplotě místnosti, potom se přidá 20 μ l Succ YVAD-pNA (400 μ M, předeštěno na 37 °C) a destičky se monitorují 20 minut při 405 nm při 37 °C za použití počítadla SpectraMax. Údaje se zpracují za použití čtyřparametrové rovnice se Software SpectraMax za použití extrahované standardní křivky. Testy jsou lineární od 0,15 do 2,0-3,0 μ g/ml aldehydu.

Farmakokinetické parametry:

Farmakokinetická analýza těchto údajů o koncentraci v plazmě

se provádí za použití nedělených způsobů. Plocha pod křivkou ($AUC_{(0-t)}$) se určí z času nula do posledního měřeného časového okamžiku za použití lineárního lichoběžníkového pravidla. Rychlost eliminace (k_e) se určí pomocí nelineární regrese z poslední fáze křivky koncentrace plazmy a času. Plocha pod koncem křivky se určí jako poměr poslední měřené koncentrace ku k_e . Plocha pod křivkou od času nula k afinitě ($AUC(0-\infty)$) se získá přičtením plochy pod koncem k $AUC(0-t)$. Poločas eliminace se určí jako $0,693/k_e$. Zaznamenají se pozorované hodnoty pro pík koncentrace plazmy (C_{max}). Pro studii proléčiva: využitelnost aldehydu (biologická využitelnost) se vypočte následujícím způsobem: $(AUC_{ald}/\text{proléčivo p.o.})/(AUC_{ald}/\text{ald i.v.}) \times (\text{dávka ald, ald i.v.}/\text{dávka proléčiva, proléčivo p.o.}) \times (\text{MW proléčiva}/\text{MW aldehydu})$.

Tabulka 8: Údaje o biologické využitelnosti

Příklad	C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	AUC ($\mu\text{gXh/mL}$)	$t_{1/2}$ (hod)	F (%)
56	A	B		A
45	A	B		
90	C	C	A	C
85	A	B	B	A
68	A	C	B	
76	C	C	C	
77	B	B	A	A
78	A	A	B	A
89	B	C	C	
83	A	C	C	

Příklad	Cmax ($\mu\text{g/mL}$)	AUC ($\mu\text{gXh/mL}$)	t 1/2 (hod)	F (%)
98d	A	A	B	
98h	A	C	B	
98e	C	C	B	
98c	B	C	C	
98k	B	C	B	
98ae	A	A	B	
98af	A	A	B	
98b	C	C	B	
111	A	A	C	
98o	A	A	B	
108a	A	A	B	
98ag	C	C	B	C
98a	B	B	C	
98am	A	A	B	
116a	C	C	B	
98an	A	A	B	
116g	A	A	C	
116h	A	A	B	
116e	A	A	B	
108b	A	A	B	

Antivirové testy

Účinnost sloučenin podle předkládaného vynálezu při léčení nebo prevenci virových onemocnění, poruch nebo stavů, se může určit pomocí různých *in vitro* a *in vivo* testů. Mohou se například provádět testy pro určení schopnosti těchto sloučenin inhibovat zánětlivé odezvy spojené s virovými infekcemi. Při *in vitro* testech se mohou využít úplné buňky nebo izolované části buněk. *In vivo* testy zahrnují zvířecí modely virových onemocnění.

Mezi příklady těchto zvířecích modelů patří modely HBV nebo

HCV infekcí u hlodavců, model HBV infekce u sviště lesního a model HCV infekce u šimpanze.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu se mohou také hodnotit na zvířecích modelech nadměrného příjmu alkoholu v potravě, vynález se však neomezuje pouze na tyto příklady.

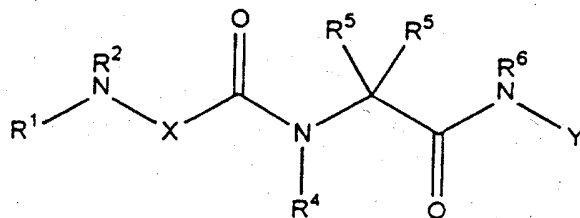
Další testy, které se mohou použít pro hodnocení sloučenin podle předkládaného vynálezu, jsou popsány v PCT patentové přihlášce PCT/US96/20843, zveřejněné 26. června 1997 po číslem WO 97/22619. Mezi tyto testy patří *in vivo* farmakokinetické studie u myší, inhibice homologů ICE, inhibice apoptózy, *in vivo* akutní test na protizánětlivou účinnost, měření hladiny léčiva v krvi, testy IGIF, karagénový peritoneální zánětlivý test u myší a arthritida vyvolaná kolagenem typu II.

Protože jsou sloučeniny podle předkládaného vynálezu schopné inhibovat kaspázu, zejména ICE, *in vitro* a dále se mohou podávat orálně savcům, jsou zjevně klinicky využitelné pro léčení onemocnění zprostředkovaných IL-1, apoptózou, IGIF a IFN- γ .

Přestože bylo popsáno mnoho provedení podle předkládaného vynálezu, je zřejmé, že se naše základní konstrukce mohou změnit za získání jiných provedení, která využívají produkty a způsoby podle předkládaného vynálezu.

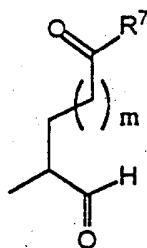
P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Sloučenina vzorce I:



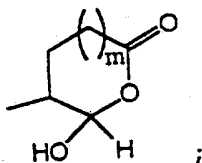
kde Y je:

(a)



pod podmínkou, že pokud R^7 je hydroxylová skupiny, potom Y může být také:

(b)



X je skupina $-C(R^3)_2-$ nebo skupina $-N(R^3)-$;

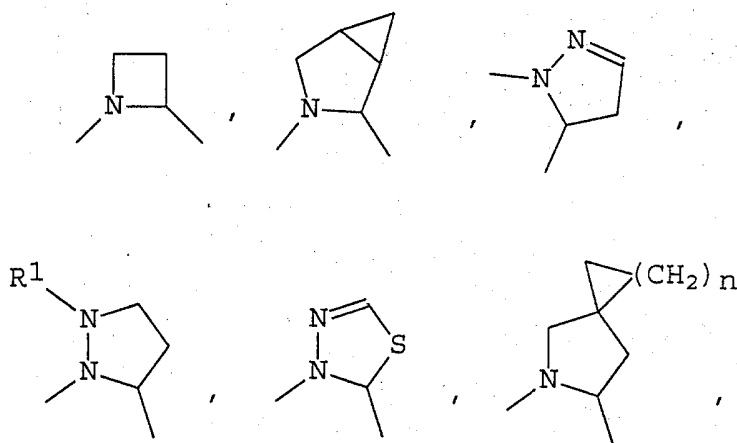
m je 0 nebo 1;

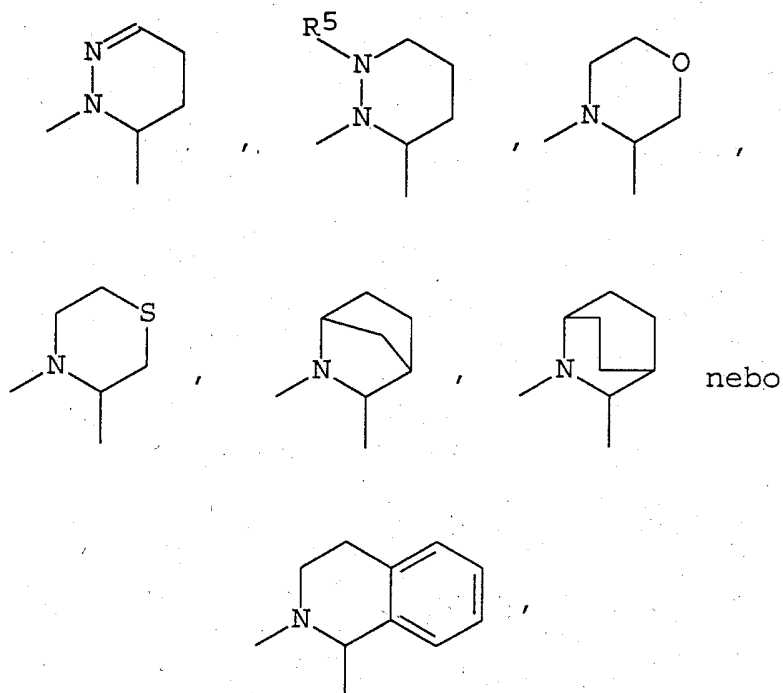
R^1 je atom vodíku, skupina $-R^8$, skupina $-C(O)R^8$, skupina $-C(O)C(O)R^8$, skupina $-S(O)_2R^8$, skupina $-S(O)R^8$, skupina $-C(O)OR^8$, skupina $-C(O)N(H)R^8$, skupina $-S(O)_2N(H)-R^8$, skupina $-S(O)N(H)-R^8$, skupina $-C(O)C(O)N(H)R^8$, skupina $-C(O)CH=CHR^8$, skupina $-C(O)CH_2OR^8$, skupina $-C(O)CH_2N(H)R^8$, skupina $-C(O)N(R^8)_2$, skupina $-S(O)_2N(R^8)_2$, skupina $-S(O)N(R^8)_2$, skupina $-C(O)C(O)N(R^8)_2$,

skupina $-C(O)CH_2N(R^8)_2$, skupina $-CH_2R^8$, skupina $-CH_2$ -alkenyl- R^8 , nebo skupina $-CH_2$ -alkinyl- R^8 ;

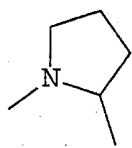
R^2 je atom vodíku a každá skupina R^3 je nezávisle atom vodíku, aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina alkenyl- R^9 , nebo skupina alkinyl- R^9 , nebo každá skupina R^3 společně s atomem, ke kterému je vázána, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, nebo R^2 a jedna skupina R^3 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku na alkylové nebo cykloalkylové skupině je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

R^4 je atom vodíku a každá skupina R^5 je nezávisle atom vodíku, aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina -alkenyl- R^9 , nebo skupina -alkinyl- R^9 , nebo skupina R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém vybraný ze skupiny, kterou tvoří:





kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku na alkylové nebo cykloalkylové skupině je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$, nebo R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém;



R^6 je atom vodíku;

R^7 je skupina $-OH$, skupina $-OR^8$, nebo skupina $-N(H)OH$;

každá skupina R^8 je nezávisle -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -arylová skupina, -heteroarylová skupina, -heterocyklylová skupina, -alkylcykloalkylová skupina, -alkylarylová skupina, -alkylheteroarylová skupina nebo -alkylheterocyk-

lylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku na alkylové nebo cykloalkylové skupině je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

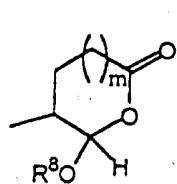
každá skupina R^9 je nezávisle -arylová skupina, -heteroarylová skupina, cykloalkylová skupina, nebo -heterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku na alkylové nebo cykloalkylové skupině je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

každá skupina R^{10} je nezávisle hydroxylová skupina, thioskupina, atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu, nitro skupina, kyanoskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, skupina $-C(O)NH_2$, skupina $-N(H)C(O)H$, skupina $-N(H)C(O)NH_2$, -perfluoralkylová skupina, -O-alkylová skupina, -O-arylová skupina, -O-alkylarylová skupina, -N(H)alkylová skupina, -N(H)-arylová skupina, -N(H)-alkylarylová skupina, skupina $-N(alkyl)_2$, $-C(O)N(H)alkylová$ skupina, skupina $-C(O)N(alkyl)_2$, $-N(H)C(O)alkylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oalkylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oarylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oalkylarylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oheteroarylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oalkylheteroarylová$ skupina, $-N(H)C(O)Ocykloalkylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)alkylová$ skupina, skupina $-N(H)C(O)N(alkyl)_2$, $-N(H)C(O)N(H)arylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)alkylarylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)heteroarylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)alkylheteroarylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)cykloalkylová$ skupina, -S-alkylová skupina, -S-arylová skupina, -S-alkylarylová skupina, $-S(O)_2alkylová$ sku-

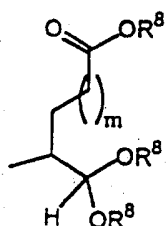
každá skupina R^{11} je nezávisle hydroxylová skupina, thioskupina, atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu, nitro- skupina, kyanoskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, skupina $-C(O)NH_2$, skupina $-N(H)C(O)H$, skupina $-N(H)C(O)NH_2$, -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -perfluoralkylová skupina, -O-alkylová skupina, -O-arylová skupina, -O-alkyl- arylová skupina, -N(H)alkylová skupina, -N(H)arylová skupina, -N(H)-alkylarylová skupina, skupina $-N(alkyl)_2$, $-C(O)N(H)al-$ kylová skupina, skupina $-C(O)N(alkyl)_2$, $-N(H)C(O)alkylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)alkylová$ skupina, skupina $-N(H)C(O)N-$ (alkyl) $_2$, -S-alkylová skupina, -S-arylová skupina, -S-alkylary- lová skupina, $-S(O)_2alkylová$ skupina, $-S(O)alkylová$ skupina, $-C(O)alkylová$ skupina, skupina $-CH_2NH_2$, $-CH_2N(H)alkylová$ sku- pina, nebo skupina $-CH_2N(alkyl)_2$.

$$\begin{array}{c}
 \text{O} \\
 \parallel \\
 \text{R}^1-\text{N}^{\text{R}^2}-\text{X}-\text{C}-\text{N}-\text{C}-\text{N}^{\text{R}^6}-\text{Y} \\
 \parallel \quad \quad \quad \parallel \\
 \text{O} \quad \quad \quad \text{O} \\
 \text{R}^4 \quad \quad \quad \text{R}^5 \quad \text{R}^5
 \end{array}$$

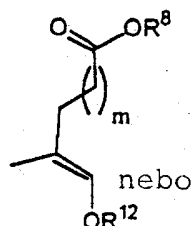
kde Y je:



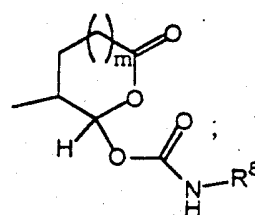
(c)



(d)

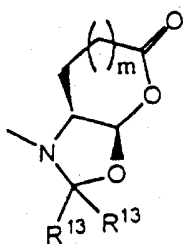


(e)



(f)

pod podmínkou, že pokud R^6 není atom vodíku, R^6 a Y, společně s atomem dusíku, ke kterému jsou vázány, tvoří kruh (g):



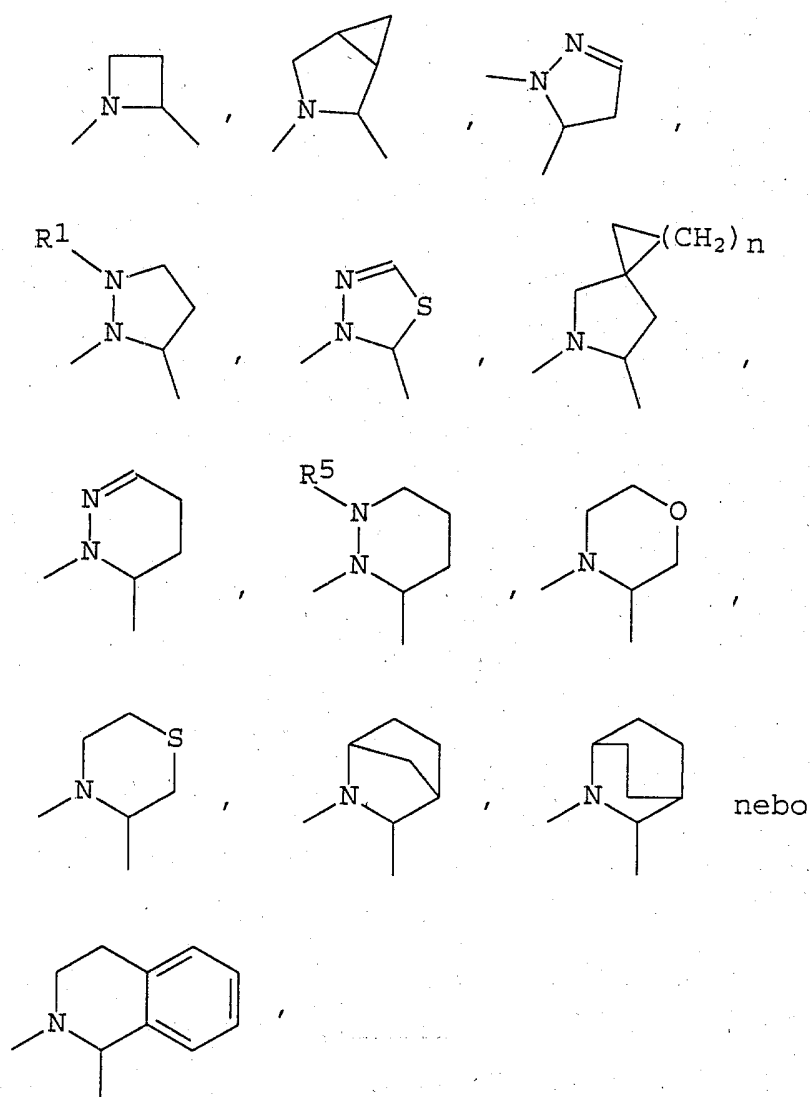
(g)

R^1 je atom vodíku, skupina $-R^8$, skupina $-C(O)R^8$, skupina $-C(O)C(O)R^8$, skupina $-S(O)_2R^8$, skupina $-S(O)R^8$, skupina $-C(O)OR^8$, skupina $-C(O)N(H)R^8$, skupina $-S(O)_2N(H)-R^8$, skupina $-S(O)N(H)-R^8$, skupina $-C(O)C(O)N(H)R^8$, skupina $-C(O)CH=CHR^8$, skupina $-C(O)CH_2OR^8$, skupina $-C(O)CH_2N(H)R^8$, skupina $-C(O)N(R^8)_2$, skupina $-S(O)_2N(R^8)_2$, skupina $-S(O)N(R^8)_2$, skupina $-C(O)C(O)N(R^8)_2$, skupina $-C(O)CH_2N(R^8)_2$, skupina $-CH_2R^8$, skupina $-CH_2$ -alkenyl- R^8 , nebo skupina $-CH_2$ -alkinyl- R^8 ;

R^2 je atom vodíku a každá skupina R^3 je nezávisle atom vodíku, aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina alkenyl- R^9 , nebo skupina alkinyl- R^9 , nebo každá skupina R^3 společně s atomem, ke kterému je vázána, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, nebo R^2 a jedna skupina R^3 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku na alkylové nebo cykloalkylové skupině je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli uhlíku

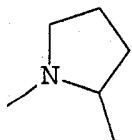
arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

R^4 je atom vodíku a každá skupina R^5 je nezávisle atom vodíku, aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina -alkenyl- R^9 , nebo skupina -alkinyl- R^9 , nebo skupina R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém vybraný ze skupiny, kterou tvoří:



kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku na alkylové nebo cykloalkylové skupině je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$,

atom vodíku vázaný k jakémukoli uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$, nebo R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém;



R^6 je atom vodíku;

každá skupina R^8 je nezávisle -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -arylová skupina, -heteroarylová skupina, -heterocyklylová skupina, -alkylcykloalkylová skupina, -alkylarylová skupina, -alkylheteroarylová skupina nebo -alkylheterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku na alkylové nebo cykloalkylové skupině je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

každá skupina R^9 je nezávisle -arylová skupina, -heteroarylová skupina, cykloalkylová skupina, nebo -heterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku na alkylové nebo cykloalkylové skupině je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

každá skupina R^{10} je nezávisle hydroxylová skupina, thio-skupina, atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu,

nitroskupina, kyanoskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, skupina $-C(O)NH_2$, skupina $-N(H)C(O)H$, skupina $-N(H)C(O)NH_2$, -perfluoralkylová skupina, -O-alkylová skupina, -O-arylová skupina, -O-alkylarylová skupina, -N(H)alkylová skupina, -N(H)arylová skupina, -N(H)-alkylarylová skupina, skupina $-N(alkyl)_2$, $-C(O)N(H)alkylová$ skupina, skupina $-C(O)N(alkyl)_2$, $-N(H)C(O)alkylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oalkylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oarylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oalkylarylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oheteroarylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oalkylheteroarylová$ skupina, $-N(H)C(O)Ocykloalkylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)alkylová$ skupina, skupina $-N(H)C(O)N(alkyl)_2$, $-N(H)C(O)N(H)arylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)alkylarylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)heteroarylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)alkylheteroarylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)cykloalkylová$ skupina, -S-alkylová skupina, -S-arylová skupina, -S-alkylarylová skupina, $-S(O)_2alkylová$ skupina, $-S(O)alkylová$ skupina, $-C(O)alkylová$ skupina, skupina $-CH_2NH_2$, $-CH_2N(H)alkylová$ skupina, nebo skupina $-CH_2N(alkyl)_2$, -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -arylová skupina, -heteroarylová skupina, -heterocyklylová skupina, -alkylcykloalkylová skupina, -alkylarylová skupina, -alkylheteroarylová skupina, nebo -alkylheterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku -arylové skupiny nebo -heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou R^{11} a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku je popřípadě nahrazen skupinou R^1 ; a

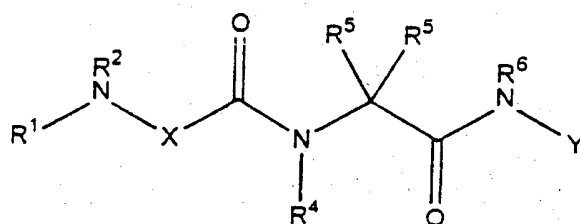
každá skupina R^{11} je nezávisle hydroxylová skupina, thioskupina, atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu, nitroskupina, kyanoskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, skupina $-C(O)NH_2$, skupina $-N(H)C(O)H$, skupina $-N(H)C(O)NH_2$, -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -perfluoralkylová skupina, -O-alkylová skupina, -O-arylová skupina, -O-alkylarylová skupina, -N(H)alkylová skupina, -N(H)arylová skupina,

-N(H)-alkylarylová skupina, skupina $-N(alkyl)_2$, $-C(O)N(H)$ -alkylová skupina, skupina $-C(O)N(alkyl)_2$, $-N(H)C(O)$ alkylová skupina, $-N(H)C(O)N(H)$ alkylová skupina, skupina $-N(H)C(O)N(alkyl)_2$, $-S$ -alkylová skupina, $-S$ -arylová skupina, $-S$ -alkylarylová skupina, $-S(O)_2$ alkylová skupina, $-S(O)$ alkylová skupina, $-C(O)$ alkylová skupina, skupina $-CH_2NH_2$, $-CH_2N(H)$ alkylová skupina nebo skupina $-CH_2N(alkyl)_2$;

R^{12} je $-C(O)$ alkylová skupina, $-C(O)$ cykloalkylová skupina, $-C(O)$ alkylenylová skupina, $-C(O)$ alkylarylová skupina, $-C(O)$ -alkylheteroarylová skupina, $-C(O)$ heterocyklylová skupina, nebo $-C(O)$ alkylheterocyklylová skupina;

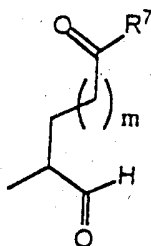
R^{13} je atom vodíku, $-$ alkylová skupina, $-$ arylová skupina, $-$ alkylarylová skupina nebo $-$ alkylheteroarylová skupina.

3. Sloučenina obecného vzorce I:



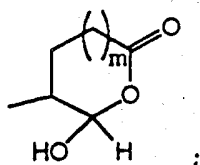
kde Y je:

(a)



nebo

(b)



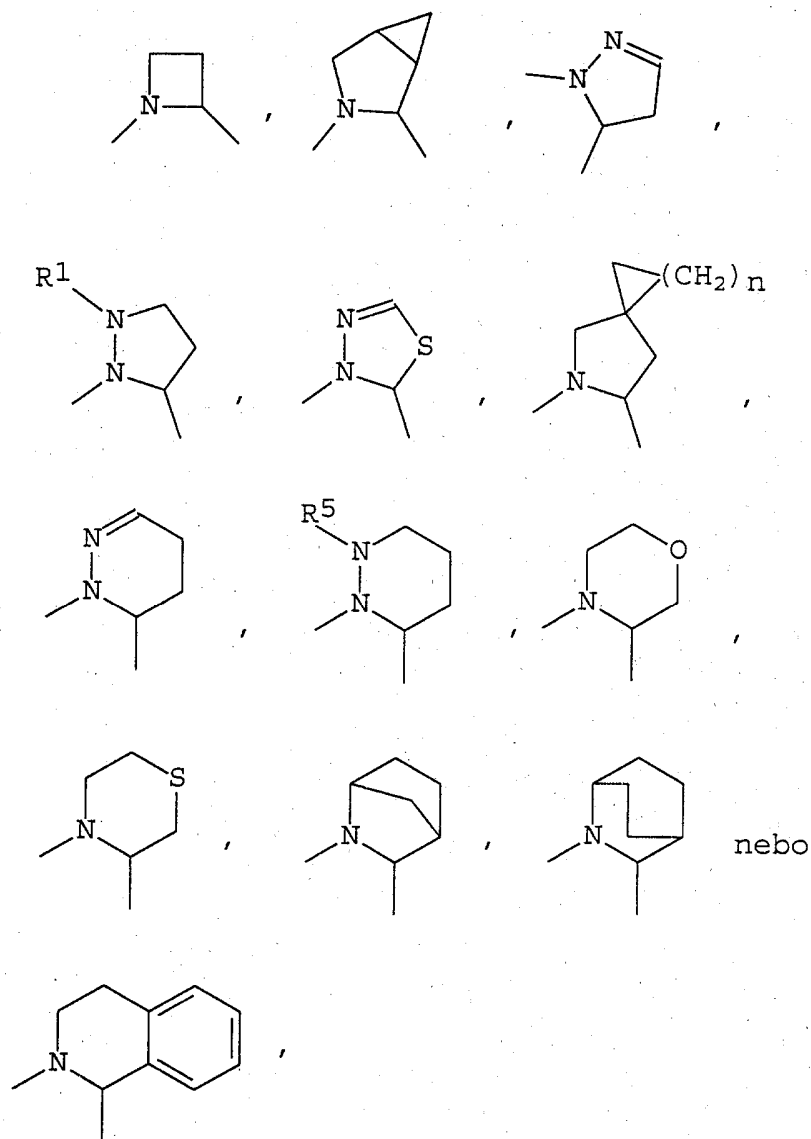
m je 0 nebo 1;

X je skupina $-C(R^3)_2$

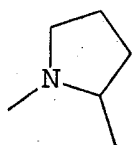
R^1 je atom vodíku, skupina $-R^8$, skupina $-C(O)R^8$, skupina $-C(O)C(O)R^8$, skupina $-S(O)_2R^8$, skupina $-S(O)R^8$, skupina $-C(O)OR^8$, skupina $-C(O)N(H)R^8$, skupina $-S(O)_2N(H)-R^8$, $-S(O)N(H)-R^8$, skupina $-C(O)C(O)N(H)R^8$, skupina $-C(O)CH=CHR^8$, skupina $-C(O)CH_2OR^8$, skupina $-C(O)CH_2N(H)R^8$, skupina $-C(O)N(R^8)_2$, skupina $-S(O)_2N(R^8)_2$, skupina $-S(O)N(R^8)_2$, skupina $-C(O)C(O)N(R^8)_2$, skupina $-C(O)CH_2N(R^8)_2$, skupina $-CH_2R^8$, skupina $-CH_2$ -alkenyl- R^8 , nebo skupina $-CH_2$ -alkinyl- R^8 ;

R^2 je atom vodíku a každá skupina R^3 je nezávisle atom vodíku, aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina alkenyl- R^9 , nebo skupina alkinyl- R^9 , nebo každá skupina R^3 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové nebo cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

R^4 je atom vodíku a každá skupina R^5 je nezávisle atom vodíku, aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina alkenyl- R^9 , nebo skupina alkinyl- R^9 , nebo R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém vybraný ze skupiny, kterou tvoří:



kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové nebo cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo hetero-arylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$ a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$, nebo R^4 a jedna skupina R^5 , společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém:



R^6 je atom vodíku;

R^7 je hydroxylová skupina, skupina $-OR^8$, skupina $-N(H)OH$, nebo skupina $-N(H)S(O)_2R^8$;

každá skupina R^8 je nezávisle -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -arylová skupina, -heteroarylová skupina, -heterocyklylová skupina, -alkylcykloalkylová skupina -alkylarylová skupina, -alkylheteroarylová skupina, nebo -alkylheterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové nebo cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$ a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

každá skupina R^9 je nezávisle -arylová skupina, -heteroarylová skupina, cykloalkylová skupina, nebo -heterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové nebo cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

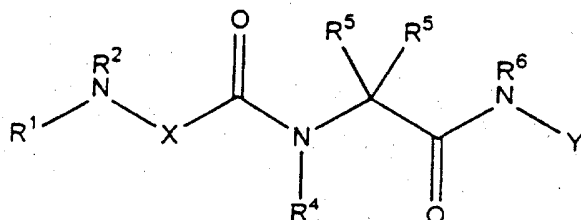
každá skupina R^{10} je nezávisle hydroxylová skupina, thioskupina, atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu, nitro skupina, kyanoskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, skupina $-C(O)NH_2$, skupina $-N(H)C(O)H$, skupina $-N(H)C(O)NH_2$, -perfluoralkylová skupina, -O-alkylová skupina, -O-arylová skupina, -O-alkylarylová skupina, -N(H)alkylová skupina, -N(H)arylová skupina, -N(H)-alkylarylová skupina, skupina $-N(alkyl)_2$, $-C(O)N(H)alkylová$ skupina, skupina $-C(O)N(alkyl)_2$, $-N(H)C(O)alkylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oalkylová$ skupina, -

N(H)C(O)Oarylová skupina, -N(H)C(O)Oalkylarylová skupina, -N(H)C(O)Oheteroarylová skupina, -N(H)C(O)Oalkylheteroarylová skupina, -N(H)C(O)Ocykloalkylová skupina, -N(H)C(O)N(H)alkylová skupina, skupina -N(H)C(O)N(alkyl)₂, -N(H)C(O)N(H)arylová skupina, -N(H)C(O)N(H)alkylarylová skupina, -N(H)C(O)N(H)heteroarylová skupina, -N(H)C(O)N(H)alkylheteroarylová skupina, -N(H)C(O)N(H)cykloalkylová skupina, -S-alkylová skupina, -S-arylová skupina, -S-alkylarylová skupina, -S(O)₂alkylová skupina, -S(O)alkylová skupina, -C(O)alkylová skupina, skupina -CH₂NH₂, -CH₂N(H)alkylová skupina, nebo skupina -CH₂N(alkyl)₂, -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -arylová skupina, -heteroarylová skupina, -heterocyklylová skupina, -alkylcykloalkylová skupina, -alkylarylová skupina, -alkylheteroarylová skupina, nebo -alkylheterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku -arylové skupiny nebo -heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou R¹¹ a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku je popřípadě nahrazen skupinou R¹; a

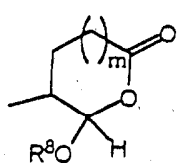
každá skupina R¹¹ je nezávisle hydroxylová skupina, thio-skupina, atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu, nitroskupina, kyanoskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, skupina -C(O)NH₂, skupina -N(H)C(O)H, skupina -N(H)C(O)NH₂, -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -perfluoralkylová skupina, -O-alkylová skupina, -O-arylová skupina, -O-alkylarylová skupina, -N(H)alkylová skupina, -N(H)arylová skupina, -N(H)-alkylarylová skupina, skupina -N(alkyl)₂, -C(O)N(H)alkylová skupina, skupina -C(O)N(alkyl)₂, -N(H)C(O)alkylová skupina, -N(H)C(O)N(H)alkylová skupina, skupina -N(H)C(O)N(alkyl)₂, -S-alkylová skupina, -S-arylová skupina, -S-alkylarylová skupina, -S(O)₂alkylová skupina, -S(O)alkylová skupina, -C(O)-alkylová skupina, skupina -CH₂NH₂, -CH₂N(H)alkylová skupina nebo skupina -CH₂N(alkyl)₂;

pod podmínkou, že pokud jedna skupina R^3 je atom vodíku, potom druhá skupina R^3 není atom vodíku.

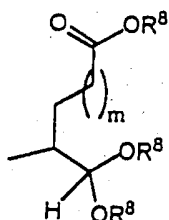
4. Sloučenina vzorce I:



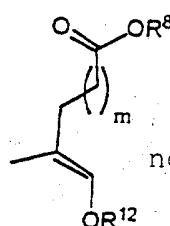
kde Y je:



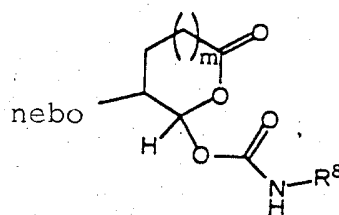
(c)



(d)



(e)



(f)

m je 0 nebo 1;

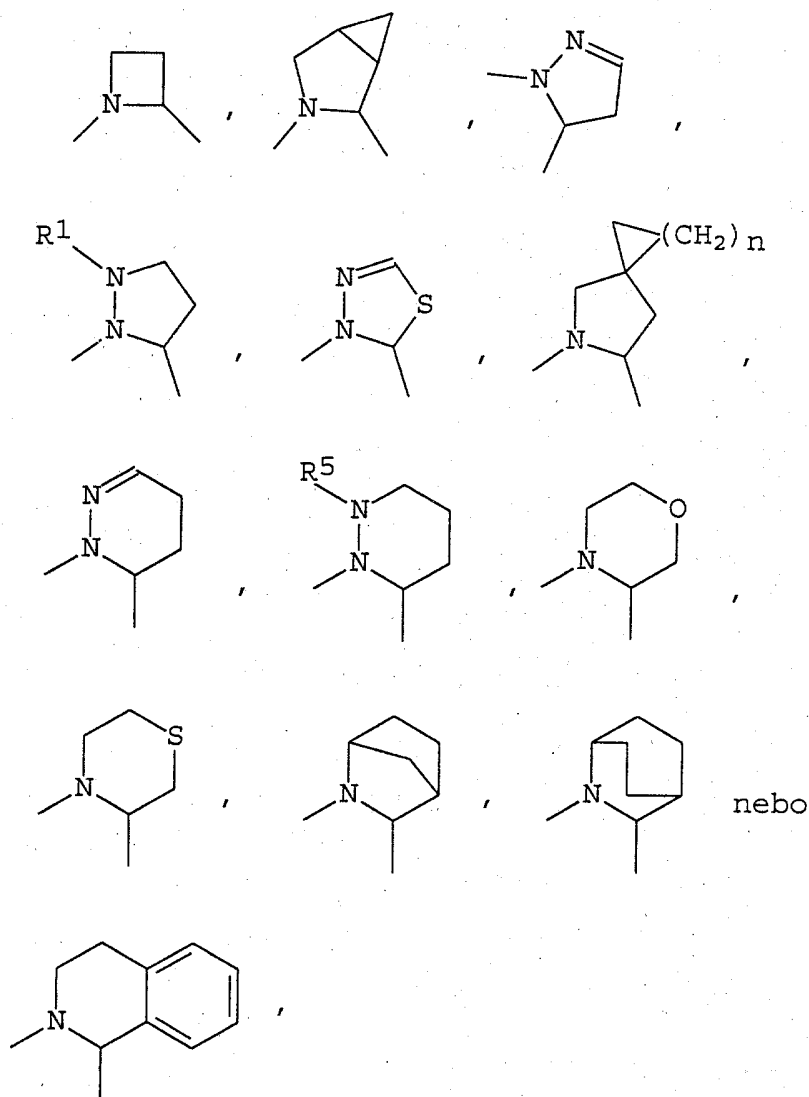
X je skupina $-C(R^3)_2-$

R^1 je atom vodíku, skupina $-R^8$, skupina $-C(O)R^8$, skupina $-C(O)C(O)R^8$, skupina $-S(O)_2R^8$, skupina $-S(O)R^8$, skupina $-C(O)OR^8$, skupina $-C(O)N(H)R^8$, skupina $-S(O)_2N(H)-R^8$, $-S(O)N(H)-R^8$, skupina $-C(O)C(O)N(H)R^8$, skupina $-C(O)CH=CHR^8$, skupina $-C(O)CH_2OR^8$, skupina $-C(O)CH_2N(H)R^8$, skupina $-C(O)N(R^8)_2$, skupina $-S(O)_2N(R^8)_2$, skupina $-S(O)N(R^8)_2$, skupina $-C(O)C(O)N(R^8)_2$, skupina $-C(O)CH_2N(R^8)_2$, skupina $-CH_2R^8$, skupina $-CH_2$ -alkenyl- R^8 , nebo skupina $-CH_2$ -alkinyl- R^8 ;

R^2 je atom vodíku a každá skupina R^3 je nezávisle atom vodíku, aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina alkenyl- R^8 , nebo skupina alkinyl- R^8 , nebo každá skupina R^3 společně s atomy, ke kterým je vázána, tvoří tříčlenný až sedmičlenný cyklický nebo heterocyklický kruhový systém, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové nebo cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný

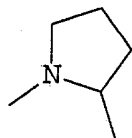
k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

R^4 je atom vodíku a každá skupina R^5 je nezávisle atom vodíku, aminokyselinový postranní řetězec, skupina $-R^8$, skupina -alkenyl- R^9 , nebo skupina -alkinyl- R^9 , nebo R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém vybraný ze skupiny, kterou tvoří:



kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové nebo

cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$ a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$, nebo R^4 a jedna skupina R^5 , společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém:



R^6 je atom vodíku;

každá skupina R^8 je nezávisle -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -arylová skupina, -heteroarylová skupina, -heterocyklylová skupina, -alkylcykloalkylová skupina -alkylarylová skupina, -alkylheteroarylová skupina, nebo -alkylheterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové nebo cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$ a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

každá skupina R^9 je nezávisle -arylová skupina, -heteroarylová skupina, cykloalkylová skupina, nebo -heterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku alkylové nebo cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{10}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku arylové nebo heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou $-R^{11}$, atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku kruhového systému je popřípadě nahrazen skupinou $-R^1$;

každá skupina R^{10} je nezávisle hydroxylová skupina, thiosku-

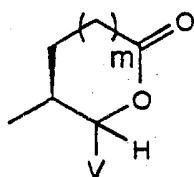
pina, atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu, nitro- skupina, kyanoskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, skupina $-C(O)NH_2$, skupina $-N(H)C(O)H$, skupina $-N(H)C(O)NH_2$, -perfluoralkylová skupina, -O-alkylová skupina, -O-arylová skupina, -O-alkylarylová skupina, -N(H)alkylová skupina, -N(H)-arylová skupina, -N(H)-alkylarylová skupina, skupina $-N(alkyl)_2$, $-C(O)N(H)alkylová$ skupina, skupina $-C(O)N(alkyl)_2$, $-N(H)C(O)alkylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oalkylová$ skupina, $-N(H)-C(O)Oarylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oalkylarylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oheteroarylová$ skupina, $-N(H)C(O)Oalkylheteroarylová$ skupina, $-N(H)C(O)Ocykloalkylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)alkylová$ skupina, skupina $-N(H)C(O)N(alkyl)_2$, $-N(H)C(O)N(H)arylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)alkylarylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)heteroarylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)alkylheteroarylová$ skupina, $-N(H)C(O)N(H)cykloalkylová$ skupina, -S-alkylová skupina, -S-arylová skupina, -S-alkylarylová skupina, $-S(O)_2alkylová$ skupina, $-S(O)alkylová$ skupina, $-C(O)alkylová$ skupina, skupina $-CH_2NH_2$, $-CH_2N(H)alkylová$ skupina, nebo skupina $-CH_2N(alkyl)_2$, -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -arylová skupina, -heteroarylová skupina, -heterocyklylová skupina, -alkylcykloalkylová skupina, -alkylarylová skupina, -alkylheteroarylová skupina, nebo -alkylheterocyklylová skupina, kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku -arylové skupiny nebo -heteroarylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou R^{11} a atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu dusíku je popřípadě nahrazen skupinou R^1 ; a

každá skupina R^{11} je nezávisle hydroxylová skupina, thioskupina, atom fluoru, atom chloru, atom bromu, atom jodu, nitro- skupina, kyanoskupina, aminoskupina, karboxylová skupina, skupina $-C(O)NH_2$, skupina $-N(H)C(O)H$, skupina $-N(H)C(O)NH_2$, -alkylová skupina, -cykloalkylová skupina, -perfluoralkylová skupina, -O-alkylová skupina, -O-arylová skupina, -O-

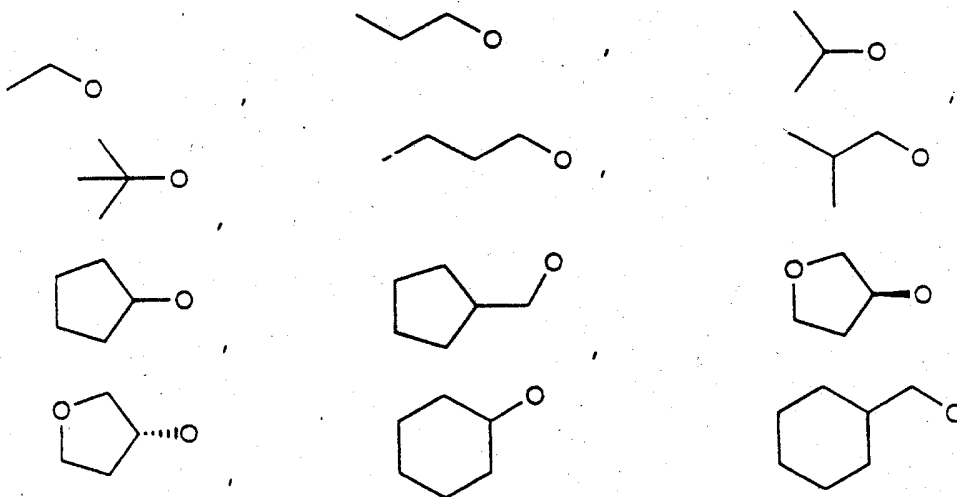
alkylarylová skupina, -N(H)alkylová skupina, -N(H)arylová skupina, -N(H)-alkylarylová skupina, skupina -N(alkyl)₂, -C(O)N(H)alkylová skupina, skupina -C(O)N(alkyl)₂, -N(H)C(O)-alkylová skupina, -N(H)C(O)N(H)alkylová skupina, skupina -N(H)C(O)N(alkyl)₂, -S-alkylová skupina, -S-arylová skupina, -S-alkylarylová skupina, -S(O)₂alkylová skupina, -S(O)alkylová skupina, -C(O)alkylová skupina, skupina -CH₂NH₂, -CH₂N(H)-alkylová skupina nebo skupina -CH₂N(alkyl)₂; a

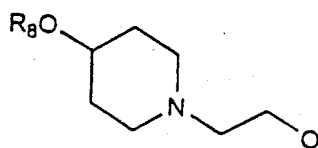
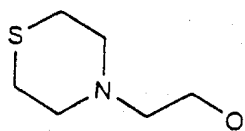
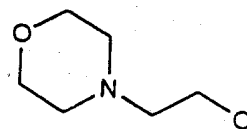
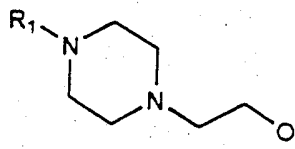
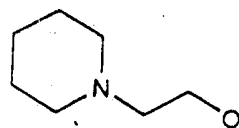
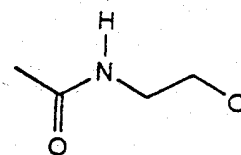
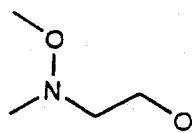
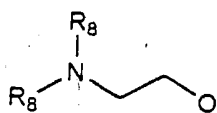
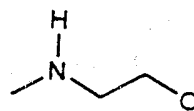
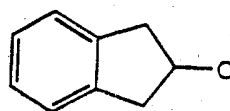
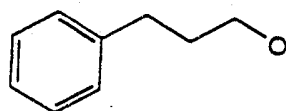
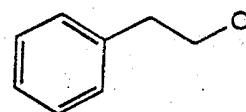
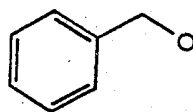
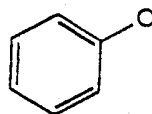
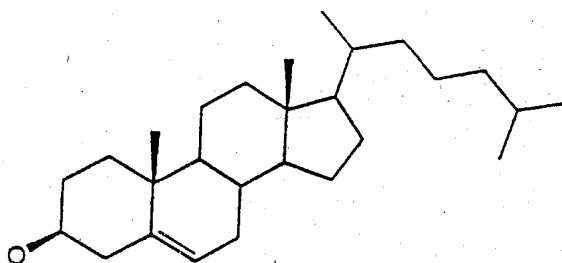
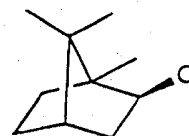
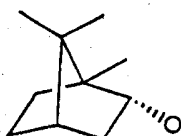
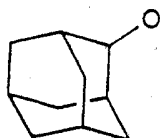
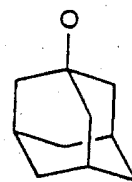
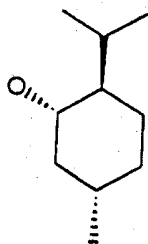
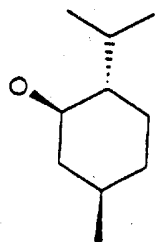
R¹² je -C(O)alkylová skupina, -C(O)cykloalkylová skupina, -C(O)alkylenylová skupina, -C(O)alkylarylová skupina, -C(O)alkylheteroarylová skupina, -C(O)heterocyklylová skupina, nebo -C(O)alkylheterocyklylová skupina.

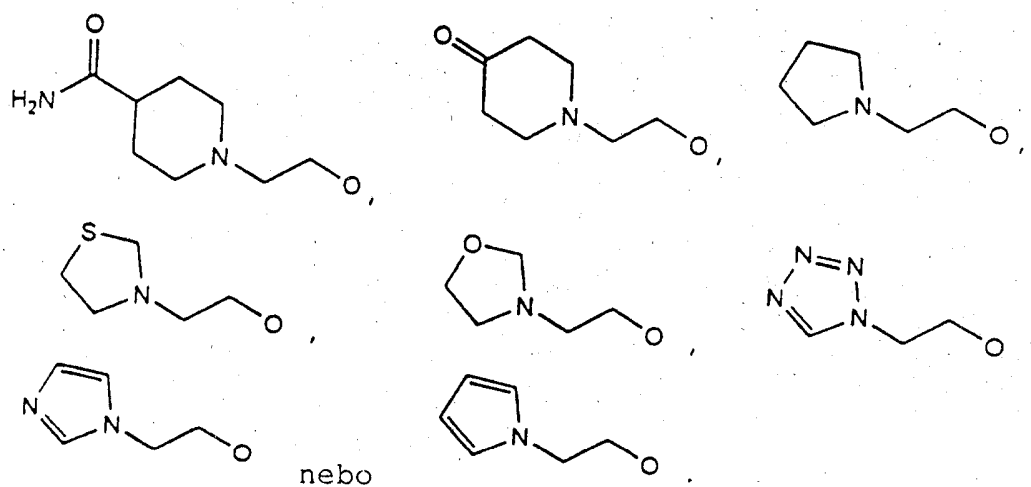
5. Sloučenina podle nároku 2 nebo 4, kde Y je:



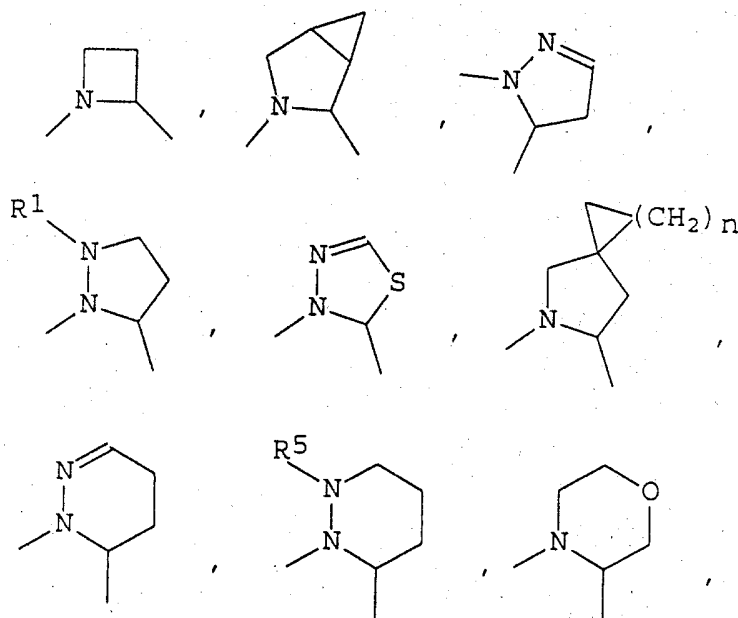
a V je: skupina CH₃O,

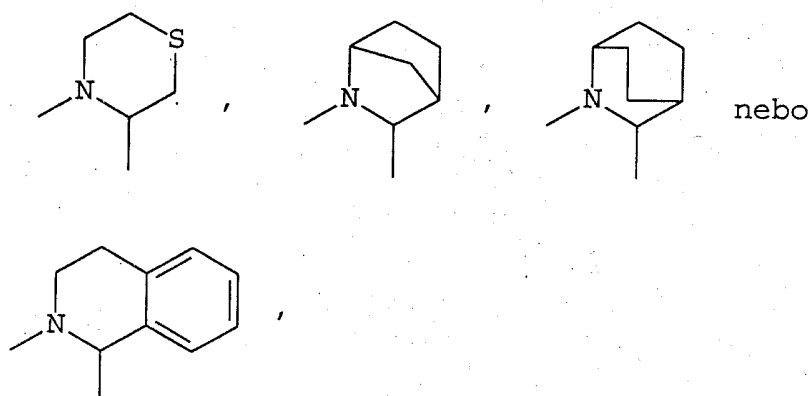




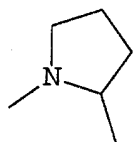


6. Sloučenina podle kteréhokoli z nároků 1 až 5, kde R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém vybraný ze skupiny, kterou tvoří:





kde atom vodíku vázaný k jakémukoli atomu uhlíku -alkylové skupiny nebo -cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou R^{10} , nebo R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém:

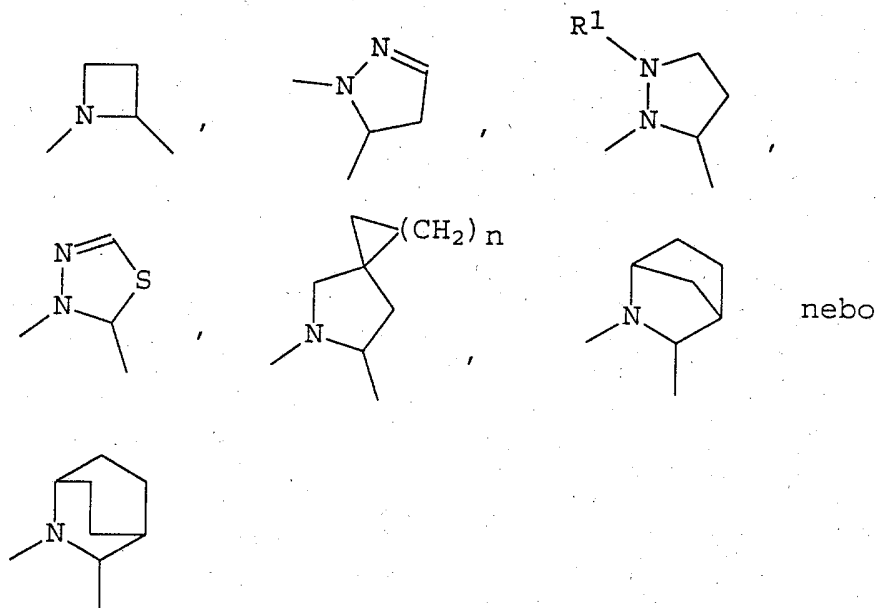


7. Sloučenina podle nároku 6, kde jedna skupina R^3 je atom vodíku a druhá skupina R^3 je methylová skupina, isopropylová skupina, terc.butylová skupina, skupina $-CH_2SR^8$, skupina $-CH_2SO_2R^8$, skupina $-CH_2CH_2SR^8$ nebo skupina $-CH_2CH_2SO_2R^8$.

8. Sloučenina podle nároku 7, kde jedna skupina R^3 je atom vodíku a druhá skupina R^3 je methylová skupina.

9. Sloučenina podle nároku 8, kde R^1 je skupina $-C(O)R^8$ nebo skupina $-C(O)C(O)R^8$.

10. Sloučenina podle nároku 6, kde R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém vybraný ze skupiny, kterou tvoří:



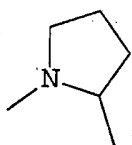
a druhá skupina R^5 je atom vodíku, kde atom vodíku vázaný ke kterémukoli atomu uhlíku -alkylové nebo -cykloalkylové skupiny je popřípadě nahrazen skupinou R^{10} .

11. Sloučenina podle nároku 10, kde jedna skupina R^3 je atom vodíku a druhá skupina R^3 je methylová skupina, isopropylová skupina, terc.butylová skupina, skupina $-\text{CH}_2\text{SR}^8$, skupina $-\text{CH}_2\text{SO}_2\text{R}^8$, skupina $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SR}^8$ nebo skupina $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{R}^8$.

12. Sloučenina podle nároku 11, kde jedna skupina R^3 je atom vodíku a druhá skupina R^3 je methylová skupina.

13. Sloučenina podle nároku 12, kde R^1 je skupina $-\text{C}(\text{O})\text{R}^8$ nebo skupina $-\text{C}(\text{O})\text{C}(\text{O})\text{R}^8$.

14. Sloučenina podle nároku 6, kde R^4 a jedna skupina R^5 společně s atomy, ke kterým jsou vázány, tvoří kruhový systém:



a druhá skupina R^5 je atom vodíku.

15. Sloučenina podle nároku 14, kde jedna skupina R^3 je atom vodíku a druhá skupina R^3 je methylová skupina, isopropylová skupina, terc.butylová skupina, skupina $-CH_2SR^8$, skupina $-CH_2SO_2R^8$, skupina $-CH_2CH_2SR^8$ nebo skupina $-CH_2CH_2SO_2R^8$.

16. Sloučenina podle nároku 15, kde jedna skupina R^3 je atom vodíku a druhá skupina R^3 je methylová skupina.

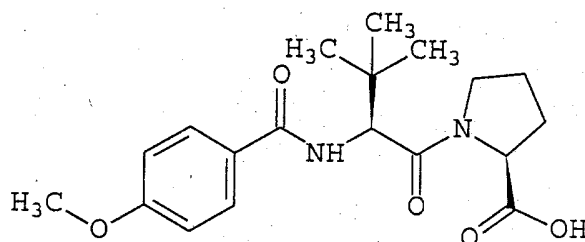
17. Sloučenina podle nároku 16, kde R^1 je skupina $-C(O)R^8$ nebo skupina $-C(O)C(O)R^8$.

18. Sloučenina podle nároku 1 nebo podle nároku 3 vybraná se skupiny, kterou tvoří: 5a-5bd, 7a-7at, 20a-20t, 23a-23i, 24a-24e, 26d, 26e, 29a-29s, 32a-32e, 34, 42, 46, 52, 57, 61, 65, 69, 73, 121 a 122a-v.

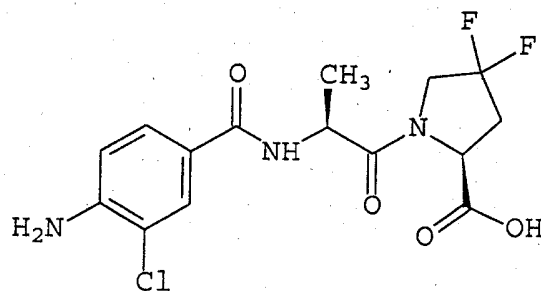
19. Sloučenina podle nároku 4, vybraná se skupiny, kterou tvoří: 41, 45, 51, 56, 60, 64, 68, 72, 76-93, 98a-z, 98aa-az, 98ba a 98 bb, 101, 102a, 102b, 108a-108d, 110, 111, 116a-116h, a 120a a 120b.

20. Sloučenina vybraná ze skupiny, kterou tvoří: 37, 38, 39, 43, 44, 49, 50, 54, 55, 58, 59, 67, 71, 75, 96a-96c, 97a-97c, 100, 106, 107, 109, 115a-115o, 120a, 120b,

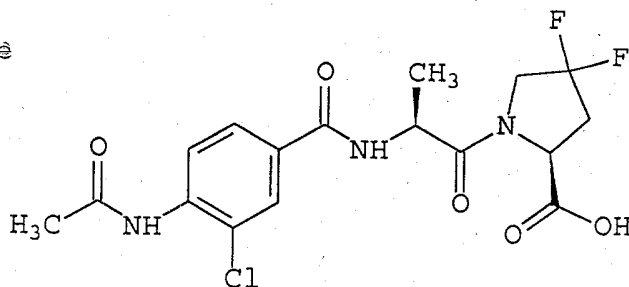
67b



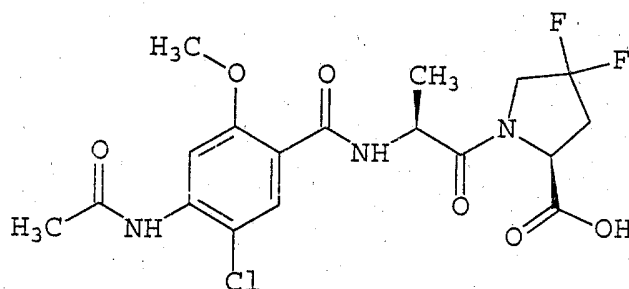
115d



115e



115f



21. Farmaceutická kompozice, vyznačující se tím, že obsahuje

- a) sloučeninu podle kteréhokoli z nároků 1-19 a
- b) farmaceuticky přijatelný nosič, adjuvant nebo vehikulum.

22. Způsob léčení nebo prevence onemocnění vybraného ze skupiny kterou tvoří onemocnění zprostředkované IL-1, onemocnění zprostředkované apoptózou, zánětlivé onemocnění, autoimunní onemocnění, destrukční onemocnění kosti, proliferativní onemocnění, infekční onemocnění, degenerativní onemocnění, nekrotické onemocnění, onemocnění způsobené nadbytečným příjmem alkoholu v potravě, onemocnění zprostředkované virem,

zánětlivá peritonitida, osteoartritida, pankreatitida, astma, syndrom dýchacího stresu dospělých, glomerulonefritida, revmatoidní artritida, systémový lupus erythematosus, skleroderma, chronická thyroditida, Graveova nemoc, autoimunní gastritida, diabetes mellitus závislý na insulinu (typ 1), autoimunní hemolytická anemie, autoimunní neutropenie, trombocytopenie, chronická aktivní hepatitida, myastenia gravis, zánětlivé střevní onemocnění, Crohnova nemoc, psoriáza, atopická dermatitida, onemocnění štěp vs. hostitel, osteoporóza, leukémie a podobná onemocnění, myelodysplastický syndrom, kostní onemocnění spojené s mnohočetným myelomem, akutní myelogenní leukemie, chronická myelogenní leukemie, metastatický melanom, Kaposiho sarkom, mnohočetný myelom, sepse, septický šok, Shigellosa, Alzheimerova nemoc, Parkinsonova nemoc, mozková ischemie, ischemie myokardu, spinální muskulární atrofie, mnohočetná skleróza, encefalitida související s AIDS, encefalitida spojená s HIV, stárnutí, vypadávání vlasů, neurologické poškození způsobené mrtvicí, ulcerativní kolitida, traumatické poškození mozku, odmítnutí transplantovaného orgánu, hepatitida-B, hepatitida-C, hepatitida-G, žlutá horečka, horečka dengue, nebo japonská encefalitida, u pacienta, v y z n a č u j í c í s e t í m , že se skládá z kroku podávání sloučeniny podle kteréhokoli z nároků 1 až 19 nebo farmaceutické kompozice podle nároku 21, tomuto pacientovi.

23. Způsob podle nároku 22, v y z n a č u j í c í s e t í m , že onemocněním je revmatoidní artritida, zánětlivé střevní onemocnění, Crohnova nemoc, ulcerativní kolitida, zánětlivá peritonitida, septický šok, pankreatitida, traumatické poškození mozku, odmítnutí transplantovaného orgánu, osteoartritida, astma, psoriáza, Alzheimerova nemoc, atopická dermatitida, leukémie a podobná onemocnění, myelodysplastický syndrom

nebo mnohočetný myelom.

24. Způsob inhibice funkce zprostředkované ICE u pacienta, vyznačující se tím, že zahrnuje krok podávání sloučeniny podle kteréhokoli z nároků 1 až 19 nebo farmaceutické kompozice podle nároku 21 tomuto pacientovi.

25. Způsob snížení produkce IGIF a IFN- γ u pacienta, vyznačující se tím, že zahrnuje krok podávání sloučeniny podle kteréhokoli z nároků 1 až 19 nebo farmaceutické kompozice podle nároku 21 tomuto pacientovi.

26. Použití sloučeniny podle kteréhokoli z nároků 1 až 19 nebo farmaceutické kompozice podle nároku 21 při výrobě léčiva pro léčení nebo prevenci onemocnění vybraného ze skupiny, kterou tvoří onemocnění zprostředkované IL-1, onemocnění zprostředkované apoptózou, zánětlivé onemocnění, autoimunní onemocnění, destrukční onemocnění kosti, proliferativní onemocnění, infekční onemocnění, degenerativní onemocnění, nekrotické onemocnění, onemocnění způsobené nadbytečným příjmem alkoholu v potravě, onemocnění zprostředkované virem, zánětlivá peritonitida, osteoartritida, pankreatitida, astma, syndrom dýchacího stresu dospělých, glomerulonefritida, revmatoidní artritida, systémový lupus erythematosus, skleroderma, chronická thyroditida, Graveova nemoc, autoimunní gastritida, diabetes mellitus závislý na insulinu (typ 1), autoimunní hemolytická anemie, autoimunní neutropenie, trombocytopenie, chronická aktivní hepatitida, myastenia gravis, zánětlivé střevní onemocnění, Crohnova nemoc, psoriáza, atopická dermatitida, onemocnění štěp vs. hostitel, osteoporóza, leukémie a podobná onemocnění, myelodysplastický syndrom, kostní onemocnění spojené s mnohočetným myelomem, akutní myelogenní leukemie, chronická myelogenní leukemie, metastatický melanom, Kaposiho

sarkom, mnohočetný myelom, sepse, septický šok, Shigellosa, Alzheimerova nemoc, Parkinsonova nemoc, mozková ischemie, ischemie myokardu, spinální muskulární atrofie, mnohočetná skleróza, encefalitida související s AIDS, encefalitida spojená s HIV, stárnutí, vypadávání vlasů, neurologické poškození způsobené mrtvicí, ulcerativní kolitida, traumatické poškození mozku, odmítnutí transplantovaného orgánu, hepatitida-B, hepatitida-C, hepatitida-G, žlutá horečka, horečka dengue, nebo japonská encefalitida, u pacienta.

27. Použití podle nároku 26, kde onemocněním je revmatoidní arthritida, zánětlivé střevní onemocnění, Crohnova nemoc, ulcerativní kolitida, zánětlivá peritonitida, septický šok, pankreatitida, traumatické poškození mozku, odmítnutí transplantovaného orgánu, osteoarthritis, astma, psoriáza, Alzheimerova nemoc, atopická dermatitida, leukemie a podobná onemocnění, myelodysplastický syndrom nebo mnohočetný myelom.

28. Použití sloučeniny podle kteréhokoli z nároků 1 až 19 nebo farmaceutické kompozice podle nároku 21 při výrobě léčiva pro inhibici funkce zprostředkované ICE u pacienta.

29. Použití sloučeniny podle kteréhokoli z nároků 1 až 19 nebo farmaceutické kompozice podle nároku 21 při výrobě léčiva pro snížení produkce IGIF nebo IFN- γ u pacienta.