

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

2000 - 2604

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **15.01.1999**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **16.01.1998 16.01.1998**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1998/9800116 1998/9800113**

(33) Země priority: **SE SE**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **16.05.2001**
(Věstník č. 5/2001)

(86) PCT číslo: **PCT/SE99/00053**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO99/36406**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 213/61

C 07 D 213/85

A 61 K 31/44

A 61 P 31/18

(71) Přihlašovatel:

MEDIVIR AB, Huddinge, SE;

(72) Původce:

Sahlberg Christer, Hägersten, SE;

Noréen Rolf, Tullinge, SE;

Högberg Marita, Tullinge, SE;

Engelhardt Per, Stockholm, SE;

(74) Zástupce:

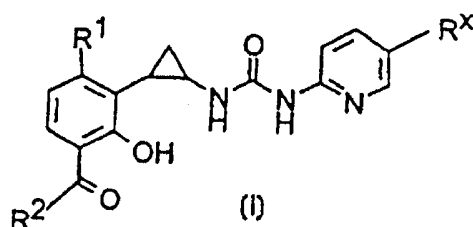
Švorčík Otakar JUDr., Hálkova 2, Praha 2, 12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Antivirové sloučeniny

(57) Anotace:

Sloučeniny vzorce 1, kde R^x je kyano nebo brom; R¹ je halogen; R² je C₁-C₃ alkyl a její farmaceuticky vhodné soli a prodrogy mají antiretrovirovou aktivitu.



Antivirové sloučeniny

Oblast techniky

Vynález se týká antivirových sloučenin a zvláště inhibitorů HIV reverzní transkriptázy. Vynález popisuje nové sloučeniny, farmaceutické kompozice zahrnující tyto sloučeniny a způsoby, jakým jsou využívány pro inhibici HIV.

Dosavadní stav techniky

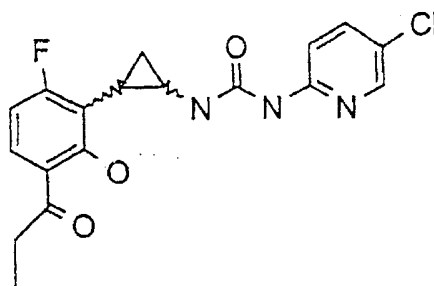
Léčiva, která vykazují klinickou aktivitu při inhibici HIV reverzní transkriptázy při léčení HIV, jsou většinou analogy nukleosidů, jako je AZT, ddI, ddC a D4T. Tyto analogy nukleosidů nejsou tak specifické, jak by bylo potřeba, a proto je nutné je dávkovat v relativně vysokých dávkách. Při těchto dávkách mohou být analogy nukleosidů poměrně toxické, což omezuje jejich dlouhodobé použití.

Pro překonání problémů se specifitou a toxicitou bylo připraveno množství nenukleosidových inhibitorů HIV reverzní transkriptázy. Například TIBO, reverzní transkriptáza od Janssena inhibuje HIV v nanomolárních koncentracích a nevykazuje žádnou významnou klinickou toxicitu. Látka TIBO a nenukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy nevirapin rychle postupovaly k fázi II klinických testů na pacientech. Brzy však bylo zřejmé, že tyto nenukleosidové inhibitory rychle vytvářejí in vivo HIV mutanty, kteří jsou rezistentní vůči běžným dávkám příslušných inhibitorů. V případě nevirapinu byl po čtyřtýdenní terapii izolován z pacientova séra virus 100 krát méně citlivý k léčivu ve srovnání s virem izolovaným z neléčeného pacienta (Drug Design & Discovery 1992 8 str. 255-263). Stejné chování bylo zaznamenáno u ostatních nenukleosidových RT inhibitorů, u nichž začaly klinické zkoušky, u léčiva L-697661 firmy Merck a delavirdin firmy Upjohn (U-87201), a zvláště u léčiv, které in vitro slibovaly značnou aktivitu, se při jejich podávání pacientů projevily rychlý vznik

mutantů rezistentních vůči HIV. Nehledě na tato negativa byly nevirapin a delavirdin nedávno registrovány pro klinické použití, jsou však limitovány pro speciální režimy ve snaze zabránit rozvoji rezistence.

Mezinárodní přihláška vynálezu číslo WO 95/06034 popisují sérii nových derivátů močoviny, které prokazují dobrou aktivitu in vitro vůči HIV reverzní transkriptáze a dobrou inhibici replikace HIV v buněčné kultuře. Praktická příprava sloučenin podle vynálezu WO 95/06034 je ztěžována jejich nedostatečným farmakokinetickým účinkem. Navíc, stejně jako u mnoha nenukleosidových inhibitorů reversní transkriptázy, jsou sloučeniny uvedené v přihlášce vynálezu WO 95/06034 překonávány jinými antivirovými programy v klíčových bodech, kterými jsou pomalý vznik rezistence a výhodný typ aktivity vůči HIV mutantům.

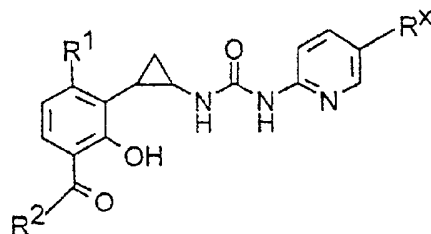
Poster Oberga et al na CAR v Santa Fe v roce 1995 popisoval kromě jiného racemickou sloučeninu v rozsahu výše zmíněné přihlášky vynálezu WO 95/06034, která měla vzorec:



V současnosti je výše uvedená sloučenina méně zajímavá, než její varianty s thiomocovinou, které mají methoxy/acetyl nesoucí fenolový kruh. Autoři vynálezu však zjistili, že jinak substituované typy projevují zvýšenou rezistenci ve srovnání se sloučeninami uvedenými v dosavadním stavu techniky, navíc mají dobré farmakokinetické účinky a prodloužený čas do vzniku rezistence virů. Vynález tedy popisuje inhibitory, které kombinují výtečnou specifitu nenukleosidových inhibitorů spolu s praktickým použitím v klinické praxi, které neprojevují žádné dosud používané inhibitory.

Podstata vynálezu

Podle vynálezu jsou vyráběny sloučeniny obecného vzorce I



kde

R^1 je halogen;

R^2 je C_1 - C_3 alkyl;

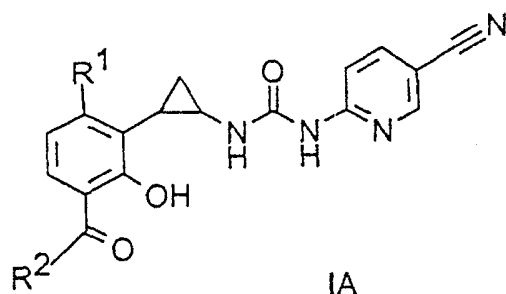
R^x je kyanoskupina nebo brom;

a jejich farmaceuticky přijatelné soli a prodrogy.

Vynález dále popisuje farmaceutické kompozice zahrnující sloučeniny obecného vzorce I a jejich farmaceuticky přijatelné nosiče nebo rozpouštědla. Jako další popisuje vynález způsoby pro inhibici HIV, zahrnující podávání sloučeniny obecného vzorce I subjektům, nakaženým HIV. Vynález rovněž zasahuje do použití sloučenin obecného vzorce I v terapii, jako je příprava léčiv pro léčení HIV infekcí.

Při léčení potíží způsobených HIV, jsou sloučeniny obecného vzorce I výhodně podávány v takovém množství, aby bylo dosaženo v plazmě úrovně od 10 do 1000 nM a výhodněji 100 až 500 nM. Tomu odpovídá množství, v jakém je podávána, což se odvozuje od biologické dostupnosti kompozice, která je 0,01 až 10 mg/kg/den, výhodněji 0,1 až 2 mg/kg/den. Obvykle se podává běžnému dospělému kolem 0,05 až 5 g za den, výhodně 0,1 až 2 g, což je 500-750 mg, v jedné až čtyřech dávkách za den.

Výhodný soubor sloučenin v rozsahu nároku 1, zvláště s přihlédnutím k jejich farmakokinetické účinnosti, má strukturu IA:

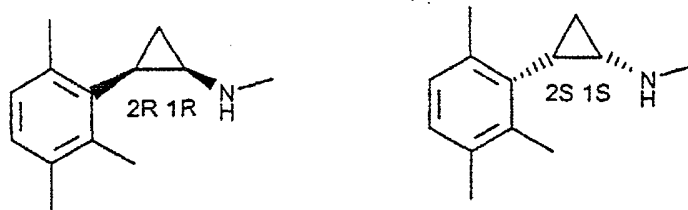


kde R^1 a R^2 byly definovány dříve, včetně jejich farmaceuticky přijatelných solí a prodrog.

Další výhodnou skupinou sloučenin obecného vzorce, zvláště s ohledem na snadnost vytváření prodrog, zahrnuje sloučeniny, kde R^x je brom.

Výhodně je R^1 chlor a ještě výhodněji fluor. Mezi vhodné R^2 skupiny patří methyl, isopropyl, n-propyl a výhodně ethyl.

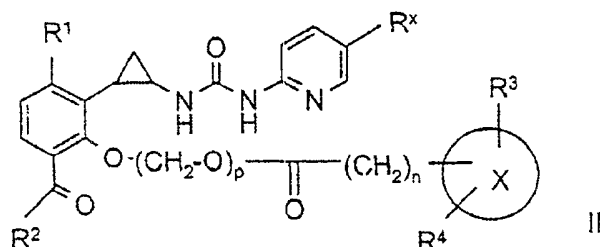
Jak je ukázáno výše, cyklopropylový kruh je v cis konfiguraci, což umožňuje dva enantiomery, 1S, 2S a 1R, 2R (ve vynálezu SE 980016-7 a SE 9800113-4 jsou netradičně popisovány jako 2R,1S a 2S,1R):



Každý z těchto enantiomerů má schopnost působit proti retrovirům, ačkoliv různé enantiomery vykazují jemné rozdíly ve fyziologických vlastnostech. Například enantiomery 1S,2S a 1R,2R mají různý typ metabolismu v P450. Enantiomer 1S,2S sloučenin, kde RX je kyanoskupina, je zvláště výhodný, protože má unikátní schopnost vyřadit klíčové komponenty systému P454. Jiná retrovirální činidla, jako je inhibitor HIV proteázy ritonaviru interagují silně se systémem P450, což vede ke vzniku nežádáných fyziologických odpovědí včetně silných změn metabolismu společně podávaných drog. To je zvláště problémem

i léčiv podávaných při chronických infekcích, kde musí pacient očekávat, že bude používat léčivo roky i desítky let.

Vhodné prodrogy sloučenin obecného vzorce I zahrnují látky obecného vzorce II:



kde

R^1 , R^2 a R^x byly definovány dříve,

R^3 je H, $(CH_m)_nNR^5R^6$;

R^4 je H, C_1 - C_3 alkyl, $(CH_m)_nNR^5R^6$, $(CH_m)_nC(=O)R^5$, $(CH_m)_nOH$, OR^7 , halogen, CF_3 nebo CN; nebo

R^3 a R^4 společně definují 5 nebo 6 členný kruh s 0-2 heteroatomy a/nebo 0-2 nenasycenými vazbami a/nebo 0-2 substituenty;

R^5 je H, C_1 - C_3 alkyl, $C(=O)R^7$ nebo peptid z 1 až 4 aminokyselin;

R^6 je H, C_1 - C_3 alkyl; nebo

R^5 a R^6 společně definují 5 nebo 6 členný kruh s 0 nebo 1 dalším heteroatomem a/nebo 0-2 nenasycenými vazbami a/nebo 0-2 substituenty;

R^7 je H, C_1 - C_{12} alkyl, $(CH_m)_nNR^5R^6$;

X spolu s cyklem, ve kterém je začleněn, tvoří 5 nebo 6 členný kruh s 0 až 3 nenasycenými vazbami a/nebo 0 až 3 heteroatomy vybranými z S, O a N;

$\underline{m}$ je nezávisle 1 nebo 2;

$\underline{n}$ je nezávisle 0, 1 nebo 2;

a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Odpovídající prodrogy sloučenin, kde R^x je chlor, představují další možné aspekty vynálezu.

Kruhová struktura obsahující X, zde označená jako X-kruh, může být nasycená, nebo mít 1-3 nenasycené vazby, včetně kruhů

s aromatickým charakterem. Výhodné X-kruhy zahrnují cyklohexanylový nebo cyklohexenylový kruh nebo výhodněji fenylový kruh. Dalšími výhodnými X-kruhy jsou morfolinové nebo ještě výhodněji pyridylový kruh. Alternativně může X-kruh definovat pětičlenný kruh, jako je pentenylový nebo pyrrolylový kruh.

Spojují-li se R^3 a R^4 se, aby vytvořily kruh obsahující heteroatom, jsou vhodnými spojenými kruhovými systémy pro X-kruh naftylový, chinolylový, tetrahydroisochinolylový, indolylový nebo benzimidazolový kruhový systém. Spojují-li se R^4 a R^5 se, aby vytvořily kruh, jsou vhodnými substituujícími kruhy pro X-kruh morfolinový a piperidinový kruh. Tyto spojené nebo substituované kruhy mohou být případně ještě substituovány halogenem, halomethylovou skupinou, aminoskupinou jako je $(CH_m)_nNR^5R^6$, $C(=O)NRSR^6$, hydroxyskupinou, hydroxymethylskupinou, karboxyskupinou, karboxymethylskupinou, C_{1-3} alkylskupinou, C_{1-3} alkoxykupinou a podobně.

X-kruh může být oddělen od sousední karbonylové části methylenovou nebo ethylenovou skupinou, která může být případně substituována substituenty jako jsou haloskupina, halomethylskupina, aminoskupina, aminomethylskupina, hydroxyskupina, hydroxymethylskupina, karboxyskupina, karboxymethylskupina, C_{1-3} alkylskupina, C_{1-3} alkoxykupina a podobně. Je preferováno, aby X-kruh sousedil s karbonylem.

Výhodně má část reprezentovaná systémem X-kruhu, R^3 , R^4 a, pokud jsou přítomny R^5 - R^7 , má poněkud bazický charakter. Toho může být dosaženo vybráním vhodných bazických heterocyklů, jako je u X-kruhu pyridylový nebo benzopyridylový. Alternativně nebo navíc může jeden z nebo více R^3 až R^7 zahrnovat bazický substituent, jako je primární, sekundární nebo terciární amin, aminokyselina atd.

Výhodné skupiny R^3 a/nebo R^4 zahrnují NH_2 , $N(CH_2)_2$, a NHC_{1-3} alkyl, jako jsou $NHCH_3$ nebo $NHCH_2CH_3$. Výhodněji je R^3 v

meta poloze vůči karbonylu a jeho případný spacer, zvláště pokud X-obsahujícím kruhem je fenyl nebo R_3 , je v para poloze, pokud X-obsahujícím kruhem je heteroaromatický kruh, jako je pyrid-3-yl. Při tom výhodnou hodnotou pro p a/nebo n je nula, tedy pokud příslušné skupiny nejsou přítomny.

Mezi výhodné sloučeniny podle vynálezu patří:

(1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor,2-hydroxy,3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor,2-hydroxy,3-butyrylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor,2-hydroxy,3-acetylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]- N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylfenyl)-cyklopropyl]- N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylfenyl)cyklopropyl]- N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Mezi další výhodné sloučeniny patří:

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]- N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S, 2S)-N-[cis-2-(2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)- 6-fluor-3-butyrylfenyl)-cyklopropyl]- N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylfenyl)-cyklopropyl]- N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-(cis-2-(2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)cyklopropyl)- N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Dalšími vhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou:

(1R,2R)-N-[cis-2-(6-fluor,2-hydroxy,3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-
kyanopyrid-2-yl)-močovina,

(1R,2R)-N-[cis-2-(6-fluor,2-hydroxy,3-butyrylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-
kyanopyrid-2-yl)-močovina,

(1R,2R)-N-[cis-2-(6-fluor,2-hydroxy,3-acetylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-
kyanopyrid-2-yl)-močovina,

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-
cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-
butyrylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-
acetylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-
propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-
butyrylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-
acetylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-
propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-
butyrylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylphenyl)-cyklopropyl]- N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Mimo jiné mezi vhodné sloučeniny patří:

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylphenyl)-cyklopropyl]- N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylphenyl)-cyklopropyl]- N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylphenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylphenyl)cyklopropyl]- N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylphenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylphenyl)cyklopropyl]- N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina;

a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Výhodné sloučeniny podle vynálezu jsou:

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(6-fluor,2-hydroxy,3-propionylphenyl)-cyklopropyl)-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylphenyl)cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylphenyl)cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylphenyl)cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylphenyl)cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylphenyl)cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylphenyl)cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylphenyl)-cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylphenyl)-cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylphenyl)-cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(6-fluor,2-hydroxy,3-propionylphenyl)-cyclopropyl)-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylphenyl)cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylphenyl)cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylphenyl)cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylphenyl)-cyklopropyl]- N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylphenyl)cyclopropyl]- N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylphenyl)cyclopropyl]- N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylphenyl)-cyklopropyl]- N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylphenyl)-cyklopropyl]- N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylphenyl)-cyklopropyl]- N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;
a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Další výhodné sloučeniny jsou:

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylphenyl)-cyklopropyl]- N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylphenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylphenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylphenyl)cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylphenyl)cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylphenyl)-cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylphenyl)-cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylphenyl)-cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylphenyl)-cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylphenyl)cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-butyrylphenyl)-cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-6-fluor-3-acetylphenyl)-cyclopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina;

a jejich farmaceuticky přijatelné soli .

Vhodné farmaceuticky přijatelné soli sloučenin obecného vzorce I zahrnují soli organických karboxylových kyselin jako je octová, mléčná, glukonová, citronová, vinná, maleinová, jablečná, pantothenová, isethionová, šťavelová, laktobionová a jantarová, organické sulfonové kyseliny jako jsou methansulfonová kyselina, ethansulfonová kyselina, benzensulfonová kyselina, p-chlorbenszensulfonová kyselina a p-toluensulfonová kyselina; a

anorganické kyseliny jako je chlorovodíková, jodovodíková, sírová, fosforečná a sulfamová.

Podle současné praxe je při práci s HIV inhibitory výhodné podávat společně jednu až tři antivirové sloučeniny s cílem vyvolat synergickou odezvu a zajistit vzájemně se doplňující typy rezistence. Takovými doplňkovými antivirové prostředky mohou AZT, ddI, ddC, D4T, 3TC, abacavir, adefovir, adefovir dipivoxil, bis-POC-PMPA, foscarnet, hydroxymočovina, Hoechst-Bayer HBY 097, efavirenz, trovirdin, nevirapin, delaviridin, PFA, H2G, ABT 606, DMP-450, liovirid, ritonavir, saquinavir, indinavir, amprenavir (Vertex VX 478), nelfinavir a další, obvykle v molárních množstvích, které odpovídají jejich aktivitě a biologické dostupnosti. Obecně se toto množství pohybuje v rozmezí 25:1 až 1:25 vůči sloučenině obecného vzorcel.

Pokud je možné aktivní látku podávat samostatně, je výhodnější, když je součástí farmaceutické formulace. Tato formulace může zahrnovat aktivní látku, tak jak byla definována dříve, spolu s jedním nebo více přijatelnými nosiči a případně dalšími terapeutickými složkami. Nosič nebo nosiče musejí být kompatibilní s ostatními složkami kompozice a pohodlné pro příjemce.

Formulace zahrnuje složky vhodné pro podávání orálně, rektálně, nasálně, místně (včetně bukálně a sublinguálně), vaginálně nebo parenterálně (včetně podávání subkutánního, intramuskulárního, intravenózního a intradermálního). Formulace může být pohodlně podávána v pevné lékové formě, např. jako tablety a kapsle s pomalým uvolňováním a mohou být připraveny podle běžných postupů, známých ve farmacii.

Tyto běžné postupy zahrnují krok, při němž se výše definované aktivní látky spojují s nosičem. Obecně jsou formulace připravovány standardizovaným a důkladným propojením aktivní látky

s kapalným nosičem nebo jemně zrnitým pevným nosičem nebo oběma, a dále vytvářením konečného produktu, pokud je to třeba.

Formulace pro orální podávání podle vynálezu mohou být samostatnými jednotkami, jako jsou například kapsle, sáčky nebo tablety, z nichž každá obsahuje definované množství aktivní látky ve formě pudru nebo granulí, dále může být podávána aktivní látka ve formě roztoku nebo suspenze ve vodné nebo nevodné kapalině; a nebo jako tekutá emulze oleje ve vodě nebo emulze vody v oleji nebo jako je kaolin atd.

U kompozice pro orální podávání, (tj. tablety nebo kapsle), zahrnuje termín „vhodný nosič“ vehikula, jako jsou obecně známé excipienty, tj. pojiva jako je např. sirup, arabská guma, želatina, sorbitol, tragakant, polyvinylpyrrolidon (Povidon), methylcelulosa, ethylcelulosa, sodná sůl karboxymethylcelulosy, hydroxypropylmethylcelulosa, sacharosa a škrob; plnidla a nosiče, jako jsou např. kukuřičný škrob, želatina, laktosa, sacharosa, mikrokrytalická celuloza, kaolin, manitol, fosforečnan vápenatý, chlorid sodný a kyselina alginová; a mazadla jako jsou stearát hořečnatý a další stearáty kovů, kyselina stearová, silikonová tekutina, mastek, vosky, oleje a koloidní oxid křemičitý. Rovněž mohou být použita ochucovací přísady, jako jsou máta, olej hruštiček, višňová příchuť a další. Může být žádoucí přidávat barviva s cílem snadné rozpoznatelnosti pevné lékové formy. Tablety jsou rovněž dobře známými postupy pokrývány povrchovou vrstvou.

Vhodné nosiče pro orální použití zahrnují kapalné formulace ve formě roztoků, suspenzí nebo emulzí, případně běžnými postupy zapouzdřené nebo jinak realizované ve formě pevné lékové formy. Výhodné formulace jsou arabská guma/TWEEN/voda, TWEEN/voda, propylenglykol, rostlinný olej (jako je podzemnicový, slunečnicový olivový apod.) s 10-20 % ethanolu, rostlinný olej /Capmul MGM, Capmul MCM/propylenglykol, methylcelulosa/voda, rostlinný olej/stearoyl-

monoester glycerolu, rostlinný olej/nenasycený mono ester mastné kyseliny a glycerolu apod.

Tableta může být připravena lisováním nebo tvářením, případně s jednou nebo více dalšími složkami. Lisované tablety mohou být lisovány ve vhodném zařízení, kde je aktivní látka ve formě volně pohyblivé látky, jako je pudr nebo granule, případně smíchána s vázacím činidlem, mazadlem, inertním ředidlem, konzervačním činidlem, povrchově aktivním nebo disperzním činidlem. Tvářené tablety mohou být připraveny v odpovídajícím zařízení tvářením směsi práškových sloučeniny navlhčených inertním ředidlem. Tablety mohou být případně pokryty povrchovou vrstvou nebo vroubkovány a mohou být připraveny tak, aby bylo zajištěno pomalé nebo řízené uvolňování aktivní složky.

Formulace vhodné pro místní aplikaci zahrnují karamely obsahující aktivní složku v ochucené bázi, obvykle sacharosa a arabská guma tragantu; pastilky obsahující aktivní látku v inertní bázi, jako je želatina nebo glycerin, nebo sacharosa a arabská guma; ústní vody zahrnující aktivní látku ve vhodném kapalném nosiči.

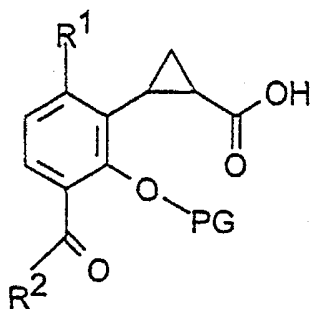
Formulace vhodné pro místní aplikaci na kůži představují masti, krémy gely a pasty zahrnující aktivní látku a farmaceuticky aktivní nosič. Příkladem systému pro povrchovou aplikaci je transdermální mast obsahující aktivní látku. Další formulace pro místní aplikaci zahrnují antiseptické obklady, které uvolňují aktivní látku do kůže a jsou používány místo invazivních postupů jako je injekční podávání nebo dávkování do krevního řečiště. Tyto obklady neutralizují HIV v krvi nebo séru, díky tomu nejsou nutné invazivní postupy, čímž se snižuje nebezpečí přenosu HIV na zdravotnické pracovníky v případě píchnutí kontaminovanou jehlou. Tyto obklady obsahují sterilní chirurgický gázový polštářek nasáknutý v roztoku aktivní látky v těkavém rozpouštědle, jako je ethanol a jsou jednotlivě baleny v odstranitelném obalu.

Formulace pro rektální nebo vaginální podávání představují vaginální nebo rektální čípky s vhodnou bází, kterou je například kakaové máslo nebo salicylát. Dalšími vaginálními prostředky mohou být tampony, krémy, gely, pasty, pěny nebo spreje, které obsahují kromě aktivní látky nosiče, známé a používané podle současného stavu techniky.

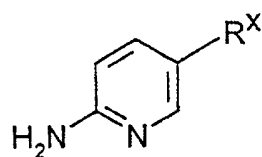
Formulace vhodné pro podávání nosem, kde nosičem je pevná látka, zahrnují hrubší pudr s velikostí částí například v rozmezí od 20 do 500 mikronů, který je podáván tak, že se šňupe, tj. rychlou inhalací ze zásobníku pudru, drženého blízko u nosu. Vhodnými formulacemi tam, kde je nosič kapalný, jsou například nosní sprej nebo nosní kapky, včetně vodných nebo olejovitých roztoků aktivní látky.

Formulace vhodné pro parenterální podávání zahrnují vodné nebo nevodné sterilní injekční roztoky, které mohou obsahovat antioxidanty, pufrы, bakteriostatika a látky, které zajišťují, aby byla formulace isotonická s krví příjemce, dále vodné a nevodné sterilní suspence, které mohou zahrnovat suspenzní činidla a zahušťovadla. Formulace jsou v balení pro jednu nebo více dávek, například v uzavřených ampulkách nebo lahvičkách, a mohou být skladovány vysušené za mrazu (lyofilizované), což umožňuje pouze přidání sterilního kapalného nosiče, například vody pro injekce, okamžitě před použitím. Nouzově se dají připravit injekční roztoky a suspence ze sterilních prášků, granulí a tablet, popsanych dříve.

Dalšími aspekty vynálezu jsou způsoby přípravy sloučenin obecného vzorce I zvláště cis enantiomerů, zahrnující Curtiův přesmyk sloučeniny vzorce:

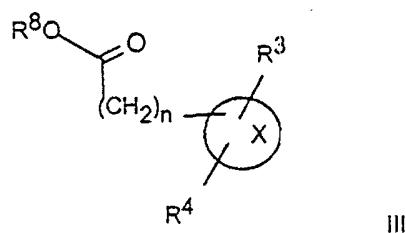


následovaný kopulací sloučeniny obecného vzorce

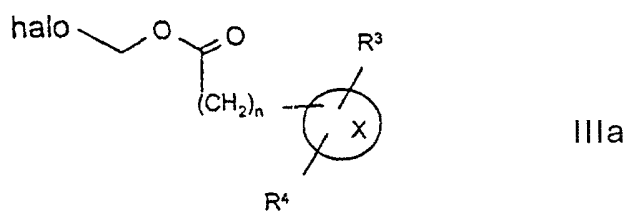


a odstranění chránící skupiny, přičemž R^1 , R^2 a R^X mají význam, jak byly definovány dříve a PG je chráněná hydroxyskupina.

Způsoby podle vynálezu mohou rovněž zahrnovat krok acylace s aktivovanou sloučeninou obecného vzorce III:

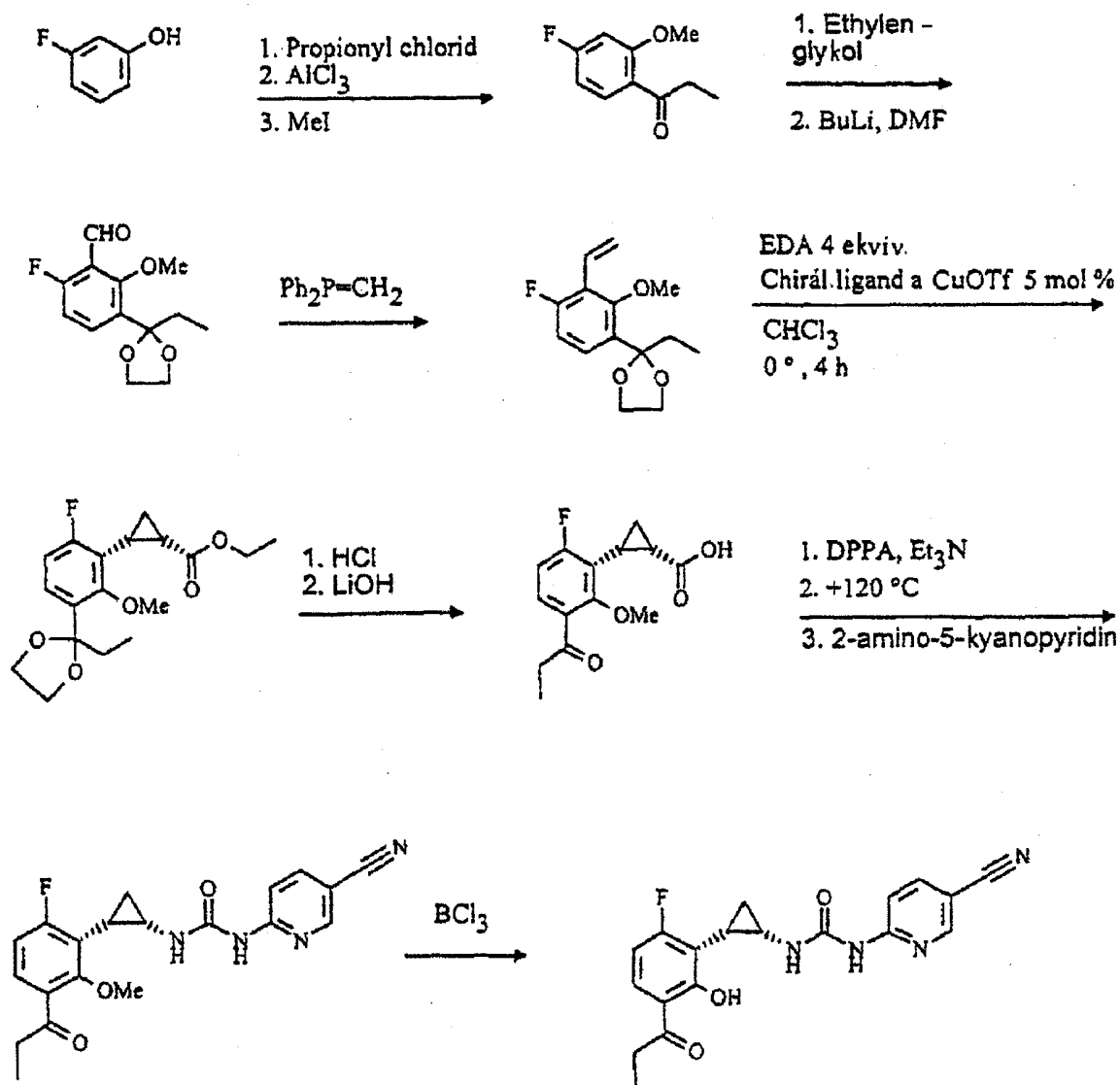


kde R^3 , R^4 , X a n byly definovány dříve, ale jsou případně chráněny, a R^8 je vodík nebo běžná aktivovaná skupina. Alternativně mohou způsoby podle vynálezu zahrnovat krok alkylace se sloučeninou obecného vzorce IIIa:

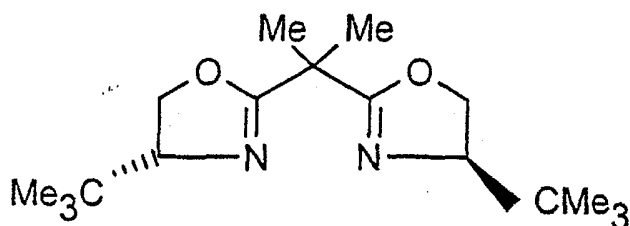


kde n , R^3 , R^4 a X byly definovány dříve, ale byly vystaveny aminovým, hydroxy atd. substituentům, chráněným běžnými chránícími skupinami.

Enantiomerní sloučeniny obecného vzorce musí být připravovány podle uvedeného reakčního schématu:

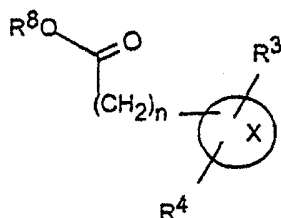


Výše uvedené schéma ilustruje přípravu (1S, 2S) sloučeniny podle vynálezu, kde RX je kyano, R^1 je F a R^2 je ethyl, ale odpovídající metoda je použitelná na varianty s jinými R^x , R^1 a R^2 . Chirálním ligandem uvedeným ve čtvrtém kroku může být například sloučenina vzorce:



Pro přípravu 1R, 2R enantiomeru se použije zrcadlově obrácený chirální ligand. Alternativně může být chirální ligand vynechán, čímž se získá racemická směs.

Prodrogy obecného vzorce II, kde p je 0, mohou být syntetizovány acylací sloučeniny obecného vzorce I s aktivovanou sloučeninou obecného vzorce III,



kde R^3 , R^4 , X a n byly definovány dříve, ale jsou případně chráněny, a R^8 je vodík nebo běžná aktivovaná skupina.

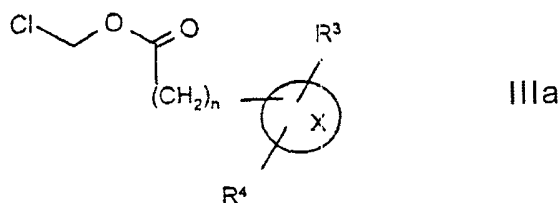
Aktivované sloučeniny obecného vzorce III zahrnují kyselé halogenidy, anhydridy kyselin, aktivované estery kyselin nebo kyselinu v přítomnosti kopulačního činidla, jako je dicyklohexylkarbodiimid. Vzorové aktivované deriváty kyseliny zahrnují kyselý chlorid, smíšené anhydridy odvozené od kyseliny octové a mravenčí, anhydridy odvozené do alkoxykarbonylhalogenidů, jako je isobutyloxykarbonylchlorid a podobně, estery odvozené od N-hydroxysukcinamidu, estery odvozené od N-hydroxyftalimidu, estery odvozené od N-hydroxy-5-norbomen-2,3-dikarboxamidu, estery odvozené od 2,4,5-trichlorfenolu a další. Vhodné případné chránicí skupiny pro sloučeniny vzorce III, zvláště kterékoliv constituent aminy, zahrnují skupiny, které mají ochránit N-terminus aminokyseliny nebo peptidu nebo chránit aminoskupinu před nežádoucí reakcí během postupů syntézy. Běžně používané N-chránicí skupiny

jsou popsány v publikaci Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis" {John Wiley & Sons, New York, 1981 }, která je zde uvedena jako odkaz. N-chránicí skupiny zahrnují acylskupiny jako je například formyl, acetyl, propionyl, pivaloyl, terc.-butylacetyl, 2-chloracetyl, 2-bromacetyl, trifluoracetyl, trichloracetyl, fthalyl, o-nitrofenoxyacetyl, α -chlorbutyryl, benzoyl, 4-chlorbenzoyl, 4-brombenzoyl, 4-nitrobenzoyl, a podobně; sulfonylové skupiny jako jsou benzensulfonyl, p-toluensulfonyl, a podobně, skupiny tvořící karbamát jako jsou benzyloxykarbonyl, p-chlorbenzyloxykarbonyl, p-methoxybenzyloxykarbonyl, p-nitrobenzyl-oxykarbonyl, 2-nitrobenzyloxykarbonyl, p-brómbenzyloxykarbonyl, 3,4-dimethoxybenzyloxykarbonyl, 4-methoxybenzyloxykarbonyl, 2-nitro-4,5-dimethoxybenzyloxykarbonyl, 3,4,5-trimethoxybenzyloxykarbonyl, 1-(p-bifenyl)-1-methylethoxykarbonyl, α,α -dimethyl-3,5-dimethoxybenzyloxykarbonyl, benzhydrixykarbonyl, t-butoxykarbonyl, diisopropylmethoxykarbonyl, isopropyloxykarbonyl, ethoxykarbonyl, methoxykarbonyl, allyloxykarbonyl, 2,2,2-trichlorethoxykarbonyl, fenoxycarbonyl, 4-nitrofenoxycarbonyl, fluoren-9-yl-methoxykarbonyl, cyklopentyloxykarbonyl, adamantyloxykarbonyl, cyklohexyloxykarbonyl, fenylthiokarbonyl, a podobně; alkylskupiny jako jsou benzyl, trifenylmethyl, benzyloxymethyl a podobně; a silylskupiny jako je trimethylsilyl a podobně. Výhodné N-chránicí skupiny zahrnují formyl, acetyl, benzoyl, pivaloyl, t-butylacetyl, fenylsulfonyl, benzyl, t-butoxykarbonyl (BOC) a benzyloxykarbonyl (Cbz).

Acylace je prováděna v běžnými esterifikačními postupy, jako DMAP a DCC v rozpouštědle jako je dimethylformamid nebo pyridin. Chránicí skupiny mohou být případně odstraněny běžnými postupy, důkladně popsány v publikaci Greena uvedené dříve, jako jsou TFA, HCl(vod.)/dioxan nebo hydrogenací v přítomnosti katalyzátoru za vzniku sloučeniny obecného vzorce II.

Sloučeniny obecného vzorce II, kde p je 1, mohou být připraveny reakcí sloučeniny obecného vzorce III s jodchlormethanem

nebo směsí dichlor/jodchlormethan za běžných podmínek alkylace za vzniku sloučeniny obecného vzorce IIIa:



kde n , R^3 , R^4 a X byly definovány dříve, ale kde vystavené amino, hydroxy atd. substituenty jsou chráněny běžnými chránícími skupinami. Sloučenina vzorce IIIa je pak výhodně převedena na odpovídající derivát jódu reakcí NaI následovanou kopulací sloučeninou obecného vzorce I, obvykle v bazickém prostředí, jako je organické rozpouštědlo obsahující hydrid sodný.

Podrobný popis

Jednotlivá provedení vynálezu budou dále popsána prostřednictvím příkladů s odkazy na příklady a nákresy, které však neomezují rozsah vynálezu, kde:

obr. 1 ukazuje poměr vzniku rezistence vůči času pro sloučeninu podle vynálezu ve srovnání s dříve známou sloučeninou, jak bylo popsáno v Biologickém příkladu 2;

obr. 2 ukazuje závislost času a množství látky v plazmě po orálním podání sloučeniny podle vynálezu krysám ve srovnání se s dříve známou sloučeninou, jak bylo popsáno v Biologickém příkladu 5;

obr. 3 ukazuje kinetiku vazby reverzní transkriptázy sloučeniny podle vynálezu ve srovnání s dříve známou sloučeninou, jak bylo testováno s metodou resonance povrchového plasmonu, popsanou v Biologickém příkladu 10.

Příprava meziproduktů

Příklad 1

3-[1,1-(Ethylendioxy)propyl]-6-fluor-2-methoxybenzaldehyd

Do roztoku 3-fluorfenolu (22,4 g, 0,2 mol), pyridinu (24 ml, 0,3 mol) a dichlormethanu (200 ml) bylo při teplotě místnosti v průběhu 5 min přidáno 20 ml (0,225 mol) propionylchloridu. Reakce byla exotermní. Roztok byl míchán dalších 30 min. Po přidání dichlormethanu byla organická fáze promyta nasyceným roztokem NaHCO_3 a vodou, vysušena MgSO_4 a zahuštěna pod vakuem. Bylo získáno 33,8 g (100%) 3-fluor-1-propionyloxybenzenu. Tato sloučenina se nechala reagovat s 33,3 g (0,25 mol) AlCl_3 při 150 °C po dobu 10 min. Po opatrném zalití vodou byla reakční směs extrahována třikrát etherem. Etherová fáze byla vysušena (MgSO_4) a odpařena za vzniku 29,5 g (0,176 mol, 88%) produktu přesmyku. Tento meziprodukt byl rozpuštěn v 200 ml acetonu a byly přidány K_2CO_3 (42 ml, 0,3 mol) a MeI (25 ml, 0,4 mol). Reakční směs byla zahřívána na 40 °C po dobu 12 h. Reakční směs byla filtrována a aceton byl odpařen. Zbytek byl rozpuštěn v etheru a etherová fáze byla promyta 0,5 M roztokem NaOH a vodou. Vysušením (MgSO_4) a odpařením bylo získáno 31,2 g (0,17 mol, souhrnný výtěžek třech kroků = 86 %) 4-fluor-2-methoxypropiofenonu.

Do roztoku 4-fluor-2-methoxypropiofenonu (31,2 g, 0,171 mol) a ethylenglykol (10,5 ml, 0,188 mol) v benzenu (300 ml) byl přidán 1 g kyseliny p-toluensulfonové. Reakční směs byla refluxována v Dean-Starkově přístroji po 12 h. Po ochlazení byla organická fáze promyta několikrát 1M roztokem NaOH a vysušena (Na_2SO_4 a K_2CO_3). Rozpouštědlo bylo odpařeno, čímž bylo získáno 38 g acetalu. Jeho čistota dosahovala podle kapilární GC 88 % a jako nečistota zde byl přítomen především nezreagovaný keton. Do roztoku acetalu v THF (450 ml) při -65 °C a v dusíkové atmosféře bylo přidáno po kapkách 128 ml (0,32 mol) 2,5 M n-BuLi. Zatímco byla teplota udržována na přibližně

-65 °C, byl přidán roztok DMF (25 ml, 0,32 mol) v THF (50 ml). Reakční směs byla ponechána, aby zvolna dosáhla teploty místnosti a podle analýz GC po 30 min v ní nezůstal žádný vstupní materiál. Po další hodině byla reakční směs zalita nas. roztokem NH_4Cl a extrahována třikrát etherem. Po vysušení (Na_2SO_4) byl zbytek vyčištěn na silikagelové koloně (silikagel 60 firmy Merck, velikost částic 0,04-0,063 mm) eluce soustavou EtOAc/hexany 1:9 za vzniku 10 g (25 %) titulní sloučeniny.

^1H NMR (CDCl_3) δ 0,85 (t, 3H), 2,1 (q, 2H), 3,8-3,95 (m, 2H), 3,97 (s, 3H), 4,0-4,15 (m, 2H), 6,9 (t, 1H), 7,7-7,8 (m, 1H), 10,4 (s, 1H).

Příklad 2

3-[1,1-(Ethyldioxy)propyl]-6-fluor-2-methoxystyren

Do suspenze methyltrifenylfosfoniumbromidu (14,3 g, 40 mmol) v THF (250 ml) bylo při teplotě místnosti a v dusíkové atmosféře přidáno 16 ml (40 mmol) 2,5 M n-BuLi. Do většiny získaného roztoku byl pak přidán 3-[1,1-(ethyldioxy)-propyl]-6-fluor-2-methoxybenzaldehyd (10 g, 39,5 mmol) v THF (30 ml). Reakční směs byla potom míchána při teplotě místnosti po dobu 2 h a nalita do směsi hexanů a solanky. Organická fáze byla promyta dvakrát solankou a jedenkrát vodou. Po odpaření rozpouštědla byl zbytek filtrován přes nálevku naplněnou aluminou (oxid hlinitý 90 acc. Brockmann od firmy Merck) a eluován soustavou EtOAc/hexany 1:9 s cílem odstranit vzniklý trifenylfosfoniumoxid. Odpařením organického rozpouštědla byl získán zbytek, který byl nakonec vyčištěn na silikagelu s elucí soustavou EtOAc/hexany 1:9 za vzniku 6,9 g (70 %) titulní sloučeniny s čistotou 94,5 %, stanovenou kapilární GC.

^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) δ 0,85 (t, 3H), 2,1 (q, 2H), 3,8 (s, 3H), 3,8-3,95 (m, 2H), 4,0-4,1 (m, 2H), 5,55-5,65 (m, 1H), 5,95-6,05 (m, 1H), 6,7-6,85 (m, 2H), 7,37,4 (m, 1H).

Příklad 3

(1S,2R)-cis-2-(6-fluor-2-methoxy-3-propionylfenyl)cyklopropyl-
karboxylová kyselina

Ethylester (1S,2R)-cis-2-[3-(1,1-ethyldioxy)ethyl-6-fluor (2-methoxyfenyl)cyklopropylkarboxylové kyseliny byl připraven z 3-[1,1-(ethyldioxy)propyl]-6-fluor-2-methoxystyrenu (19,4 g, 69 mmol) a ethyldiazoacetátu (29 ml, 275 mmol) s použitím asymetrické cyklopropanační reakce katalyzované Cu(I)triflate (679 mg, 1,35 mmol) a chirálním ligandem ([2,2'-isopropylidenbis((4R)-4-terc.-butyl-2-oxazolin)] (794 mg, 2,7 mmol) obecně popsáným v Evans et al v J.Am.Chem.Soc. 1991, 113, 726-728. Po silikagelové chromatografii bylo získáno 9,4 g (40,5 %) ethylesteru. Přebytek enantiomeru byl 99%, což bylo prokázáno HPLC na chirální koloně. Ester byl rozpuštěn v 150 ml dioxanu a bylo přidáno 30 ml 6M HCl. Reakční směs byla míchána přes noc a rozdělena mezi ether a solanku. Rozpouštědlo bylo odpařeno za vzniku 19 g surového produktu. Tento produkt byl rozpuštěn v methanolu (250 ml) a vodě (75 ml) a bylo přidáno 6 g (250 mmol) LiOH. Reakční směs byla zahřívána na 90° C po 24 h a byla odpařena většina rozpouštědla. Zbylá směs byla okyselena a extrahována třikrát dichlormethanem. Odpařením rozpouštědla bylo získáno 11,2 g titulní sloučeniny.

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 1,15 (t, 3H), 1,59 (t, 2H), 2,10-2,17 (m, 1H), 2,22-2,32 (m, 1H), 2,91 (q, 2H), 3,80 (st, 3H), 6,82 (t, 1H), 7,44-7,50 (m, 1H), 11,30 (široký s, 1H).

Příklad 4

(1R,2S)-cis-2-(6-fluor-2-methoxy-3-propionylfenyl)cyklopropyl-
karboxylová kyselina

Tato sloučenina byla připravena z 3-[1,1-ethyldioxy)propyl]-6-fluor-2-methoxystyrenu jak bylo popsáno v případě kyseliny v příkladu 3. Byl použit chirální ligand 2,2'-isopropylidenbis[(4S)-4-terc.-butyl-2-oxazolin].

^1H NMR (250 Mhz, CDCl_3) δ 7,48 (q, 1H), 6,84 (t, 1H), 3,82 (s, 3H), 2,93 (q, 2H), 2,29 (q, 1H), 2,14 (q, 1H), 1,60 (m, 2H), 1,16 (t, 3H).

Příprava sloučenin obecného vzorce I a II

Příklad 5

($\pm$)N-[cis-2-(2-(6-fluor-2-hydroxy-3-propionylfenyl)-cyklopropyl)-N'-(5 kyanopyrid-2-yl-močovina

Roztok 3-[1,1-(ethylendioxy)propyl]-6-fluor-2-methoxy-styrenu (32,4 g, Příklad 2) a komplexu bromid-dimethylsulfidu s mědí (0,30 g) v dichlorethanu (200ml) byl zahříván v dusíkové atmosféře na 80°C . V průběhu 7 hodin byl přidán ethyldiazoacetát (54 ml) v dichlorethanu (600 ml). Po dokončení přidávání bylo ukončeno zahřívání. Po 16 h bylo rozpouštědlo odpařeno a zbytek byl vyčištěn na silikagelu, eluován ethylacetátem a hexany za vzniku cis-esteru (6,5 g).

Tento cis-ester (3,7 g, 10,9 mmol) byl rozpuštěn v ethanolu (20 ml) a KOH (1,8 g, 2,7 mmol) byl rozpuštěn ve vodě (10 ml). Roztoky byly spojeny a zahřívány pod refluxem po dobu 3 h. Byla přidána voda (30 ml) a roztok byl několikrát promyt hexany (20 ml). Vodní fáze byla ochlazená v ledové lázni a okyselena zředěnou HCl. Roztok byl extrahován třikrát toluenem. Toluenová fáze byla vysušena (MgSO_4) a odpařena za vzniku 1,9 g ($\pm$)-cis-2-[3-(1,1-ethylendioxypropyl)-6-fluor-2-methoxyfenyl]cyklopropylkarboxylové kyseliny.

Do roztoku kyseliny (120 mg, 0,39 mmol) v suchém toluenu byl přidán triethylamin (59 μl , 0,43 mmol) a difenylfosforylazid (92 μl , 0,43 mmol). Roztok byl míchán při teplotě místnosti po dobu 1 h a potom byl zahříván na 120°C . Po 1 h byl přidán 2-amino-5-kyanopridin (51 mg, 0,43 mmol). Zahřívání bylo udržováno po další 3 h. Po 16 h bylo rozpouštědlo odpařeno, zbytek byl rozpuštěn v dichlormethanu (30ml), promyt zředěnou HCl, vysušen (MgSO_4) a odpařen za vzniku 152 mg. Tento produkt byl rozpuštěn v dioxanu a bylo přidáno HCl (6N,

1 ml). Po 2 h byla směs odpařena, rozpuštěna v dichlormethanu (25ml), promyta vodou (10+10 ml), vysušena (MgSO_4) a odpařena za vzniku 117 mg látky. Zbytek byl vyčištěn na silikagelu, eluován ethylacetátem a hexany za vzniku 37 mg 2-methoxyfenylového meziproduktu.

Roztok 1M bromidu boritého v dichlormethanu (194 μl , 0,194 mmol) byl při -60°C přidán do roztoku meziproduktu 2-methoxyfenylu (37 mg, 0,097 mmol) v dichlormethanu. Po 10 min byla chladicí lázeň odstraněna a míchání pokračovalo po 2 h. Roztok byl zředěn dichlormethanem, promyt zředěným NaHCO_3 a vodou, vysušen (MgSO_4) a odpařen. Zbytek byl rekrystalizován z MeCN, bylo získáno 17 mg titulního produktu.

^1H NMR (250 MHz, DMSO-d_6) δ 1,07-1,16 (m, 4H), 1,41-1,50 (m, 1H), 1,91-2,01 (m, 1H), 3,06-3,19 (m, 3H), 6,86 (dd, 1H), 7,43 (d, 1H), 7,84-7,90 (m, 1H), 7,97-8,48 (m, 2H), 8,32 (d, 1H), 9,83 (s, 1H), 13,2 (d, 1H).

Příklad 6

(1R,2R)-N-(cis-2-(6-fluor-2-hydroxy-3-propionylfenyl)-cyklopropyl)-N'-(5- α -cyanopyridyl-2-yl)-močovina

Triethylamin (0,85 ml, 6,1 mmol) a difenylfosforylazid (1,72 g, 6,1 mmol) byly přidány do roztoku kyseliny připravené v příkladu 4 (1,47 g, 5,5 mmol) v suchém toluenu (15 ml). Roztok byl míchán při teplotě místnosti pod argonem po dobu 30 min a potom zahříván na 120°C . Po 15 min byl přidán roztok 2-amino-5- α -cyanopyridinu (0,99 g, 8,9 mmol) v DMF (3 ml) a zahřívání pokračovalo po dobu 4 h. Toluén byl odpařen a směs byla zředěna diethyletherem (100 ml) a ethylacetátem (50 ml) a promyta 1 M HCl, H_2O a solankou. Organická vrstva byla vysušena (Na_2SO_4) a koncentrována. Zbytek byl vyčištěn mžikovou kolonovou chromatografií na silikagelu s elucí soustavou ethylacetát/n-hexan od 1:10 do 1:1 za vzniku 1,6 g (66 %) 2-methoxyfenylového meziproduktu.

1 M roztok chloridu boritého v CH_2Cl_2 (11,0 ml, 11,0 mmol) bylo přidáno do roztoku 2-methoxyfenylového meziproduktu (1,40 g, 3,66 mmol) v CH_2Cl_2 (80 ml) při -72°C pod argonem. Po 10 min byla odstraněna chladicí lázeň a míchání pokračovalo po dobu 1h 15 min. Roztok byl zředěn CH_2Cl_2 a promyt vodným roztokem NaHCO_3 , H_2O a solanky. Organická vrstva byla vysušena (Na_2SO_4) a koncentrována. Vysrážením ze soustavy acetonitril/ H_2O 1:1 bylo získáno 0,62 g čisté titulní sloučeniny. Zbytek byl koncentrován a chromatografií s elucí soustavou ethylacetát/n-hexan 1:10 až 1:1 a ethylacetátem, a poté bylo krystalizací z acetonitrilu získáno 0,2 g titulního produktu. Výtěžek byl 0,82 g (61 %). Čistota byla 95 %, jak bylo stanoveno HPLC na chirální koloně $[\alpha]_D^{22} -171,2^\circ$ ($c = 0,50$, CH_2Cl_2)

^1H NMR (250 Mhz, CDCl_3) δ 13,35 (d, 1H), 10,02 (br s, 1H), 9,40 (br s, 1H), 8,11 (s, 1H), 7,71 (m, 2H), 7,00 (m, 1H), 6,61 (t, 1H), 3,21 (m, 1H), 3,01 (q, 2H), 2,03 (m, 1H), 1,55 (m, 1H), 1,29 (m, 4H).

Příklad 7

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxyl-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopronyl)-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina]

Do roztoku sloučeniny popsané v příkladu 6 (1,64 g, 4,4 mmol), byla přidána BOC-chráněná 3-aminobenzoová kyselina (1,6 g, 6,6 mmol) a 4-dimethylaminopyridin (269 mg, 2,2 mmol) v 20 ml dichlormethanu a 10 ml DMF při teplotě místnosti a pod argonem bylo přidáno 1,36 g (6,6 mmol) DCC. Reakční směs byla míchána 24 hodin. Rozpouštědlo bylo opatrně odpařeno a zbytek vyčištěn na silikagelu s použitím soustavy hexany/ethylacetát 1:1 jako rozpouštědla za vzniku 2,6 g BOC-chráněného titulního produktu. Tento produkt byl přidán při 0°C do 75 ml trifluoroctové kyseliny. Směs byla potom míchána při 0°C po dobu 1 hodiny. Rozpouštědlo bylo opatrně odstraněno ve vakuu. Zbytek byl rozdělen mezi ethylacetát a nas. uhličitán draselný. Organická fáze byla vysušena a odpařena. Zbytek byl vyčištěn na

silikagelové koloně s použitím soustavy ethylacetát/hexany 4:1 jako eluentu za vzniku 1,03 g volné báze titulní sloučeniny. Tento meziprodukt byl dále upraven 3 ml 1M HCl v etheru a bylo získáno 0,84 g titulní sloučeniny. Čistota podle HPLC asi 97 %.

^1H NMR uvolněného aminu (250 MHz, CDCl_3) δ 1,09 (t, 3H), 1,2-1,3 (m, 1H), 1,4-1,5 (m, 1H), 1,95-2,00 (m, 1H), 2,83 (q, 2H), 3,15-3,25 (m, 1H), 3,85 (s, 2H), 6,90 (dd, 2H), 7,09 (t, 1H), 7,20-7,27 (m, 1H), 7,44-7,46 (m, 1H), 7,56 (dd, 1H), 7,65-7,77 (m, 2H), 8,13 (d, 1H), 9,1 (široký s, 1H); 9,6 (široký s, 1H).

Příklad 8

(1S,2S)-N-(cis-2-(6-fluor-2-hydroxy-3-propionylfenyl)-cyklopropyl)-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina

Triethylamin (6701, 4,8 mmol) a difenylfosforylazid (1,05 ml, 4,9 mmol) byly přidány v dusíkové atmosféře do roztoku kyseliny připravené v příkladu 3 (1,2 g, 4,5 mmol) v suchém toluenu (10 ml). Roztok byl míchán při teplotě místnosti po dobu 30 min. a potom byl zahříván na 120°C. Po 15 min. byl přidán roztok 2-amino-5-kyanopyridinu (0,80 g, 6,7 mmol) v dimethylformamidu (1,5 ml) a zahřívání pokračovalo po dobu 4 h. Roztok byl zředěn diethyletherem a promyt 1 M kyselinou chlorovodíkovou. Organická vrstva byla vysušena (MgSO_4) a koncentrována. Zbytek byl vyčištěn mžikovou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce začínala soustavou n-hexan:ethylacetát 1:1, končila čistým ethylacetátem), čímž byl získán poněkud znečištěný 2-methoxyfenylový derivát (0,93 g). Opakovanou chromatografií, stejnou jak bylo popsáno, byl získán 2-methoxyfenylový derivát (0,70 g, 41%).

1M roztok chloridu boritého v methylenchloridu (5,5 ml, 5,5 mmol) byl přidán do roztoku 2-methoxyfenylového meziproduktu (700 mg, 1,8 mmol) v methylenchloridu při -60°C. Po 10 min. byla chladicí lázeň odstraněna a míchání pokračovalo 2 h. Roztok byl zředěn

methylenchloridem a promyt vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Organická vrstva byla vysušena (MgSO_4) a koncentrována a byl zbytek vyčištěn mžikovou chromatografií na silikagelu (gradient, n-hexan:ethylacetát 2:1, 1:1, 1:2, ethyl acetát:methanol (8:1), byla získána titulní sloučenina (500 mg, 74%).

$[\alpha]_D^{22} + 165,0^\circ$ ($C = 0,5$, CH_2Cl_2).

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$) δ 1,10-1,1d (m, 4H, CH_3 , CH-cyklopropyl), 1,45 (dd, 1H, CH_2 - cyklopropyl), 1,96 (q, 1H, CH-cyklopropyl), 3,10-3,19 (m, 3H, CH-cyklopropyl, CH_2), 6,85 (t, 1H, Ar), 7,43 (d, 1H, Ar), 7,86-8,07 (m, 3H), 8,32 (s, 1H), 9,83 (s, 1H), 13,22 (s, 1H, Ar-OH).

Příklad 9

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxyl-6-fluor-3-propionylfenyl)cyklopropyl)]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina

Jako výchozí materiál byla použita sloučenina z Příkladu 6 a bylo použito postupů popsaných v příkladu 7, byl získán titulní produkt jako hydrochloridová sůl.

^1H NMR (250 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 0,94 (t, 3H), 0,9-1,0 (m, 1H), 1,3-1,4 (m, 1H), 1,85-1,95 (m, 1H), 2,91 (q, 2H), 3,05-3,15 (m, 1H), 7,4-7,5 (m, 2H), 7,6-7,7 (m, 1H), 7,9-8,1 (m, 5H), 8,08 (d, 1H), 9,85 (s, 1H).

Příklad 10

(1S,2S)-N-(cis-2-(6-fluor-2-hydroxy-3-propionylfenyl)-cyklopropyl)-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina

(1S;2R)-cis-2-(6-fluor-2-methoxy-3-propionylfenyl)cyklopropylkarboxylová kyselina (3,0g, 11,3 mmol), triethylamin (1,58 ml, 11,3 mmol) a difenylfosforylazid (2,44 ml, 11,3 ml) byly rozpuštěny v suchém toluenu (8 ml) při teplotě místnosti a pod argonem. Reakční směs byla míchána při teplotě místnosti po dobu 30 min a poté byla teplota zvýšena na 120°C a udržována na této úrovni

po dalších 15 min. Potom byl přidán 2-amino-5-brompyridin (2,088, 12 mmol) a reakční směs byla míchána při 120 °C po dobu 2,5 hodin. Byly přidány benzen a roztok 1M HCl a organická fáze byla odpařena. Zbytek byl vyčištěn na silikagelu s použitím soustavy hexany:ethylacetátem 1:1 jako eluentu. Odpovídající frakce byly spojeny a bylo tak získáno 5,0 g (1S, 2S)-N-(cis-2-(6-fluor-2-methoxy-3-propionyl-fenyl)-cyklopropyl)-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močoviny. Tato sloučenina byla rozpuštěna v dichlormethanu (100 ml) a roztok byl udržován pod argonem a ochlazen na -65 °C. Potom byl přidán 1M roztok chloridu boritého v dichlormethanu (30 ml, 30 mmol) a reakční směs byla ponechána, aby přes noc dosáhla teploty místnosti. Byly přidány dichlormethan a nas. hydrogenuhličitan sodný. Organická fáze byla odpařena a zbytek vyčištěn na silikagelu s použitím soustavy ethylacetát: methanol 9:1 jako eluentu. Bylo získáno 1,96 g (41 %) titulní sloučeniny.

Analýza: Vypočteno: C 51,2 , H 4,1, N 9,9. Nalezeno: C 51,5, H 3,7, N 9,5. Teplota tání: 198-199 °C. $[\alpha]_D^{22} + 149,8^\circ$ (c= 0,50, CH₂Cl₂)

¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 1,28 (t, 3H), 1,52-1,62 (m, 2H), 1,94-2,05 (m, 1H), 2,97-3,06 (m, 2H), 3,17-3,20 (m, 1H), 6,60 (t, 1H), 6,76 (široký s, 1H), 7,57 (dd, 1H), 7,67-7,72 (m, 1H), 7,83 (široký s, 1H) 8,53 (široký s, 1H), 13,32 (d, 1H).

Příklad 11

(1R,2R)-N-(cis-2-(6-fluor-2-hydroxy-3-propionylfenyl)-cyklopropyl)-N'-(5-brompyridyl-2-yl)-močovina

Asymetrická cyklopropanační reakce, popsaná v příkladu 3, byla použita na sloučeninu popsanou v příkladu 2 s použitím chirálního ligandu 2,2'-isopropylidinbis(4S)-4-terc.butyl-2-oxazolin (obchodně dostupný u firmy Aldrich). Získaná (1R, 2S)-cis-2-(6-fluor-2-methoxy-3-propionylfenyl)cyklopropylkarboxylová kyselina byla potom použita způsobem podobným Příkladu 10 za vzniku titulní sloučeniny.

^1H NMR (250 MHz, DMSO- d_6) δ 1,05-1,15 (m, 1H), 1,12 (t, 3H), 1,40-1,50 (m, 1H), 1,90 (q, 1H), 3,00-3,10 (m, 1H), 3,12 (q, 2H), 6,82 (t, 1H), 7,18 (d, 1H), 7,78 (dd, 1H), 7,88 (široký s, 1H), 7,95=8,05 (m, 1H), 9,41 (široký s, 1H), 13,20 (s, H). $[\alpha]_D^{22}$ -153,8 ° ($c=0,50$, CH_2Cl_2)

Příklad 12

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina

Do roztoku složeného ze sloučeniny z Příkladu 10 (633 mg, 1,5 mmol), BOC-chráněné 3-aminobenzoové kyseliny (475 mg, 2 mmol) a 4-dimethylaminopyridinu (123 mg, 1 mmol) v 20 ml dichlormethanu:DMF 1:1 bylo přidáno při teplotě místnosti a pod argonem 415 mg (2 mmol) DCC. Reakční směs byla míchána po dobu 36 hodin. Rozpouštědlo bylo opatrně odpařeno a zbytek vyčištěn na silikagelu s použitím soustavy hexany:ethylacetát 1:1 jako rozpouštědla za vzniku 811 mg BOC-chráněného titulního produktu. Tento produkt byl rozpuštěn v dioxanu (20 ml) a bylo přidáno 10 ml 6M HCl a směs byla míchána přes noc. Rozpouštědlo bylo opatrně odstraněno ve vakuu. Zbytek upraven ethanolem a etherem a bylo získáno 255 mg titulního produktu ve formě HCl soli. Čistota podle HPLC byla asi 93 %.

^1H NMR (250 MHz, CD_3OD) δ 1,15 (t, 3H), 1,3-1,4 (m, 1H), 1,5-1,6 (m, 1H), 2,05-2,15 (m, 3H), 3,04 (q, 2H), 3,23-3,27 (m, 1H), 7,16 (d, 1H), 7,34 (t, 1H), 7,85-7,93 (m, 2H), 8,05 (dd, 1H), 8,19 (široký d, 1H), 8,26 (široký s, 1H), 8,35-8,37 (m, 1H), 8,42 8,46 (m, 1H).

Příklad 13

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-L-alanylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina

Výchozí sloučenina, BOC-chráněná 3-L-alanylaminobenzoová kyselina, byl připravena z TCE-chráněné 3-aminobenzoové

kyseliny s použitím standardních chemických postupů, viz např. Bodanszky "Practice of Peptide Synthesis", 2. vydání, Springer. Tato sloučenina se nechala reagovat se sloučeninou z Příkladu 10, jak bylo popsáno v příkladu 12 za vzniku titulního produktu ve formě HCl soli.

^1H NMR (250 MHz, uvolněný amin, CDCl_3) δ 1,10 (t, 3H), 1,15-1,25 (m, 1H), 1,41,5 (m, 1H), 1,42 (d, 2H), 1,76 (široký s, 2H), 1,88-1,97 (m, 1H), 2,84 (q, 2H), 3,13,2 (m, 1H), 3,59-3,67 (m, 1H), 6,78 (d, 1H), 7,09 (t, 1H), 7,85-7,93 (m, 2H), 8,08 (d, 1H), 8,11 (s, 1H), 8,29 (široký s, 1H), 9,05 (široký s, 1H), 9,70 (široký s, 1H).

Příklad 14

(1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(4-pyridylkarbonyloxy)fenyl]cyklopropyl}-N'-(5-brompyrid-2-yl)močovina

Postupem analogickým Příklad 12, byl produkt z Příkladu 10 kondenzován kyselinou isonikotinovou za vzniku titulního produktu jako HCl soli.

^1H NMR (250 MHz, CD_3OD) δ 9,26 (d,2H), 8,83 (d,2H), 8,14 (m,2H), 8,04 (dd, 1H), 7,39 (t,1H), 7,10 (d,1H), 3,38 (m,1H), 3,08 (m,2H), 2,15 (m,1H), 1,62 (m,1H), 1,38 (m, 1H), 1,13 (t,3H).

Příklad 15

(1S,2S)-N-{cis-2-[2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl]cyklopropyl}-N'-(5-brompyrid-2-yl)močovina

Postupem analogickým Příklad 12, byl produkt z Příkladu 10 kondenzován kyselinou 3-dimethylaminobenzoovou za vzniku titulního produktu jako HCl soli.

^1H NMR (250 MHz, CD_3OD) δ s 8,61 (s,1H), 8,45 (d,1H), 8,15-8,03 (m,4H), 7,92 (t,1H), 7,34 (t, 1H), 7,10 (d, 1H), 3,48 (s,6H); 3,28 (m, 1H), 3,00 (m,2H), 2,11 (m, 1H), 1,58 (m,1H), 1,38 (m,1H), 1,14 (t,3H).

Příklad 16

(1S,2S)-N-[(cis-2-(2-(3-aminomethylbenzoyloxymetyloxy)-5-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl)-N'-(5-brompyrid-2-yl)močovina

Na 3-t-butoxykarbonylamidomethylbenzoovou kyselinu bylo působeno roztokem hydroxidu tetrabutylamonného (1M v MeOH) až bylo dosaženo pH 9 a byla směs odpařena. Zbytek byl rozpuštěn v dichlormethanu a bylo na něj působeno přes noc chlorjodmethanem. Roztok byl promyt vodou a odpařen, čímž byl získán surový 3-t-butoxykarbonylamidomethylbenzoyloxymethylchlorid. Tato sloučenina se nechala reagovat s sodnou solí látky z Příkladu 10 (připravena reakcí s hydridem sodným v DMF) s malým přídatkem jodidu sodného jako katalyzátoru. Po 2 hodinách byla reakce zalita kyselinou octovou a byla zředěna dichlormethanem, promyta vodou a odpařena. Surový produkt byl vyčištěn na silikagelu s elucí soustavou ethylacetát/hexan 1:2 a čistá sloučenina byla rozpuštěna v kyselině trifluoroctové a směs byla odpařena, čímž byla získána trifluoroctová sůl titulní sloučeniny jako pevná látka.

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,1 (t, 3H) 1,3-1,5 (m, 2H) 2,2 (q, 1H) 2,9 (m, 2H) 3,2 (bs, 1H) 4,2 (s, 2H) 5,9 (q, 2H) 6,8 (d, 2H) 7,0 (t, 1H) 7,3-8,1 (m, 9H).

Příklad 17

(1S,2S)-N-(cis-2-(2-(3-amino-4-methylbenzoyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)cyklopropyl)-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina

(1S,2S)-N-(cis-2-(6-fluor-2-hydroxy-3-propionylfenyl)-cyklopropyl)N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina z Příkladu 10 byla kondenzována s 3-t-butoxykarbonylamido-4-methylbenzoovou kyselinou podle postupu z Příkladu 12. Produkt byl dále rozpuštěn trifluoroctovou kyselinou a odpařen, byla získána trifluoroctová sůl titulní sloučeniny jako pevná látka.

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,1 (t, 3H) 1,3-1,5 (m, 2H) 1,9 (q, 1H) 2,4 (s, 3H) 2,9 (q, 2H) 3,1 (BS, 1H) 7,1 (t, 1H) 7,4 (d, 1H) 7,8 (m, 1H) 7,9 (m, 2H) 8,1 (s, 1H) 8,3 (s, 1H)

Příklad 18

(1S,2S)-N-(cis-2-(2-(3-ethylaminobenzoyloxy)-6-fluor-3-propionyl-fenyl)cyklopropyl)-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina

Sloučenina z Příkladu 10 byla kondenzována s 3-(N-ethyl-t-butoxykarbonylamido)benzoovou kyselinou podle postupu v příkladu 12 a produkt byl rozpuštěn trifluoroctovou kyselinou a pak byl odpařen, byla získána trifluoroctová sůl titulní sloučeniny jako pevná látka.

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,1 (t, 3H) 1,3-1,6 (m, 5H) 2,9 (q, 2H) 3,1 (bs, 1H) 3,5 (q, 2H) 7,1 (t, 1H) 7,2 (bs, 1H) 7,6 (t, 1H) 7,7-7,8 (m, 2H) 7,9 (d, 1H) 8,1 (s, 1H) 8,2 (d, 1H) 8,4 (s, 1H)

Příklad 19

(1S,2S)-N-(cis-2-(2-(chinolo-4-yloxy-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl)-N'-(5-brompyrid-2-yl)močovina

Sloučenina z Příkladu 10 byla kondenzována s 4-chinolinovou kyselinou podle postupu v příkladu 12. Produkt byl rozpuštěn v trifluoroctové kyselině a odpařen, byla získána octová sůl titulní sloučeniny jako pevná látka.

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,1 (t, 3H) 1,2 (m, 1H) 1,5 (m, 1H) 1,9 (m, 1H) 2,8 (q, 2H) 3,2 (bs, 1H) 6,7 (d, 1H) 7,2 (t, 1H) 7,5 (m, 1H) 7,7 (t, 1H) 7,8-8,0 (m, 2H) 8,2 (d, 1H) 8,3 (d, 1H) 8,8 (d, 1H) 9,1 (m, 2H) 9,2 (bs, 1H).

Příklad 20

(1S,2S)-N-(cis-2-(3-aminomethyl-2-methylbenzoyloxy)-fluor-3-propionylfenyl)cyklopropyl)-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina

Sloučenina z Příkladu 10 byla kondenzována s 3-t-butyloxykarbonylamido-2-methylbenzoovou kyselinou podle postupu v příkladu 12. Produkt rozpuštěn v trifluoroctové kyselině a odpařen s výtěžkem titulní sloučeniny jako pevné látky.

^1H NMR (CDCl_3) δ 1,1 (t, 3H) 1,1-1,3 (m, 2H) 1,9 (m, 1H) 2,5 (s, 3H) 2,9 (q, 2H) 3,1 (bs, 1H) 4,2 (s, 2H) 7,0-7,2 (m, 2H) 7,4 (d, 1H) 7,6-7,7 (m, 2H) 7,8-8,0 (m, 2H) 8,2 (bs, 2H).

Příklad 21

(1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor-2-(4-aminomethylfenylkarbonyloxy)-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina

4-(terc.-butyloxykarbonylamidomethyl)benzoová kyselina byla připravena přidáním 6,5 g DCC do roztoku 4 g 4-kyanobenzoové kyseliny v 200 ml MeOH. Směs byla míchána 70 hodin při teplotě místnosti, filtrací byl odstraněna sraženina dicyklohexylmočoviny a filtrát byl koncentrován ve vakuu s výtěžkem 7 g surového produktu. Methylester byl rozpuštěn v 500 ml MeOH a bylo přidáno 9,6 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Na směs bylo postupně působeno NaBH_4 . Po 5 h byla reakční směs koncentrována a sraženina byla odstraněna. Filtrát byl okyselen 150 ml 1M HCl (vod.) a extrahován 2x100 ml CH_2Cl_2 . Na okyselenou vodní fázi bylo působeno 100 ml 25 % NH_3 (vod.), pak byla extrahována 3x100 ml CH_2Cl_2 , vysušena Na_2SO_4 a koncentrována za vzniku 2,64 g hnědavého oleje.

Olej byl rozpuštěn ve 30 ml směsi dioxan/voda (2:1) a bylo na něj působeno po 20 hodin 1,5 g NaOH (v pevném stavu). Rozpouštědlo byl odstraněno a bylo přidáno 40 ml směsi t-butanol/voda (1:1). Po přidání 3,7 g di-terc.-butyldikarbonátu byl roztok míchán 24 hodin, pak bylo přidáno více vody a směs byla extrahována 2x50 ml hexanu. Vodní fáze byla okyselena ($\text{pH} \sim 1,5 - 2,0$) pomocí NaHSO_4 a extrahována 3x75 ml etheru. Spojené extrakty byly promyty 50 ml solanky, vysušeny Na_2SO_4 a odpařeny s výtěžkem meziproductu, 4-

(terc.-butyloxykarbonylamido-methyl)benzoové kyseliny, jako bílé pevné látky.

4-(terc.-butyloxykarbonylamidomethyl)benzoová kyselina a (1S,2S)-N-(cis-2-(6-fluor-2-hydroxy-3-propionylfenyl)-cyklopropyl)-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina z Příkladu 10 byly kondenzovány BOC-chránící skupina byla odstraněna s použitím metody popsané v příkladu 12, čímž byl získán titulní produkt jako HCl sůl.

^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) δ 9,98 (t, 3H), 1,05-1,20 (m, 1H), 1,31-1,49 (m, 1H), 1,69-1,90 (m, 1H), 2,65 (q, 2H), 3,33-3,49 (m, 1H), 4,31 (široký s, 2H), 7,02-7,22 (m, 2H), 7,35-7,49 (m, 1H), 7,50-7,68 (m, 2H), 7,69-7,83 (m, 2H), 8,08 (d, 1H) 8,37 (široký s, 1H).

Příklad 22

(1S,2S,R)-N-[cis-2-(6-fluor-2-(N-methylindol-5-karboxyloxy)-3-propionyl-fenyl)cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina

i) Příprava N-methylindol-5-karboxylové kyseliny

0,1 g indol-5-karboxylové kyseliny bylo smícháno s 2 ekvivalenty methyltrifluormethansulfonátu v 1 ml DMF při teplotě místnosti. Po 5 h bylo rozpouštědlo odpařeno a bylo zjištěno ^1H NMR spektrum:

^1H NMR (250 MHz, DMSO- d_6) δ 2,76 (s, 3H), 6,57 (široký s, 1H), 7,46-7,50 (m, 2H), 7,75 (dd, 1H), 8,23-8,29 (m, 2H), 11,56 (široký s, 1H).

ii) Příprava titulní sloučeniny.

N-methylindol-5-karboxylová kyselina a (1S, 2S)-N-(cis-2-(6-fluor-2-hydroxy-3propionylfenyl)-cyklopropyl)-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina z Příkladu 10 byly kondenzovány s použitím postupů,

popsaných v příkladu 12, čímž byl získán titulní produkt jako hydrochloridová sůl.

^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) δ 1,08 (t, 3H), 1,15-1,25 (m, 1H), 1,39-1,50 (m, 1H), 1,92-2,08 (m, 1H), 2,89 (q, 2H), 2,90 (s, 3H), 3,20-3,35 (m, 1H), 6,55 (široký s, 1H), 6,65 (široký d, 1H), 7,11 (t, 1H), 7,20-7,29 (m, 2H), 7,41 (dd, 1H), 7,72-7,83 (mn, 2H), 7,95 (dd, 1H), 8,51 (široký s, 1H), 9,25 (široký s, 1H), 9,43 (široký s, 1H).

Příklad 23

(1S, 2S)-N-[cis-2-(6-fluor-2-(indol-4-karboxyloxy)-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina

Indol-4-karboxylová kyselina a (1S, 2S)-N-(cis-2-(6-fluor-2-hydroxy-3-propionylfenyl)-cyklopropyl)-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina z Příkladu 10 byly kondenzovány s použitím postupu, popsaného v příkladu 12, čímž byl získán titulní produkt jako hydrochloridová sůl.

^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) δ 1,07 (t, 3H), 1,17-1,30 (m, 1H), 1,31-1,47 (m, 1H), 1,90-2,10 (m, 1H), 2,89 (q, 2H), 3,02-3,18 (m, 1H), 6,75 (široký d, 1H), 7,00-7,35 (m, 4H), 7,55 (dd, 1H), 7,60 (d, 1H), 7,79 (dd, 1H), 7,89 (d, 1H), 8,10 (d, 1H), 9,27 (široký d, 2H).

Příklad 24

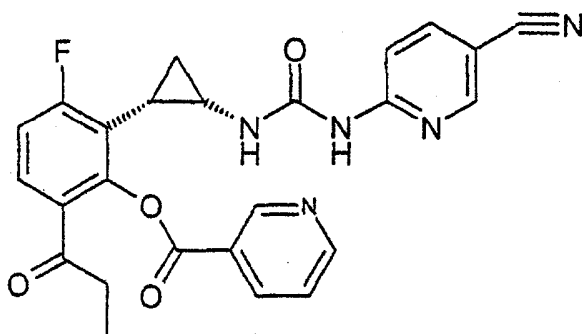
(1S, 2S)-N-[cis-2-(6-fluor-2-(3-amino-4-chlorfenylkarboxyloxy)-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina

Kyselina 3-amino-4-chlorbenzoová a (1S, 2S)-N-(cis-2-(6-fluor-2-hydroxy-3-propionylfenyl)-cyklopropyl)-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina z Příkladu 10 byly kondenzovány s použitím postupu popsaného v příkladu 12, čímž byl získán titulní produkt jako hydrochloridová sůl.

^1H NMR (250 MHz, uvolněný amin, CDCl_3) 8 1,10 (t, 3H), 1,17-1,30 (m, 1H), 1,42-1,52 (m, 1H), 1,88-2,01 (m, 1H), 2,88 (q, 2H), 3,19-3,31 (m, 1H), 4,25 (široký s, 2H), 6,80 (široký d, 1H), 7,09 (t, 1H), 7,35 (t, 1H), 7,48-7,60 (m, 2H), 7,66 (d, 1H), 7,73-7,88 (m, 2H), 9,25 (široký s, 2H).

Příklad 25

(1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor-2-(pyrid-3-ylkarbonyloxy)-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina

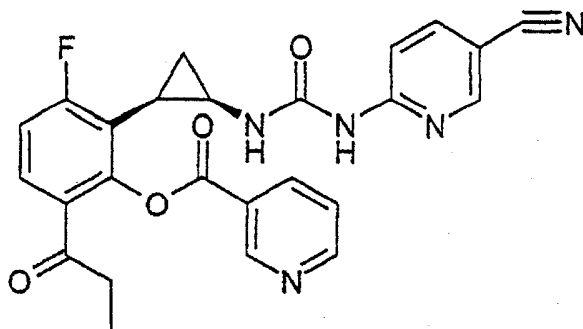


Suchá směs sloučeniny z Příkladu 8 (50 g, 0,68 mmol), N,N'dicyklohexylkarbodiimidu (0,168 g, 0,81 mmol), kyseliny nikotinové (0,1 g, 0,81 mmol) a 4-(dimethylamino)pyridinu (0,041 g, 0,34 mmol) byla rozpuštěna v CH_2Cl_2 (5 ml) a N,N-dimethylformamidu (DMF) (2,5 ml). Směs byla potom míchána při teplotě místnosti. Po 20 hodinách byla směs zfiltrována a vysušena ve vakuu, potom znovu rozpuštěna v minimálním množství dichlormethanu a zfiltrována. Čistý roztok byl odpařen a na silikagelu vyčištěn chromatografií (ethylacetát) za vzniku titulní sloučeniny (0,168 g, 50 %). Vzorek pro analýzu byl získán rekrystalizací ze soustavy chloroform-hexan.

^1H NMR (CDCl_3): 9,89 (br s, 1H), 9,41 (m, 1H), 9,33 (br s, 1H), 8,86 (dd, 1H), 8,46 (dt, 1H), 8,18 (d, 1H), 7,80 (dd, 1H), 7,71 (dd, 1H), 7,49 (ddd, 1H), 7,13 (t, 1H), 6,92 (d, 1H), 3,18 (m, 1H), 2,88 (q, 2H), 1,99 (m, 1H), 1,52 (m, 1H), 1,25 (m, 1H), 1,13 (t, 3H).

Příklad 26

(1R,2R)-N-[cis-2-(6-fluor-2-(pyrid-3-ylkarbonyloxy)-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina

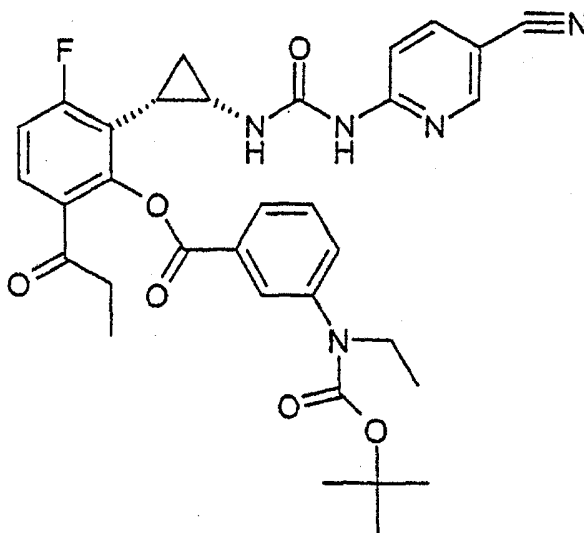


Suchá směs sloučeniny z Příkladu 6 (0,1 g, 0,27 mmol), N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu (0,067 g, 0,33 mmol) a kyseliny nikotinové (0,037 g, 0,3 mmol) byla suspendována v dichlormethanu (2 ml). Po kapkách bylo přidáno minimum DMF, čímž byl získán poměrně čistý roztok. Potom byl přidán 4-(dimethylamino)pyridin (0,016 g, 0,14 mmol). Reakční směs byla míchána při teplotě místnosti. Po 20 hodinách bylo rozpouštědlo odpařeno ve vakuu a surový zbytek byl rozpuštěn ve vodné kyselině chlorovodíkové (pH 1-2) a zfiltrován. Čistý roztok byl potom poněkud zalkalizován hydrogenuhličitanem sodným a vysrážený produkt byl odfiltrován. Čištěním chromatografií (dichlormethan-methanol, 15:1) byla získána titulní sloučenina, 0,072 g (56 %).

^1H NMR (CDCl_3): 9,85 (br s, 1H), 9,42 (s, 1H), 9,35 (br s, 1H), 8,86 (d, 1H), 8,47 (dt, 1H), 8,18 (d, 1H), 7,81 (dd, 1H), 7,71 (dd, 1H), 7,48 (dd, 1H), 7,13 (t, 1H), 6,92 (d, 1H), 3,19 (m, 1H), 2,91 (q, 2H), 1,99 (m, 1H), 1,49 (m, 1H), 1,24 (m, 1H), 1,13 (t, 3H).

Příklad 27

(1S,2S)-N-[(cis-2-(2-(3-N-ethyl,N-Boc-amino)fenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionyfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanonyrid-2-yl)-močovina

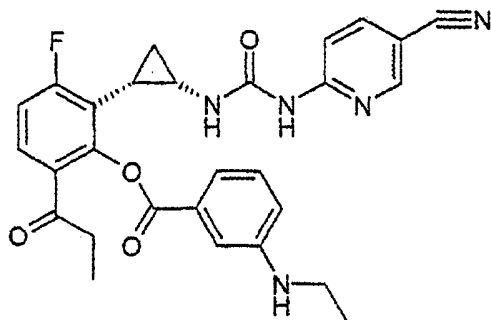


Sloučenina z Příkladu 8 (0,37 g, 1,0 mmol), N,N'-dicyklohexylkarbodiimid (0,25 g, 1,2 mmol), 4-dimethylaminopyridin (0,06 g, 0,5 mmol) a kyselina 3-(N-ethyl-N-butoxykarbonyl)aminobenzoová (0,320 g, 1,2 mmol) (připravená redukční aminací 3-aminobenzoové kyseliny, následované ochranou aminoskupiny) byly rozpuštěny v dichlormethanu (8 ml) a DMF (3 ml). Směs byla potom míchána při teplotě místnosti. Po 18 hodinách bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a surový produkt byl opět rozpuštěn v dichlormethanu a zfiltrován. Čirý roztok byla odpařen a chromatografován na silikagelu (ethylacetát/hexan, 3:2) za vzniku dostatečně čisté titulní sloučeniny (0,24 g, 39 %).

^1H NMR (CDCl_3): 10,0 (br s, 2H), 8,20 (d, 1H), 8,06 (d, 1H), 8,03 (m, 1H), 7,77 (dd, 1H), 7,70 (dd, 1H), 7,48 (m, 2H), 7,10 (t, 1H), 6,95 (d, 1H), 3,71 (q, 2H), 3,14 (m, 1H), 2,90 (q, 2H), 1,95 (q, 1H), 1,44 (s, 10H), 1,2- 1,09 (m, 7H).

Příklad 28

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionyl-fenyl)cyclopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina

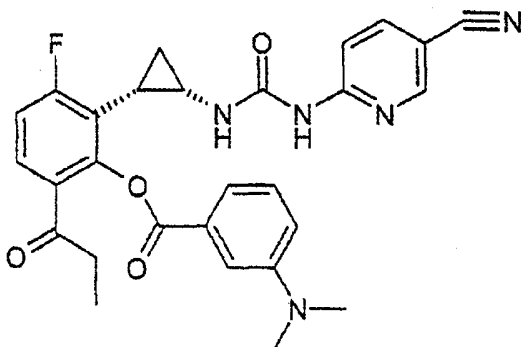


Trifluoroctová kyselina (5 ml) byla přidána do míchaného roztoku sloučeniny z Příkladu 27 (0,120 mg, 019 mmol) v dichlormethanu (10 ml). Směs byla ponechána při teplotě místnosti po dobu 1-2 hodin, potom byla odpařena do sucha. Surový produkt byl vyčištěn HPLC (prep. C-18 kolona, 40% voda v acetonitrilu) s výtěžkem 0,045 g (30 %) titulní sloučeniny trifluoroctové soli.

^1H NMR (CDCl_3): 11,08 (br s, 2H), 9,83 (br s, 1H), 9,36 (br s, 1H), 8,23-8,08 (m, 3H), 7,82-7,54 (m, 4H), 7,13 (t, 1H), 7,02 (d, 1H), 3,42 (q, 2H), 3,20 (m, 1H), 2,83 (q, 2H), 1,94 (q, 1H), 1,46 (m, 1H), 1,34 (t, 3H), 1,24 (m, 1H), 1,06 (t, 3H).

Příklad 29

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina



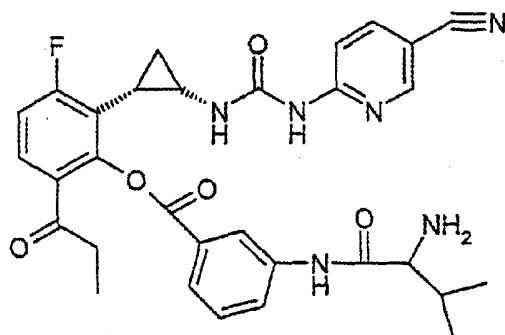
Sloučenina z Příkladu 8 (0,1 g, 0,27 mmol), N,N'-dicyklohexylkarbodiimid (0,067 g, 0,33 mmol), 4-dimethylaminopyridin

(0,016 g, 0,14 mmol) a kyselina 3-dimethylaminobenzoová (0,054 g, 0,39 mmol) byly rozpuštěny v dichlormethanu (3 ml) a DMF (1 ml). Reakční směs byla ponechána při teplotě místnosti po dobu 16 hodin. Rozpouštědlo bylo potom odstraněno ve vakuu a pevná látka byla znovu rozpuštěna v dichlormethanu a zfiltrována. Čištěním chromatografií (ethylacetát/hexan, 2:1) s následnou HPLC (C-18 kolona 0,1 % TFA v acetonitrilu) byla získána titulní sloučenina jako trifluoroctová sůl, 0,1 g (58 %).

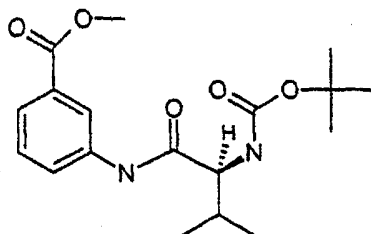
^1H NMR (CDCl_3): 8,38-8,23 (m, 3H), 7,92- 7,69 (m, 4H), 7,15 (t, 1H), 7,05 (m, 1H), 3,32 (s, 6H), 3,26 (m, 1H), 2,89 (q, 2H), 2,02 (m, 1H), 1,55-1,27 (m, 2H), 1,10 (t, 3H).

Příklad 30

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-L-valinylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina



a) 3-(N-Boc-L-valyl)aminomethylbenzoát

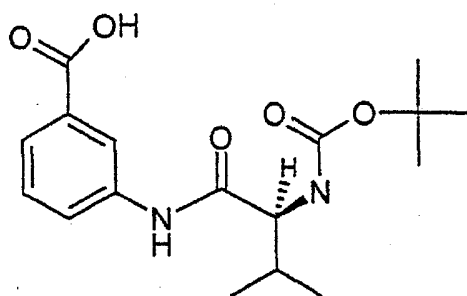


Tento meziprodukt byl připraven postupem podle Villaneuve & Chan, Tetrahedron Letters 1997, sv. 37 6489-6492. Směs N-terc.-butoxykarbonyl-L-valinu (2,17 g, 10 mmol) a hexachloracetonu (1,32 g 5 mmol) v dichlormethanu (20 ml) byla míchána v dusíkové atmosféře a ochlazena na -78 stupňů C. Po kapkách byl přidán trifenyfosfin (2,6 g,

10 mmol) v dichlormethanu (10 ml) a směs byla míchána po dobu 30 min. Potom byl přidán po kapkách methyl-3-aminobenzoát (1,5 g, 10 mmol) v dichlormethanu (10 ml), po něm následoval triethylamin (1 g, 10 mmol) v dichlormethanu. Reakce byla ponechána, aby dosáhla teploty místnosti a potom bylo rozpouštědlo odpařeno pod vakuem. Zbytek byl vyčištěn chromatografií na silikagelu (hexan/ethylacetát, 3:1) a následnou rekrystalizací ze soustavy ethylacetát/hexan za vzniku 0,7 g (28 %) čistého meziproductu vyobrazeného výše.

^1H NMR (CDCl_3): 8,30 (br s, 1H), 8,07 (d, 1H), 7,85-7,75 (m, 2H), 7,37 (t, 1H), 5,15 (d, 1H), 4,05 (m, 1H), 3,91 (s, 3H), 2,26 (m, 1H), 1,48 (s, 9H), 1,03 (dd, 6H).

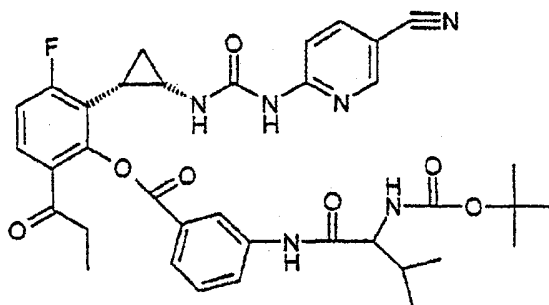
b) 3-(N-Boc-L-valyl)aminobenzoová kyselina



Meziprodukt z kroku a) (0,65 mg, 1,8 mmol) byl suspendován v methanolu (6 ml) a vodě (2 ml). Byl přidán hydroxid lithný (0,11 g, 3,9 mmol) a směs byla míchána po dobu 24 hodin při teplotě místnosti. Potom byla přidána voda (10 ml) a objem byl zmenšen na polovinu. Vodný roztok byl promyt 10-20 ml ethylacetátu, potom okyselen vodnou kyselinou chlorovodíkovou. Extrakcí ethylacetátem (2 x 20 ml), vysušením a odpařením ve vakuu byl získán čistý meziproduct vyobrazený výše, 0,524 g (84%).

^1H NMR (CD_3OD): 8,23 (t, 1H), 7,84 (d, 1H), 7,76 (d, 1H), 7,42 (t, 1H), 6,70 (d, 1H), 4,00 (m, 1H), 2,08 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,00 (d, 6H).

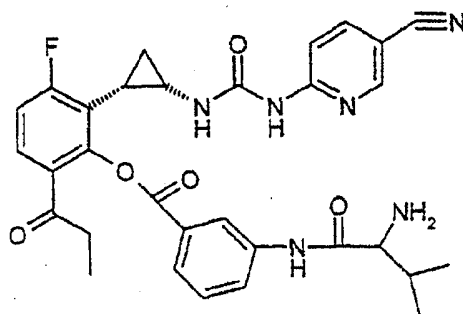
c) (1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-N-Boc-L-valinylaminofenylkarbonyloxy)-6-(fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina



Sloučenina z Příkladu 8 (0,23 g, 0,62 mmol), N,N'-dicyklohexylkarbodiimid (0,153 g, 0,74 mmol), 4-dimethylaminopyridin (0,038 g, 0,3 mmol) a meziprodukt z kroku b) (0,25 g, 0,74 mmol) byly rozpuštěny v dichlormethanu (9 ml) a DMF (3 ml). Reakce byla ponechána při teplotě místnosti po dobu 19 hodin. Rozpouštědlo bylo potom odstraněno ve vakuu a pevná látka byla znovu rozpuštěna v dichlormethanu a zfiltrována. Čištěním chromatografií (ethylacetát/hexan, 1:1) bylo získáno 0,029 g (67%) čisté N-chráněné titulní sloučeniny.

^1H NMR (CD_3OD): 8,56 (t, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,98-7,82 (m, 4H), 7,53 (t, 1H), 7,23 (t, 1H), 7,10 (d, 1H), 3,98 (d, 1H), 3,09 (m, 1H), 2,90 (q, 2H), 2,06-1,93 (m, 2H), 1,44 (m, 10H), 1,18-0,94 (m, 10H).

d) (1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-L-valinylaminofenylkarbonyloxy)-6-(fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina



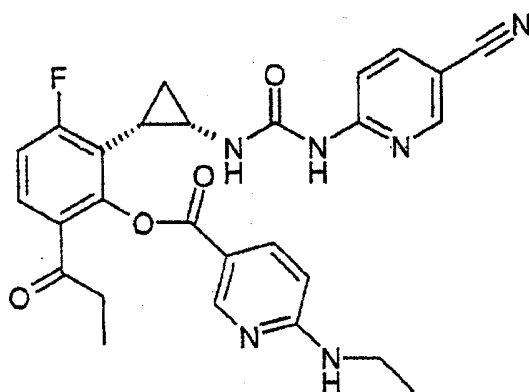
N-chráněná sloučenina z kroku c (0,16 g, 0,23 mmol) a thiofenol (0,054 g, 0,46 mmol) byly rozpuštěny v dichlormethanu (6 ml) a ochlazeny na 0 stupňů C. Byla přidána trifluoroctová kyselina (6ml) a

směs byla ponechána až dosáhla teploty místnosti a nechala se stát 1 hodinu. Odpařením do sucha následovaným čištěním chromatografií (dichlormethan/methanol, 10:1,5) bylo získáno 0,150 g (90 %) titulní sloučenina jako TFA sůl.

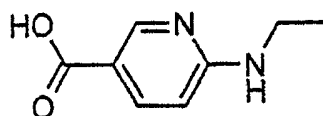
^1H NMR (CD_3OD) 8,60 (s, 1H), 8,25 (d, 1H), 8,0-7,85 (m, 4H), 7,53 (t, 1H), 7,21 (t, 1H), 7,09 (d, 1H), 5,0 (m, 1H), 3,12 (m, 1H), 2,96-2,87 (m, 2H), 2,20 (m, 1H), 1,97 (m, 1H), 1,46 (m, 1H), 1,09-1,03 (m, 1 OH).

Příklad 31

(1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-ethylaminopyrid-3-karbonyl-oxy)fenyl]cyklopropyl}-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)močovina



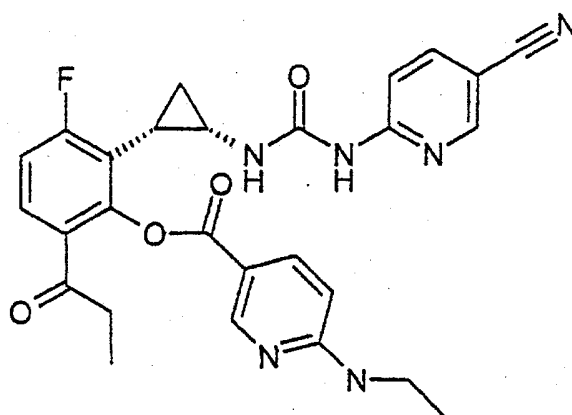
a) kyselina 6-ethylaminonikotinová



Tento meziprodukt byl připraven z kyseliny 6-chlornikotinové a ethylaminu stejným postupem, jaký byl popsán pro Příklad 35 krok a). Pro extrakci byl nahrazen ethylacetát 1-butanolem. Rekrystalizací (soustava $\text{MeOH}-\text{CHCl}_3$) bylo získáno 0,53 g (50%) titulní sloučeniny.

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): 12,1 (br s, 1H), 8,54 (d, 1H), 7,77 (dd, 1H), 7,15 (t, 1H), 6,45 (dd, 1H), 3,33 (m, 2H), 1,14 (t, 3H).

b) (1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-ethylaminopyrid-3-yl)-karbonyloxy]fenyl}cyklopronyl}-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)močovina

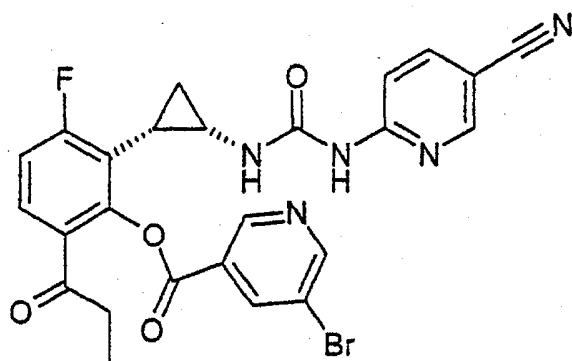


Sloučenina z příkladu 8 (0,1 g, 0,27 mmol), kyselina 6-ethylaminonikotinová, (0,084 g, 0,54 mmol), N,N'-dicyklohexylkarbodiimid (0,127 g, 0,62 mmol) a 4-dimethylaminopyridin (0,016 g, 0,13 mmol) byly rozpuštěny v DMF (3 ml) a ponechány při teplotě okolí. Po 19 hodinách bylo rozpouštědlo odstraněno pod vakuem a zbytek byl suspendován v dichlormethanu a filtrován. Rozpouštědlo bylo odstraněno a surový produkt byl vyčištěn chromatografií (ethylacetát/hexan, 2:1) za vzniku titulní sloučeniny (0,063 g, 45 %).

^1H NMR (CDCl_3): 9,85 (br s, 1H), 9,25 (br s, 1H), 8,91 (d, 1H), 8,18-8,02 (m, 3H), 7,76-7,67 (m, 2H), 7,65 (t, 1H), 6,96 (d, 1H), 6,37 (d, 1H), 5,40 (m, 1H), 3,37 (m, 2H), 3,19 (m, 1H), 2,8 (q, 2H), 1,98 (m, 1H), 1,49 (m, 1H), 1,28 (t, 3H), 1,15 (m, 1H), 1,10 (t, 3H).

Příklad 32

(1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(5-brompyrid-3-ylkarbonyloxy)-fenyl]cyklopronyl}N'-(5-kyanopyrid-2-yl)močovina

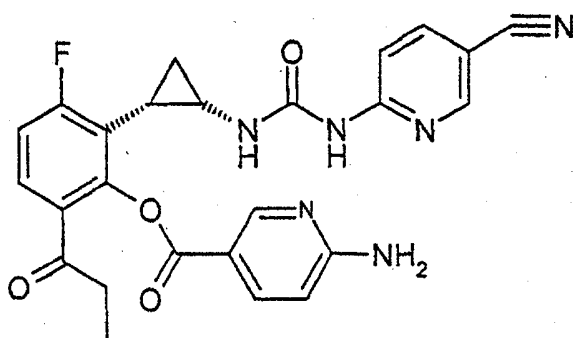


Kyselina 5-bromnikotinová (0,065 g, 0,33 mmol), sloučenina z příkladu 8 (0,1 g, 0,27 mmol), N,N'-dicyklohexylkarbodiimid (0,127 g, 0,62 mmol) a 4-dimethylaminopyridin (0,016 g, 0,13 mmol) byly rozpuštěny v dichlormethanu (4 ml) a ponechány při teplotě okolí. Po 19 hodinách byla směs zfiltrována a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Surový produkt byl vyčištěn chromatografií (ethylacetát/hexan, 1:1) za vzniku titulní sloučeniny (0,040 g, 27 %).

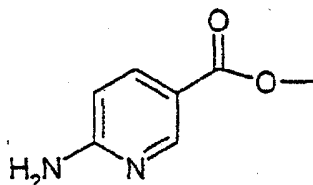
^1H NMR (CDCl_3): 9,80 (br s, 1H), 9,30 (d, 1H), 9,17 (br s, 1H), 8,89 (d, 1H), 8,57 (dd, 1H), 8,57 (dd, 1H), 7,80 (dd, 1H), 7,70 (dd, 1H), 7,12 (t, 1H), 6,83 (d, 1H), 3,25 (m, 1H), 2,87 (q, 2H), 2,00 (q, H), 1,50 (m, 1H), 1,24 (m, 1H), 1,12 (t, 3H).

Příklad 33

(1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)-fenyl]cyklopropyl}N'-(5-kyanopyrid-2-yl)močovina



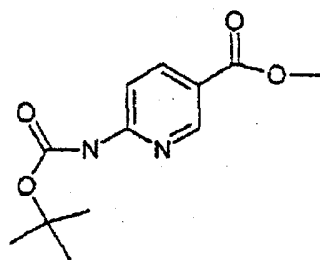
a) Methylester kyseliny 6-aminonikotinové



Kyselina 6-aminonikotinová (2 g, 22 mmol) byla rozpuštěna v methanolu (10 ml) a kyselině sírové (0,5 ml). Roztok byl refluxován přes noc a rozpouštědlo bylo odpařeno pod vakuem. Surový produkt byl rozpuštěn v soustavě voda-EtOAc a zalkalizován vodným hydrogenuhličitanem sodným. Extrakcí EtOAc byl získán čistý meziprodukt vyobrazený výše (2,3 g, 70 %).

^1H NMR (DMSO- d_6): 8,51 (dd, 1H), 7,81 (dd, 1H), 6,66 (br s, 2H), 6,45 (dd, 1H), 3,77 (s, 3H).

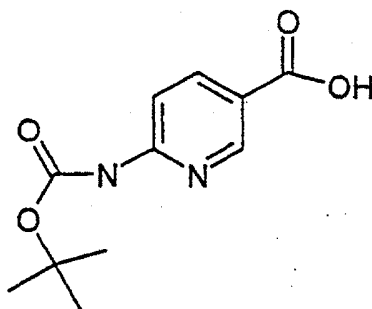
b) Methyl-6-butoxykarbonylaminonikotinát



Meziprodukt z kroku a) (0,75 g, 4,9 mmol) byl rozpuštěn v THF (5 ml). Po kapkách byl přidán bis(trimethylsilyl)amid sodný (5 ml, 2 M v THF). Po míchání po dobu 30 min při teplotě místnosti byl přidán di-terc.-butyldikarbonát (1,1 g, 5 mmol) v THF (8 ml). Reakční směs byla nechána přes noc v dusíkové atmosféře. Roztok byl potom odpařen pod vakuem rozpuštěn v EtOAc (40 ml) a 0,1 M kyselině chlorovodíkové (100 ml). Vrstvy byly odděleny a vodná fáze byla dvakrát extrahována EtOAc (40 ml), potom lehce okyselena vodným hydrogenuhličitanem sodným a znovu jednou extrahována EtOAc (20 ml). Organické frakce byly spojeny, vysušeny síranem sodným a vyčištěny chromatografií (EtOAc-hexan, 1:4) za vzniku čistého meziprodukt vyobrazeného nahoře (0,5 g, 40 %).

^1H NMR (CDCl_3): 8,93 (dd, 1H), 8,62 (s, 1H), 8,26 (dd, 1H), 8,06 (dd, 1H), 3,91 (s, 3H), 1,60 (s, 9H).

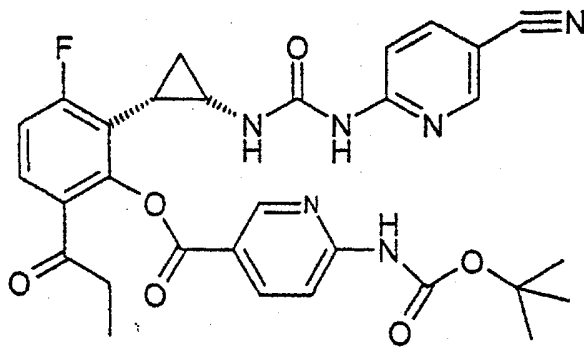
c) kyselina 6-terc.butoxykarbonylaminonikotinová



Meziprodukt z kroku c) (0,4 g, 1,6 mmol) byl suspendován v methanolu (4 ml) a vodě (1,25 ml). Byl přidán LiOH (0,1 g, 4 mmol). Kal byl ponechán při teplotě místnosti po 48 hodin. Čirý roztok byl potom koncentrován ve vakuu, rozpuštěn ve vodě a okyselen kyselinou octovou (pH = 4-5). Extrakcí s EtOAc byl získán čistý meziprodukt vyobrazený výše (0,27 g, 70 %).

^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$): 9,98 (s, 1H), 8,74 (d, 1H), 8,18 (d, 1H), 8,88 (d, 1H), 1,49 (s, 9H).

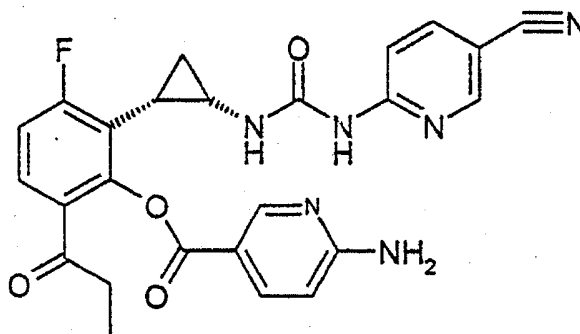
d) (1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-terc.butoxykarbonylamino-pyrid-3-yl)karbonyloxy]fenyl}cyklopropyl}-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)močovina



Sloučenina z příkladu 8 (0,150 g, 0,41 mmol), meziprodukt z kroku c) (0,17 g, 0,49 mmol), N,N'-dicyklohexylkarbodiimid (0,1 g, 0,49 mmol) a 4-dimethylaminopyridin (0,06 g, 0,49 mmol) byly rozpuštěny v DMF (2 ml). Směs byla míchána při teplotě místnosti přes noc, potom byla vložena do olejové lázně o teplotě 50 °C na dobu 2 hodin. Odpařením a vyčištěním chromatografií na silikagelu byla získána N-chráněná titulní sloučenina (0,048 g, 20 %).

^1H NMR ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$): 9,02 (s, 1H), 8,43 (dd, 1H), 8,22 (d, 1H), 8,10 (d, 1H), 7,81-7,75 (m, 2H), 7,15 (t, 1H), 7,08 (d, 1H), 3,15-3,05 (m, 1H), 2,90 (q, 2H), 1,96 (m, 1H), 1,56 (s, 9H), 1,50-1,40 (m, 1H), 1,25 -1,09 (m, 4H),

e) (1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-aminopyrid-3-ylkarbonyloxy)fenyl]cyklopropyl}-N'-(5-kyanopyrid-2-yl) močovina

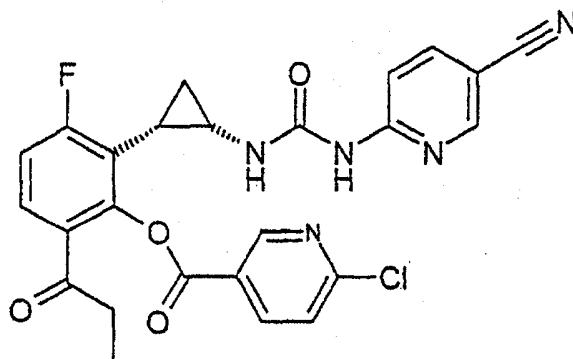


Meziprodukt z kroku d) (0,048 g, 0,08 mmol) byl rozpuštěn v dichlormethanu (2 ml). Byla přidána kyselina trifluoroctová (1 ml) a směs byla míchána po 1 hodinu. Odpařením ve vakuu byla získána surová titulní sloučenina. Tento produkt byl rozpuštěn v etheru (2 ml) a nechán stát přes noc. Vzniklá bílá sraženina byla odfiltrována za vzniku čisté titulní sloučeniny ve formě trifluoroctové soli (0,032 g, 65 %).

^1H NMR ($\text{CD}_3\text{OD}/\text{CDCl}_3$): 8,71 (d, 1H), 8,29 (dd, 1H), 8,16 (t, 1H), 8,82,7,74 (m, 2H), 7,20 7,10 (m, 2H), 6,96 (d, 1H), 3,25 (m, 1H), 2,86 (m, 2H), 1,96 (m, 1H), 1,52 1,43 (m, 1H), 1,24-1,19 (m, 1H), 1,09 (t, 3H).

Příklad 34

(1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-chlorpyrid-3-ylkarbonyloxy)-fenyl]cyklopropyl}-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)močovina

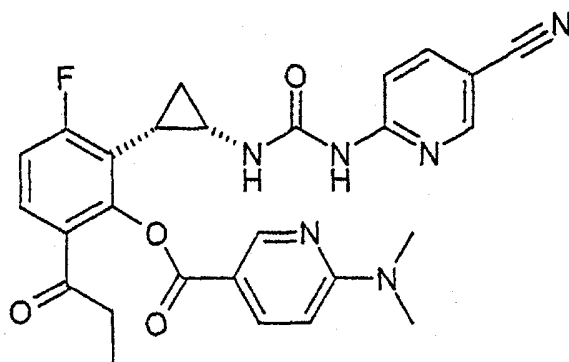


Sloučenina z příkladu 8 (0,15 g, 0,4 mmol), kyselina 6-chlornikotinová (0,076 g, 0,49 mmol), N,N'-dicyklohexylkarbodiimid (0,1 g, 0,49 mmol) a 4-dimethylaminopyridin (0,024 g, 0,2 mmol) byly rozpuštěny v dichlormethanu (4 ml). Směs byla ponechána přes noc. Odpařením ve vakuu a vyčištěním chromatografií (EtOAc-hexan, 1:2) byla získána titulní sloučenina (0,067 g, 32 %).

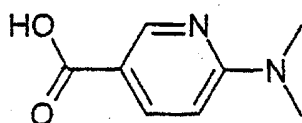
^1H NMR (CDCl_3): 9,77 (br s, 1H), 9,18 (br d, 2H), 8,39 (dd, 1H), 8,14), 7,79 (dd, 1H), 7,71 (dd, 1H), 7,46 (d, 1H), 7,13 (t, 1H), 6,92 (d, 1H), 3,25 (m, 1H), 2,88 (q, 2H), 2,00-1,90 (m, 1H), 1,55-1,46 (m, 1H), 1,25-1,22 (m, 1H), 1,11 (t, 3H)

Příklad 35

(1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-dimethylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)fenyl]cyklopropyl}-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)močovina



a) Kyselina 6-dimethylaminonikotinová



Kyselina 6-chlornikotinová (0,5 g, 3,17 mmol) a dimethylamin 10 ml, 40 % ve vodě) byly zahřívány v zábrusové tlakové nádobě při 130°C po dobu 6h. Rozpouštědlo bylo potom odstraněno a zbytek byl převeden do vody a pH bylo upraveno na 4-5. Extrakcí dichlormethanem byl získán čistý meziprodukt vyobrazený výše (0,1 g, 20 %).

^1H NMR (CDCl_3): 8,87 (dd, 1H), 8,04 (dd, 1H), 6,49 (dd, 1H), 3,18 (s, 6H).

b) (1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-dimethylaminopyrid-3-yl)karbonyloxy]fenyl]cyklopropyl}-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)močovina

Sloučenina z příkladu 8 (0,13 g, 0,3 mmol), meziprodukt z kroku a) (0,05 g, 0,3 mmol), N,N'-dicyklohexylkarbodiimid (0,09 g, 0,4 mmol) a 4-dimethylaminopyridin (0,02 g, 0,18 mmol) byly rozpuštěny v dichlormethanu (3 ml) a DMF (1 ml). Směs byla ponechána přes noc. Odpařením ve vakuu a vyčištěním chromatografií (EtOAc-hexan, 2:1) byla získána titulní sloučenina (0,06 g, 39 %).

^1H NMR (CDCl_3): 10,10 (br s, 1H), 9,29 (br s, 1H), 8,18 (d, 1H), 8,12 (dd, 1H), 7,76 7,60 (m, 2H), 7,06 (t, 1H), 6,95 (d, 1H), 6,62 (d, 1H), 3,18 (m, 7H), 2,83 (q, 2H), 2,10-1,99 (m, 1H), 1,51-1,42 (m, 1H), 1,19 (m, 1H), 1,09 (t, 3H).

Příklad 36

(1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor-2-O-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-
-kyanopyrid-2-yl) močovina-O-4-hydroxybenzoát

a) 4-benzyloxybenzoová kyselina.

Do roztoku 4-hydroxybenzoové kyseliny (6,98, 50 mmol) v 150 ml DMF byl přidán terc.-butoxid draselný (12,348, 110 mmol) a směs byla míchána při teplotě místnosti jednu hodinu. Byl přidán benzylbromid (20,58, 120 mmol) a směs byla míchána po dva dny při teplotě místnosti. Směs byla odpařena za sníženého tlaku a bylo přidáno 100ml 1,4-dioxanu a roztok hydroxidu sodného (6,0g, 150 mmol) v 50 ml vody. Směs byla refluxována po dobu dvou hodin, ochlazená a odpařena za sníženého tlaku. Byla přidána voda a směs byla okyselena kyselinou octovou. Produkt byl filtrován, promyt studenou vodou a vysušen. Výtěžek: 10,28 = 89%.

b) 4-benzyloxybenzoylchlorid

Do směsi 4-benzyloxybenzoové kyseliny (2,288, 10 mmol) v 20 ml suchého dichlormethanu bylo přidáno pět kapek DMF a 2,5 ml thionylchloridu. Směs byla refluxována po dobu tří hodin a odpařena za sníženého tlaku. Výtěžek: 2,45 g = 100%

c) (1S,2H)-N-[cis-2-(6-fluor-2-O-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-[2-(5-kyanopyrid-2-yl)]močovina, O-4-benzyloxybenzoát

Do roztoku (1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor-2-hydroxy-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl) močoviny (184mg, 0,5 mmol) v 3 ml DMF byl přidán terc. butoxid draselný (78,5mg, 0,7 mmol) a směs byla míchána po dobu jedné hodiny při teplotě místnosti. Byl přidán roztok 4-benzyloxybenzoylchloridu (185mg, 0,75 mmol) v 1 ml DMF a směs byla míchána přes noc při teplotě místnosti. Bylo přidáno 40 ml ethylacetátu a organická fáze byla promyta čtyřikrát vodou. Roztok byl vysušen síranem sodným a odpařen za sníženého tlaku. Produkt byl izolován na kolonovou chromatografii na silikagelu. Výtěžek: 180mg = 62%.

^1H NMR (DMSO d_6) 0,92 (m, 4H) 1,31 (m, 1H) 1,85 (m, 1H) 2,82 (m, 2H) 3,06 (m, 1H) 5,26 (s, 2H) 7,20 (m, 2H) 7,38-8,12 (m, 11H) 8,38 (m, 1H)

d) Syntéza (1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor-2-O-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)] močovina-O-4-hydroxybenzoátu

Roztok (1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor-2-O-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)močovina-O-4-benzyloxybenzoátu 170 mg, 0,29 mmol) v 15 ml ethylacetátu a 15 ml methanolu byla hydrogenována s 10% palladiem na aktivním uhlí (30mg) třikrát při teplotě místnosti a normálním tlaku. Katalyzátor byl odfiltrován a promyt ethylacetátem a methanolem a roztok byl odpařen za sníženého tlaku. Produkt byl izolován kolonovou chromatografií na silikagelu. Výtěžek: 100 mg = 70%.

^1H NMR (DMSO d_6) 0,93 (m, 4H) 1,32 (m, 1H) 1,88 (m, 1H) 2,85 (m, 2H) 3,05 (m, 1H) 6,92 (m, 2H) 7,38 (m, 2H) 8,00 (m, 4H) 8,38 (m, 1H)

Příklad 37

(1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor-2-O-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-[2-(5-kyanopyridyl)]močovina-O-methylen-4-hydroxybenzoát

a) Methyl-4-(4-methoxybenzyloxy)benzoát.

Do roztoku methyl 4-hydroxybenzoátu (6,85g, 45 mmol) v 80 ml DMF byl přidán terc. butoxid draselný (5,6 g, 51 mmol) a směs byla míchána při teplotě místnosti po dobu jedné hodiny. Byl přidán 4-methoxybenzylchlorid (8,3 g, 52 mmol) a směs byla míchána přes noc při teplotě místnosti. Směs byla odpařena za sníženého tlaku a bylo přidáno 200 ml ethylacetátu. Organická fáze byla promyta čtyři krát vodou, vysušena síranem sodným a odpařena za sníženého tlaku. Výtěžek: 12,38 = 100%

^1H NMR (CDCl_3) 3,82 (s, 3H) 3,88 (s, 3H) 5,03 (s, 2H) 6,96 (m, 4H) 7,36 (d, 2H) 7,98 (d, 2H)

b) Kyselina 4-(4-methoxybenzyloxy)benzoová

Do roztoku methyl-4-(4-methoxybenzyloxy)benzoátu (12,2 g, 44,8 mmol) v 50 ml 1,4-dioxanu byl přidán roztok hydroxidu lithného (2,15 g, 89,6 mmol) a směs byla míchána přes noc při 60°C. Směs byla odpařena za sníženého tlaku a byla přidána 5% kyselina octová. Produkt byl filtrován, promyt vodou a vysušen. Výtěžek: 10,1 g = 87%
¹H NMR (DMSO d₆) 3,74 (s, 3H) 5,08 (s, 2H) 6,92 (d, 2H) 7,06 (d, 2H) 7,36 (d, 2H) 7,90 (d, 2H)

c) Chlormethyl 4-(4-methoxybenzyloxy)benzoát

Do roztoku kyseliny 4-(4-methoxybenzyloxy)benzoové (5,16 g, 20 mmol) v 100 ml 1,4-dioxanu byl přidán 40% roztok hydroxidu tetrabutylamoného (14,27 g, 22 mmol) a směs byla míchána 2 hodiny při teplotě místnosti. Směs byla odpařena za sníženého tlaku a společně odpařena dvakrát s 1,4-dioxanem a dvakrát s toluenem. Vysušený produkt byl rozpuštěn v 60 ml dichlormethanu a byl přidán jodchlormethan (35,3 g 200 mmol). Roztok byl míchán po dva dny při teplotě místnosti a odpařen za sníženého tlaku. Bylo přidáno asi 100 ml ethylacetátu a organická fáze byla promyta dvakrát vodou, vysušena síranem sodným a odpařena za sníženého tlaku. Produkt byl izolován kolonovou chromatografií na silikagelu. Výtěžek: 4,48 g = 73%

¹H NMR (CDCl₃) 3,83 (s, 3H) 5,06 (s, 2H) 5,94 (s, 2H) 7,00 (m, 4H) 7,36 (d, 2H) 8,05 (d, 2H)

d) Jodmethyl-4-(4-methoxybenzyloxy)benzoát

Do roztoku chlormethyl-4-(4-methoxybenzyloxy)benzoátu (0,77g, 2,5 mmol) v 15 ml suchého acetonu byl přidán jodid sodný (1,87g, 12,5 mmol) a směs byla míchána přes noc při teplotě místnosti. Směs byla odpařena za sníženého tlaku a extrahována soustavou ethylacetát/voda. Organická fáze byla promyta 5% roztokem thiosulfátu sodného, vysušena síranem sodným a odpařena za sníženého tlaku. Výtěžek 0,86g = 86%

^1H NMR (CDCl_3) 3,84 (s, 3H) 5,05 (s, 2H) 6,14 (s, 2H) 6,98 (m, 4H) 7,36 (d, 2H) 8,00 (d, 2H)

e) (1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor-2-O-3-propionylfenyl (cyklopropyl)]-N'-[2-(5-kyanopyridyl)]močovina-O-methylen-4-(4-methoxybenzyloxy)benzoát.

Do roztoku (1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor-2-hydroxy-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-[2-(5-kyanopyridyl)]močoviny (368mg, 1 mmol) v 5 ml DMF byla přidána suspenze 60% hydridu sodného v minerálním oleji (44mg, 1,1 mmol) a směs byla míchána po dobu jedné hodiny při teplotě místnosti. Potom byl přidán roztok jodmethyl-4-(4-methoxybenzyloxy)benzoátu (0,84 g, 2,1 mmol) v 2 ml THF a směs byla míchána přes noc při teplotě místnosti. Bylo přidáno 50 ml ethylacetátu a organická fáze byla promyta čtyřikrát vodou, vysušena síranem sodným a odpařena za sníženého tlaku. Produkt byl izolován kolonovou chromatografií na silikagelu. Výtěžek: 525 mg = 82%

^1H NMR (CDCl_3) 0,91 (m, 3H) 1,32 (m, 1H) 1,60 (m, 1H) 2,04 (m, 1H) 2,90 (m, 2H) 3,20 (m, 1H) 3,82 (s, 3H) 5,04 (s, 2H) 5,84-6,06 (m, 2H) 6,91-8,18 (m, 13H)

f) (1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor-2-O-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'[2-(5-kyanopyridyl)]močovina-O-methylen-4-hydroxybenzoát

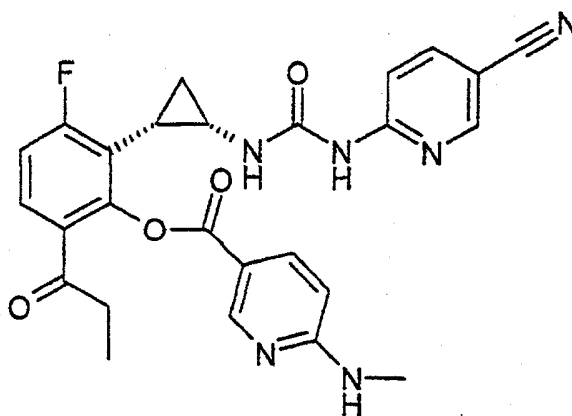
Do roztoku (1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor-2-O-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]N'-[2-(5-kyanopyridyl)]močovina-O-methylen-4-(4-methoxybenzyloxy)benzoátu (100 mg, 0,156 mmol) ve 4 ml dichlormethanu bylo přidáno TFA (0,5 ml) a roztok byl míchán po dobu jedné hodiny při teplotě místnosti. Roztok byl odpařen za sníženého tlaku a produkt byl izolován kolonovou chromatografií na silikagelu.

Výtěžek: 45 mg = 55%

^1H NMR (DMSO 8-6) 0,84 (m, 3H) 1,10 (m, 1H) 1,48 (m, 1H) 2,12 (m, 1H) 2,80 (m, 2H) 3,19 (m, 1H) 5,85-6,02 (m, 2H) 6,84 (m, 2H) 7,18 (m, 1H) 7,46 (m, 2H) 7,74 (m, 2H) 8,04 (m, 2H) 8,38 (m, 1H)

Příklad 39

(1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-methylaminopyrid-3-yl)-karbonyloxy]fenyl}cyklopropyl}-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)močovina



Tato sloučenina byla připravena z kyseliny 6-methylaminonikotinové (0,050g, 0,33 mmol) a sloučeniny z příkladu 8 (0,1 g, 0,27 mmol) stejným postupem jako v příkladu 31. Surový produkt (obsahující titulní sloučeninu a nezreagovaný výchozí materiál) byl vyčištěn chromatografií (ethylacetát) za vzniku 0,030g (22 %) titulní sloučeniny.

^1H NMR (CDCl_3): 9,8 (br s, 1H), 9,25 (br s, 1H), 8,90 (d, 1H), 8,20 (d, 1H), 8,10 (m, 1H), 7,72 (m, 2H), 7,08 (t, 1H), 6,9 (d, 1H), 6,37 (d, 1H), 3,20 (m, 1H), 2,95 (d, 3H), 2,85 (q, 2H), 1,95 (m, 1H), 1,48 (m, 1H), 1,10 (t, 3H).

Biologický příklad 1

Resistenční model

Sloučeniny podle vynálezu byly testovány na antivirovou účinnost proti řadě kmenů HIV strains, včetně divokého typu a známých mutantů vyrůstajících při použití jiných nenukleosidových inhibitorů reverzní transcriptasy, jak jsou popsány v článku: Schinazi et al, International Antiviral News, vol 4 no 6, pp 95-107 (1996). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

TABULKA 1

kmen HIV	Příklad 5	Příklad 6	Příklad 8	Dosavadní stav*
divoký typ	0,0012 ± 0,0004	0,0008 ± 0,0004	0,0007 ± 0,0002	0,0056 ± 0,004
divoký typ 50% sérum	0,01 ± 0,009	0,006 ± 0,003	0,007 ± 0,001	0,023 ± 0,011
K103N	0,05 ± 0,04	0,017 ± 0,008	0,037 ± 0,007	0,13 ± 0,060
K103N 50% sérum	0,38 ± 0,31	0,17 ± 0,07-	-0,39 ± 0,31	0,9 ± 0,6
Y 181 C	0,017 ± 0,018	0,006 ± 0,002	0,006 ± 0,001	0,13 ± 0,02
Y 181 C 50% sérum	0,10 ± 0,06	0,08 ± 0,05	0,08 ± 0,06	0,13 ± 0,07
Y188L	0,13 ± 0,07	0,08 ± 0,06	0,06 ± 0,02	0,17 ± 0,03
Y188L 50% sérum	1,5 ± 0,9	0,9 ± 0,05	1,0 ± 0,05	1,9 ± 1,51
L100I,Y181C	ND	ND	0,34 ± 0,06	1,0
L100I	ND	ND	0,009 ± 0,001	0,026 ± 0,009
SI	>41 600	22 500	87 000	5 900
SI 50% sérum	ND	8 834	4 285	800

Bylo provedeno několik testů XTT na buňkách MT-4 (Weislow et al., J. Nat. Cancer Inst. 1989, vol 81 no 8, str. 577 a dále) včetně testů za přítomnosti 50 % lidského séra, aby se zjistilo, jaký je vliv vázacího proteinu. Hodnoty ED₅₀ jsou uvedeny v µg/ml. Získané hodnoty jsou také uváděny po přepočtu na terapeutický index (SI), který je definován jako dávka, produkující 50 % toxicity v odpovídající buňce bez HIV, dělená ED₅₀. Sloučenina podle dosavadního stavu, uvedená shora, je od 1995 ICAR Santa Fe.

Ukázalo se, že sloučeniny podle vynálezu, zejména erantiomery, mají hodnoty ED₅₀ zřetelně nižší než dosud známé sloučeniny, a to i co se týče hodnot proti známým problematickým

mutantům K103N a Y181C, a stejně tak L100I a dvojitý mutant L100I, Y181C. Kromě toho jsou terapeutické indexy pro enantiomery 5 až 10 krát větší, než sloučenina podle vynálezu. Tyto výsledky je třeba vidět v kontextu terapie HIV, kdy mohou pacienti očekávat, že budou brát po mnoho let, jestli ne po celý zbytek života, léky proti notoricky resistantním klonům viru HIV. Tudíž je potřebná vysoká hodnota SI, aby se předešlo kumulativní toxicitě, při čemž se zároveň musí umožnit stálé dostatečné dávkování, aby se udržel dostatečný terapeutický tlak a aby se předešlo spontánnímu vzniku řady resistantních kmenů HIV.

Biologický příklad 2

Doba potřebná k vzniku resistance

2 x 10⁴ MT4 buněk na jednu jamku v mikrotitrové plotně bylo infikováno 5-10 TCID₅₀ HIV-1_{IIIB}. Testované sloučeniny byly přidány v koncentracích kolem hodnoty ED₅₀ přičemž bylo použito 8 opakování pro každou koncentraci. Po 6 dnech inkubace při pokojové teplotě byla změřena aktivita v 10 pl supernatantu.

Každý týden se pak s kulturami opakovala následující procedura: Virus, získaný kultivací při určité koncentraci testované sloučeniny, který vykazoval aktivitu > 50% aktivity viru z neošetřených infikovaných buněk při pokojové teplotě (tato koncentrace se označuje zkratkou "SIC" - "Starting Inhibitory Concentration") se přenese na čerstvé MT4 buňky. 15 µl supernatantu z každého z osmi opakování se přenese na buňky bez testované sloučeniny (kontrola) a na buňky s testovanou sloučeninou při stejné koncentraci a poté ještě při dvojnásobně a pětinasobně vyšší koncentraci. (Viz Tabulka 2 dále)

Pokud se virus množil i při vyšších netoxických koncentracích (5 - 40 μM), byly spojeny 2-4 paralelní jamky a jejich obsah byl namnožen tak, aby poskytl materiál pro analýzu sekvence a na křížovou resistenci.

TABULKA 2

Význam druhů písma: Růst viru inhibován

Růst viru umožněn

				125 x SIC
			125 x SIC	<u>25 x SIC</u> →
			25 x SIC	<u>5 x SIC</u>
		25 x SIC	<u>5 x SIC</u> →	<u>žádná sloučenina</u>
	25 x SIC	<u>5 x SIC</u> →	<u>žádná sloučenina</u>	
	5 x SIC	<u>SIC</u>		
	<u>SIC</u> →	<u>žádná sloučenina</u>		
<u>SIC</u> →	<u>žádná sloučenina</u>			

Průchod 1

Průchod 2

Průchod 3

Průchod 4

Průchod 5

Obrázek 1 znázorňuje nárůst resistance viru vůči sloučenině podle vynálezu (Příklad 8) v závislosti na čase. Též jsou vyneseny odpovídající křivky pro nejbližší "Santa Fe" sloučeninu, která je uvedena shora. Je vidět, že sloučeniny podle vynálezu vykazují signifikantně pomalejší vývoj resistance.

Biologický příklad 3

Metabolismus P450

Metabolismus sloučeniny podle vynálezu přes hlavní isoformy lidského cytochromového systému P450 byly stanoveny na baculovirem infikovaných hmyzích buňkách s lidským cytochromem P450 cDNA (supersomy), Gentest Corp. Woburn USA.

Testované sloučeniny v koncentracích 0,5, 5 a 50 μM byly inkubovány při dvou opakováních za přítomnosti supersom v průběhu exprese různých isoform cytochromu P450, mezi které konkrétně patřily CYP1A2 + p450 reduktasa, CYP2A6 + P450 reduktasa, CYP2C9-Arg144 + P450 reduktasa, CYP2C19 + P450 reduktasa, CYP2D6-Val 374 + p450 reduktasa and CYP3A4 + p 450 reduktasa. Inkubáty obsahovaly fixní koncentraci cytochromu P450 (např. 50 pmolů) a inkubace trvala přes 1 hodinu. Uplatnění jednotlivých isoform při metabolismu testované sloučeniny se sledovalo chromatograficky pomocí UV HPLC, stanovením úbytku původní sloučeniny.

Po testu tří koncentrací po dobu 7,5 minut ukázal obsah zbylých látek, že CYP3A4, 1A2, 2C19 a 2A6 se na metabolismu sloučeniny podle příkladu 7 podílejí. Podobné sestavy isoformem P450

se také podílejí na metabolismu známé "Santa Fe" halogenpyridinylové sloučeniny.

Překvapivě nebyl zjištěn signifikantní metabolismus sloučeniny z příkladu 8 působením jakéhokoliv isomeru p450 s, z čehož vyplývá, že tato sloučenina je *in vivo* stabilní a že možnost rušení metabolismu společně podávaných účinných látek odpovídajícím způsobem nízká.

Biologický příklad 4

Farmakokinetika

Uvolnění sloučeniny vzorce I z orálně podávané prodrogy vzorce II bylo zjišťováno u krys. Sloučenina z příkladu 7 byla upravena přídatkem propylenglykolového vehikula a orálně podávána zpárovaným málo najedeným samcům krys plemene Sprague Dawley v dávce, odpovídající 0,027 mmol/kg. Ve stanovených časových intervalech bylo z katetru, implantovaného krysám v canis jugularis odebráno 0,2 ml krve, tento vzorek byl odstředěn a zmrazen pro pozdější analýzu. Uvolněná sloučenina vzorce I (z příkladu 6) byla ve vzorcích hledána pomocí HPLC. Alikvotní podíly, obsahující 40-100 μ l plasmy z každého vzorku byly smíchány se stejným objemem acetonitrilu (10 sekund, Vibrofex). Tyto vzorky byly odstředěny (2 min, 14 000 ot/min) a 30 μ l získaného supernatantu bylo injekční jehlou vstříknuto do HPLC systému, jak je popsán dále.

Vstupní kolona: RP-18, 7 μ m, 15 x 3,2 mm

Kolona: YMC basic, 3 μ m, 150 x 3 mm

Mobilní fáze: 60 % acetonitril v 3 mM octanu amonném, pH 6,4

Průtok: 0,4 ml/min

Detekce: UV, 250 nm

Tabulka 3

doba (min)	hladina původní sloučeniny v plasmě ($\mu\text{g/ml}$)
30	0,24, 0,35
60	0,18, 0,28
120	0,13, 0,17
240	0,07, 0,12
360	0,05, 0,07

Z tabulky 3 je jasné, že orální podávání prodrog vzorce II uvolňuje *in vivo* klinicky průkazná množství sloučenin vzorce I.

Biologické příklady 5 - 8

i) Příprava

Krasy, používané ve farmakokinetických příkladech byly samci plemene Sprague-Dawley, s hmotností asi 200-250 g. Krasy byly 16 hodin před experimentem ponechány bez potravy, přičemž měly volný přístup k vodě. Den před experimentem byly krasy anaestetizovány pomocí směsi Efranu®, rajského plynu a kyslíku a do jejich vena jugularis byl zaveden katetr. V den experimentu byly zjištěny jejich hmotnosti a zaznamenány. Zvířata byla před orální či injekční dávkou látky iv, která byla podávána do zad nebo do krku krátce anestezizována. Každá dávka byla dána dvěma krysám.

Opice byly vyhladověny 12 hodin před podáním orální dávky, ale měly přístup k vodě. Testovaná sloučenina byla podána nasogastrickou trubičkou pro krmení malých dětí. Po 6 hodinách dostaly opice jablko.

ii) Příprava dávky

Vhodná množství aktivních složek popsaných, popsáných v následujících příkladech, byly rozpuštěny/suspendovány v roztoku propylenglykolu nebo v roztoku 10 % Arabské gumy a 1% Tweenu ve vodě pro orální podávání. Pro intravenosní aplikaci byly sloučeniny rozpuštěny v DMSO.

iii) Odebírání vzorků krve

Vzorky krve (obvykle 0,6 ml od jedné krysy, 2 ml od jedné opice) byly odebrány na počátku a pak ve stanovených časových intervalech, jak je uvedeno v grafu, po podání látky. Opicím byly odebírány vzorky z femorální vény do trubic, obsahujících EDTA. Vzorky krve byly odstředěny, infekční agens neutralizováno pomocí 1 % SDS/64°/20 min a plasma uložena při -20°C.

iv) Bioanalýza

Vzorky plasmy se připravují následovně: 40-100 µl plasmy se smíchá se stejným objemem acetonitrilu (10 sekunds Vibrofex). Takto získané vzorky se odstředí (2 min, 14000 ot./min.) a 30 µl supernatantu se vstříkne do HPLC systému, popsaného dále.

Vstupní kolona: RP-18,7 µm, 15 x 3,2 mm

Kolona: YMC basic, 3µm, 150 x 3 mm

Mobilní fáze: 60 % acetonitril v 3 mM octanu amonném pH 6,4

Průtok: 0,4 ml/min

Detekce: UV, 250 nm

Biologický příklad 5

Srovnání s nejbližší sloučeninou známou z dosavadního stavu techniky

Stabilita *in vivo* a vhodnost sloučeniny vzorce I byly srovnávány s nejbližší Santa Fe sloučeninou, jmenovitě ($\pm$)-N-(cis-2-(6-fluor-2-hydroxy-3-propionylfenyl)-cyklopropyl)-N'-(5-chloropyridyl-2-yl)-močovinou, přičemž byly podávány dávky 0,024 mmol/kg každé sloučeniny v DMSO jako vehikulu. Obrázek 2 je graf závislosti hladiny testované sloučeniny ($n=2$ v každém uváděném případě) na čase. Z tohoto grafu je vidět, že křivky pro srovnávací sloučeninu se podobají známým křivkám, zatímco sloučenina podle vynálezu má AUC (0-4h) 1,5 větší ve srovnání s AUC (0-4h) nejbližší sloučeniny známé z dosavadního stavu techniky. Jinými slovy, sloučeniny podle vynálezu poskytují *in vivo* o 50% vyšší účinek než dosud posané deriváty, přestože je teprve třeba zjistit, zda to je důsledek pomalejšího odbourávání nové sloučeniny podle vynálezu nebo lepší vazby na tkáň oproti známé sloučenině a pod..

Biologický příklad 6

Bioekvivalence prodrog a účinné sloučeniny

Krysám byly podávány různé sloučeniny vzorce II (které jsou prodrogami sloučenin vzorce I) a v závislosti na čase byly zjišťovány koncentrace sloučeniny podle vynálezu (například sloučenina z příkladu 10) v jejich plasmě.

Vehikulem byla 10% arabská guma a 1% Tween ve vodě nebo propylenglykol (označeno hvězdičkou).

Koncentrace v plasmě, uváděné v tabulce 4 se týkají jednotlivých zvířat.

TABULKA 4

Sloučenina	Dávka (mmol/kg)	Doba (min)	koncentrace účinné látky v plasmě (µg/ml)			
Příklad 12	0,053	30	0,2	0,3	0,06	0,11
		60	0,2	0,4	0,12	0,20
		90	0,3	0,4		
		120	0,2	0,5	0,10	0,20
		180	0,3	0,4	0,11	0,23
		240	0,3	0,4	0,08	0,24
		330			0,08	0,15
		420			0,05	0,12
Příklad 12	0,026	30	0,09	0,05		
		60	0,10	0,07		
		120	0,09	0,08		
		180	0,08	0,08		
		240	0,06	0,05		
		330		0,03		
		420		0,02		
Příklad 22	0,026	30		0,08		
		60	0,05	0,11		
		120	0,04	0,08		
		180	0,03	0,07		
		240	0,02	0,04		
		360	<0,02	<0,02		
Příklad 14	0,053	30	0,10	0,08		
		60	0,15	0,08		
		120	0,27	0,07		
		180	0,35	0,09		
		240	0,35	0,09		
		360	0,24	0,12		
Příklad 18	0,053	30	0,12	0,03		
		60	0,15	0,03		
		120	0,15	0,07		
		180	0,23	0,14		
		240	0,12	0,16		
		360	0,08	0,08		
Příklad 23	0,053	30	0,14	0,32		
		60	0,22	0,49		
		120	0,36	0,49		
		180	0,44	0,32		
		240	0,35	0,27		
		360	0,14	0,14		

Pokračování tabulky 4

Sloučenina	Dávka (mmol/kg)	Doba (min)	koncentrace účinné látky v plasmě (µg/ml)			
Příklad 17	0,053	30	0,05	0,05		
		60	0,07	0,05		
		120	0,06	0,14		
		180	0,07	0,20		
		240	0,07	0,17		
		360	0,04	0,12		
Příklad 29	0,027*	30	0,258	0,031		
		60	0,268	<0,03		
		20	0,128	<0,03		
		240	0,051	<0,03		
		360	<0,03	<0,03		
Příklad 37	0,027*	30	0,234	0,137		
		60	0,273	0,189		
		120	0,111	0,133		
		240	0,056	0,045		
		360	0,054	0,056		

Je vidět, že prodrogy vzorce II uvolňují *in vivo* klinicky relevantní množství sloučenin vzorce I do plasmy. Absolutní biologické využití při orálním podání (definované pro dávkování iv, jak je popsána v preperační části) byla 28-33% u sloučeniny z příkladu 37 a 27% u sloučeniny z příkladu 27.

Biologický příklad 7

Biologické využití látek podle vynálezu u různých druhů

Prodruga podle vynálezu vzorce II (Příklad 12) byla podávána ve stejné dávce (0,026 mmol/kg) a ve stejném vehikulu (10% arabská guma a 1% Tween ve vodě) krysám a opicím rodu cynomolgus. Hladiny účinné sloučeniny vzorce I (Příklad 10) v plasmě pak byly měřeny a vyneseny jako funkce času.

TABULKA 5

Druh	Doba (min)	Koncentrace účinné sloučeniny v plasmě (µg/ml)	
Krysa	30	0,09	0,05
	60	0,10	0,07
	120	0,09	0,08
	180	0,08	0,08
	240	0,06	0,05
	330		
	420		
Opice	45	0,08	0,04
	90	0,20	0,26
	180	1,0	0,55
	240	0,72	0,54
	360	0,38	0,39
	600	0,13	0,10
	24 h	0,03	0,03

Je vidět, že prodrogy vzorce II uvolňují *in vivo* klinicky relevantní množství sloučeniny vzorce I. Toto uvolňování se projevuje jak u hlodavců, tak u primátů, přičemž signifikantně vyšší jsou dosažené hladiny u primátů.

Analogická data pro sloučeninu z příkladu 28 (krysy: Arabská guma/Tween, opice: propylenglykol) jsou uvedena dále v tabulce 5A:

TABULKA 5A

Druh	Doba (min)	Koncentrace plasmy v účinné sloučenině (µg/ml)	
Krysa	30	0,033	0,046
	60	0,039	0,084
	120	0,066	0,123
	240	0,039	0,034
	360	<0,03	<0,03
Opice	30	0,108	<0,03
	90	0,159	0,098
	180	0,062	0,050
	240	<0,03	0,060
	540	0,036	0,070

Biologický příklad 8 - antivirová aktivita

Sloučeniny vzorce I byly testovány na účinnost proti HIV-1 divokého typu HIV_{IIIB} a rezistenčním mutantům, s a bez přítomnosti 50% lidského séra pomocí XTT-formazanového testu, při kterém se inhibice cytopatogenních efektů zkouší na buňkách MT4. Ve všech případech se indikuje EDS° v μM .

TABULKA 6

HN kmen	Příklad 10	Příklad 10 50% sérum	Příklad 11	Příklad 11 50% sérum
divoký typ	0,01	0,06	0,009	0,05
L100I	0,05	0,33	0,09	0,95
K103N	0,38	2,4	0,09	2,0
Y181C	0,09	0,4	0,07	3,3

Sloučeniny vzorce I jsou proti různým kmenům HIV tak silně aktivní při koncentracích, dosažitelných *in vivo*.

Biologický příklad 9 - antivirová aktivita

Sloučeniny podle vynálezu také byly porovnány se sloučeninou podle nejbližšího stavu techniky pomocí testu na kultuře buněk, známéhoz dosavadního stavu techniky, při kterém se kultivují lidské T buňky genetické linie MT4 v kultivačním prostředí RPMI 1640 doplněném 10% fetálního telecího séra, penicilinu a streptomycinu naočkované do 96 jamkových mikrodesek ($2 \cdot 10^4$ buněk/jamku) při infekci 10-20 TCID₅₀ viru HIV-I_{IIIB} (divoký typ) nebo mutantního viru nesoucího RT Ile 100, Cys 181 nebo Asn 103 mutace. Postupně rozpuštěné testované sloučeniny byly přidány do zmíněných jamek a kultura byla inkubována při 37°C v atmosféře obohacené CO₂ a po pěti až šesti dnech byla hodnocena životaschopnost buněk

pomocí XTT vitálního barviva. Výsledky jsou dále vyneseny ve formě průměrů z více získaných hodnot. Výsledky se uvádějí jako EDS° v μM .

TABULKA 8

Příklad	divoký typ	divoký typ 50% serum	Ile 100	Cys 181	Asn 103
Znamé Santa Fe	0,027	nd	0,220	0,340	0,350
Příklad 10	0,012	0,056	0,053	0,095	0,358
Příklad 11	0,008	0,058	0,100	0,069	0,080
Příklad 8	0,003	0,019	0,021	0,019	0,086
Příklad 6	0,002	0,016	0,0b4	0,018	0,046

Sloučeniny podle vynálezu mají signifikantně zlepšnou účinnost proti divokému typu a zejména klinicky významným mutacím vznikajícím při léčení pomocí NNRTI.

Biologický příklad 10

Kinetika napojování

Rychlost napojování a rozpojování NNRTI s cílovým enzymem se dá přímo testovat na povrchovém plasmonu rezonanční metodou, při které se imobilizuje reversní transkriptáza na povrchu čipu a navázání nebo odštěpení putativního inhibitoru se monitoruje pozorováním změn v indexu lomu, způsobených doprovodným růstem nebo zmenšováním hmoty čipu. Sloučenina podle vynálezu (Příklad 8) byla porovnávána při tomto testu s nejpodobnější známou sloučeninou ze Santa Fe, jak je uvedeno shora. Experimenty byly provedeny na Biacore 2000 (Biacore AB, Uppsala, Sweden), s použitím softwaru "BIAevaluation" (verze 3.0) pro vyhodnocení získaných dat. Vazba malých analytů (NNRTI) na mnohem větší enzym vyvolává odezvu v

rozmezí 10-20 RU. Malý rozdíl v souhrnném indexu lomu mezi samotným pufrům a s přidaným vzorkem způsobuje, že po vstříknutí vzorku se data vyhodnocují obtížně. V průběhu disociační fáze je však signifikantní změna v souhrnném indexu lomu, a proto vazba byly pro jednotlivé sloučeniny hodnocena při této fázi.

Imobilizace: Enzym a srovnávací protein byly imobilizovány přímým napojením na primární aminy na čip CM5 (Markgren et al., 1998). Jako srovnávací protein byly použity protilátky k Fc g (Biacore BR-1000-57) a látky byly imobilizovány podle instrukcí výrobce. HIV reversní transkriptáza (Unge et al., 1990) byla přenesena z 3M $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ do 5 mM Hepes, pH 7,6 obsahujícího 4 mM MgCl_2 , pomocí odstředivých zahušťovačů Nanosept 10K (Pall Filtron, MA, U.S.A). na sensorový chip byla imobilizována množství RT, odpovídající 6800-9700 RU. Sensorový povrch byl deaktivován injekcí 35 ml 0,5M pufru Tris pH 7,6; 4 mM MgCl_2 ; 0,5 M KCl. Imobilizace byla prováděna při 33° C.

Interakce s inhibitory: Zásobní roztoky inhibitorů (1 mg/ml v DMSO) byly rozpuštěny v RT nosném pufru (10 mM Hepes pH 7,6; 4 mM MgCl_2 ; 0,25 mM spermin; 40 mM KCl; 0,5% Triton X-100; 3% DMSO; 0,5% fetální telecí serum) na koncentraci 10 mM. Vazba látky na RT byla analyzována vstříknutím 200 ml zředěné substance, průtok byl 20 ml/min a teplota 25°C. Po každém vstříknutí byl systém promyt vstříknutím 120 ml 10% DMSO v RT nosném pufru.

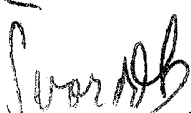
Výsledky jsou znázorněny na obr. 3. Je vidět, že sloučenina podle vynálezu a sloučenina známé mají odlišnou kinetiku interakce, a to tak, že sloučenina podle vynálezu disociuje méně, což indikuje účinnější vazbu na enzym.

Odkazy:

Ungé T, Ahola H, Bhikhabhai R, Backbro K, Lovgren S, Fenyo EM, Honigman A, Panet A, Gronowitz JS, Strandberg B, :
Expression, purification, and crystallization of the HIV-1 reverse, transcriptase (RT). AIDS Res Hum Retroviruses 1990 Nov; 6(11):str.1297-303

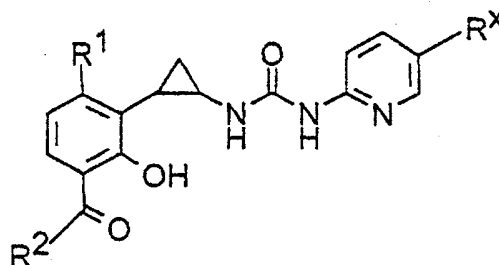
Markgren P-O, Hamalainen M, Danielson UH, Screening of compounds interacting with HIV-1 proteinase using optical biosensor technology. Analytical Biochemistry 1998, vol 265, v tisku.

Ačkoliv byly různé aspekty a provedení podle vynálezu ilustrovány s odkazy na konkrétní příklady, srovnávací příklady a obrázky, je zřejmé, že vynález není v žádném směru na tato provedení omezen, ale jeho rozsah zahrnuje celou myšlenku vynálezu a je vyjádřen připojenými nároky.


JUDr. Oskar ŠVORČÍK
advokát

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Sloučenina vzorce I:



kde

R^X je kyano nebo brom;

R^1 je halogen;

R^2 je C_1 - C_3 alkyl,

a její farmaceuticky vhodné soli a prodrogy.

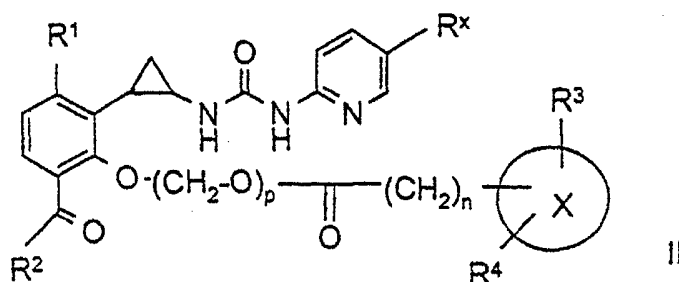
2. Sloučenina podle nároku 1, kde R^1 je fluor.

3. Sloučenina podle nároku 1 kde R^2 je ethyl.

4. Sloučenina podle nároku 1, obsahující alespoň 60 %, výhodně alespoň 90 % 1S,2S enantiomerní formě.

5. Sloučenina podle nároku 1, kde R^X je kyano.

6. Sloučenina podle nároku 1, přičemž je to prodroga vzorce II:



kde

R^x , R^1 a R^2 mají význam uvedený shora,

R^3 je H, $(CH_m)_nNR^5R^6$;

R^4 je H, C_1-C_3 alkyl, $(CH_m)_nNR^5R^6$, $(CH_m)_nC(=O)R^5$, $(CH_m)_nOH$, OR^7 , halogen, CF_3 nebo CN; nebo

R^3 a R^4 společně tvoří 5 nebo 6 členný kondenzovaný kruh, který má 0-2 heteroatomy a/nebo 0-2 nenasycené vazby a/nebo 0-2 substituenty;

R^5 je H, C_1-C_3 alkyl, $C(=O)R^7$ nebo peptid z 1 až 4 aminokyselin;

R^6 je H, C_1-C_3 alkyl; nebo

R^5 a R^6 společně tvoří 5 nebo 6 členný kruh, který má 0 nebo 1 další heteroatom a/nebo 0-2 nenasycené vazby a/nebo 0-2 substituenty;

R^7 je H, C_1-C_{12} alkyl, $(CH_m)_nNR^5R^6$;

X spolu s cyklem, ve kterém je začleněn, tvoří 5 nebo 6 členný kruh který má 0 až 3 nenasycené vazby a/nebo 0 až 3 heteroatomy, vybrané z S, O a N;

m je nezávisle 1 nebo 2;

n je nezávisle 0, 1 nebo 2; pis_{0orl};

a její farmaceuticky přijatelné soli.

7. Sloučenina podle nároku 6, kde kruhem, obsahujícím X, je naftyl, pyridyl, chinolyl nebo fenyl.

8. Sloučenina podle nároku 7, kde kruhem, obsahujícím X, je fenyl.

9. Sloučenina podle nároku 7, kde kruhem, obsahujícím X, je pyrid-2-yl nebo výhodně pyrid-3-yl.

10. Sloučenina podle nároku 6, kde R^3 je $-NH_2$, $-NHCH_3$, $-NHCH_2CH_3$ nebo $-N(CH_3)_2$.

11. Sloučenina podle nároku 6, kde R^3 je v poloze meta vůči karbonylové skupině, zejména kde kruhem, obsahujícím X, je fenyl nebo kde R^3 je v poloze para vůči karbonylové skupině, zejména kde kruhem, obsahujícím X, je heterocyklus.

12. Sloučenina podle nároku 6 kde $-(CH_2)_n-$ a/nebo $-(CH_2)_n-$ nejsou přítomny, tedy p a/nebo n jsou 0.

13. Sloučenina podle nároku 6, kde R^x je kyanoskupina.

14. Sloučenina podle nároku 6, kde R^1 je fluor.

15. Sloučenina podle nároku 6, kde R^2 je ethyl.

16. Sloučenina podle nároku 6, obsahující alespoň 60 %, výhodně alespoň 90 % 1S,2S enantiomerní formy.

17. Sloučenina podle nároku 1, vybraná ze souboru, do kterého patří

(1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor, 2-hydroxy, 3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina, (1R,2R)-N-[cis-2-(6-fluor, 2-hydroxy, 3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina, (1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor,2-hydroxy,3-propionylphenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina a (1R,2R)-N-[cis-2(6-fluor,2-hydroxy,3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

18. Sloučenina podle nároku 17 kterou je (1S,2S)-N-[cis-2-(6-fluor,2-hydroxy,3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

19. Sloučenina podle nároku 1, vybraná ze souboru, do kterého patří

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina,
 (1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina,
 (1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina,
 (1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)fenyl]cyklopropyl}-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)močovina,

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina,
 (1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina,
 (1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)-močovina,
 (1R,2R)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)fenyl]cyklopropyl}-N'-(5-kyanopyrid-2-yl)močovina,

(1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina,
 (1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina,
 (1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina,
 (1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)fenyl]cyklopropyl}-N'-(5-brompyrid-2-yl)močovina,

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina,

(1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-ethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina,
 (1R,2R)-N-[cis-2-(2-(3-dimethylaminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina,
 (1R,2R)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)fenyl] cyklopropyl}-N'-(5-brompyrid-2-yl)močovina,
 a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

20. Sloučenina podle nároku 19 kterou je (1S,2S)-N-{cis-2-[6-fluor-3-propionyl-2-(6-methylaminopyrid-3-ylkarbonyloxy)fenyl] cyklopropyl}N'-(5-kyanopyrid-2-yl)močovina a její farmaceuticky přijatelné soli.

21. Sloučenina podle nároku 19, kterou je (1S,2S)-N-[cis-2-(2-(3-aminofenylkarbonyloxy)-6-fluor-3-propionylfenyl)-cyklopropyl]-N'-(5-brompyrid-2-yl)-močovina a její farmaceuticky přijatelné soli.

22. Farmaceutický prostředek obsahující sloučeninu podle kteréhokoliv z nároků 1 až 21 a její farmaceuticky přijatelný nosič nebo její ředidlo.

23: Prostředek podle nároku 22, dále obsahující jednu až tři další antiretrovirové účinné látky.

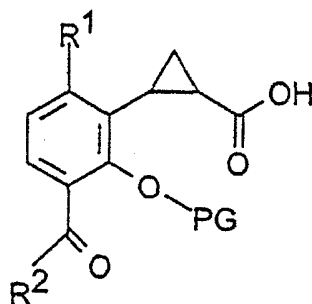
24. Prostředek podle nároku 23 kde další antiretrovirové účinná látka je vybrána ze souboru, do kterého patří AZT, ddI, ddC, D4T, 3TC, adefovir, adefovir dipivoxil, abacavir, bis-POC-PMPA, foscarnet, hydroxyurea, efavirenz, trovirdine, nevirapine, delavirdine, PFA, H2G, ABT 606, ritonavir, saquinavir, indinavir, amprenavir (Vertex VX 478), Mitsubishi MKC-442 a nelfinavir

25. Sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 21 pro použití k léčení.

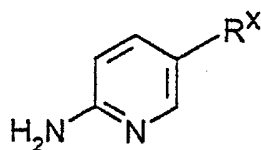
26. Použití sloučeniny kteréhokoli z nároků 1 až 21 k výrobě farmaceutického prostředku k léčení nebo prevenci HIV.

27. Způsob inhibice nebo prevence HIV infekce, zahrnující podávání účinného množství sloučeniny podle nároku 1 nebo 6 subjektu, který to potřebuje.

28. Způsob přípravy sloučeniny vzorce I zahrnující Curtiův přesmyk azidů sloučeniny vzorce:



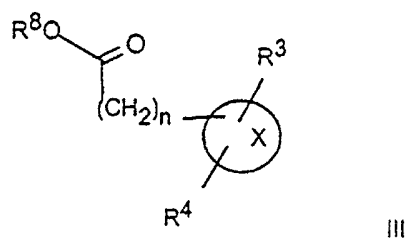
následovaný kopulací se sloučeninou vzorce



a odstraněním chránění, přičemž R^1 , R^2 a R^x mají shora definovaný význam a PG je skupina chránící hydroxylovou skupinu.

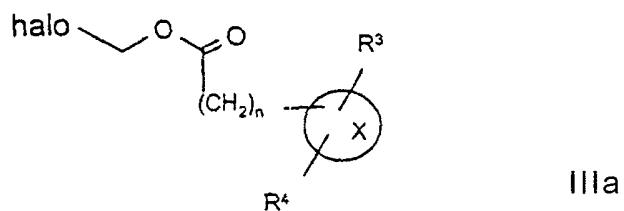
29. Způsob podle nároku 28, dále zahrnující:

a) acylaci aktivovanou sloučeninou vzorce III:



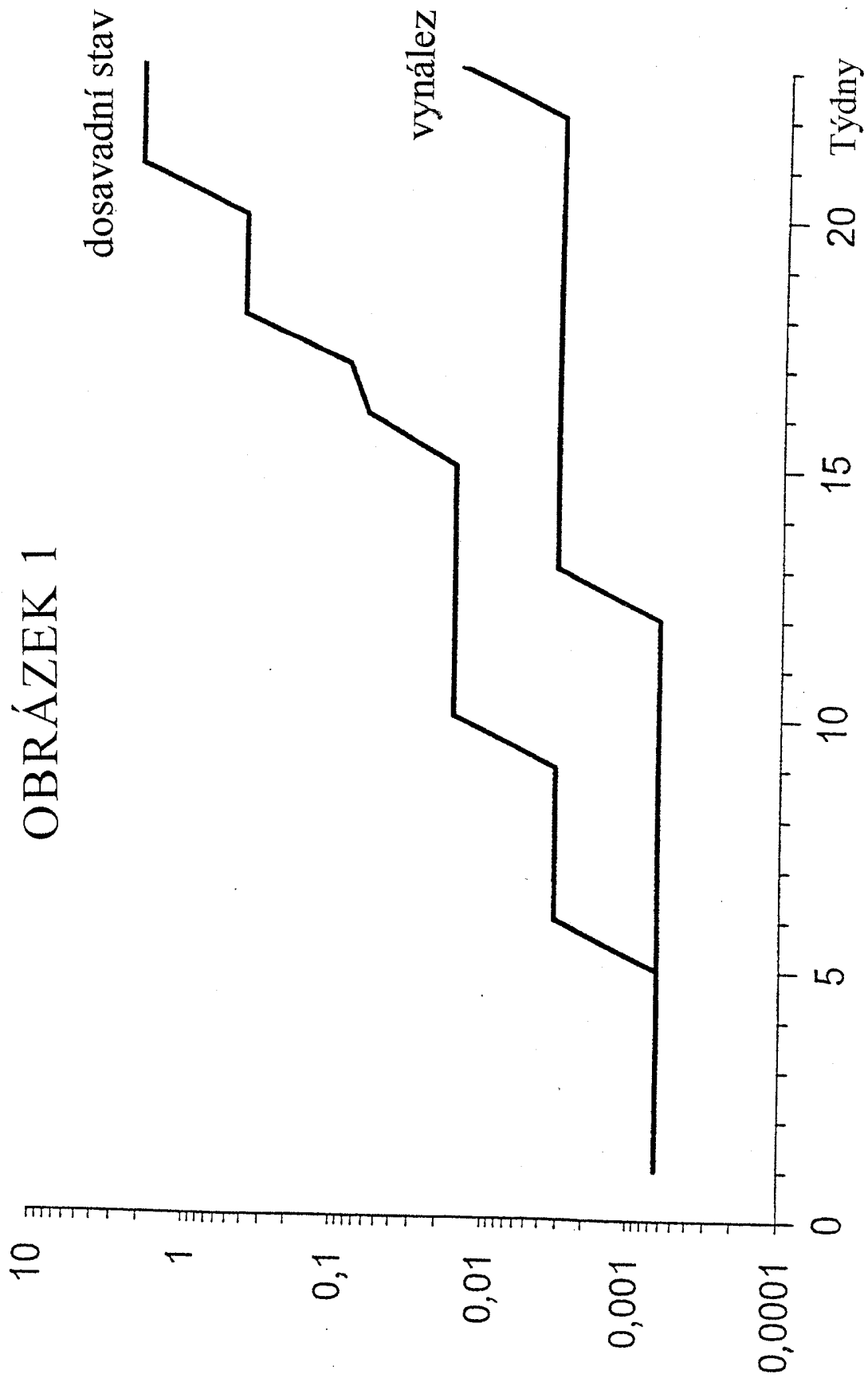
ve kterém R^3 , R^4 , X a n mají význam uvedený shora, ale jsou popřípadě chráněny, a R^8 je vodík nebo a o sobě známá aktivační skupina; nebo

b) alkylaci sloučeninou vzorce IIIa:



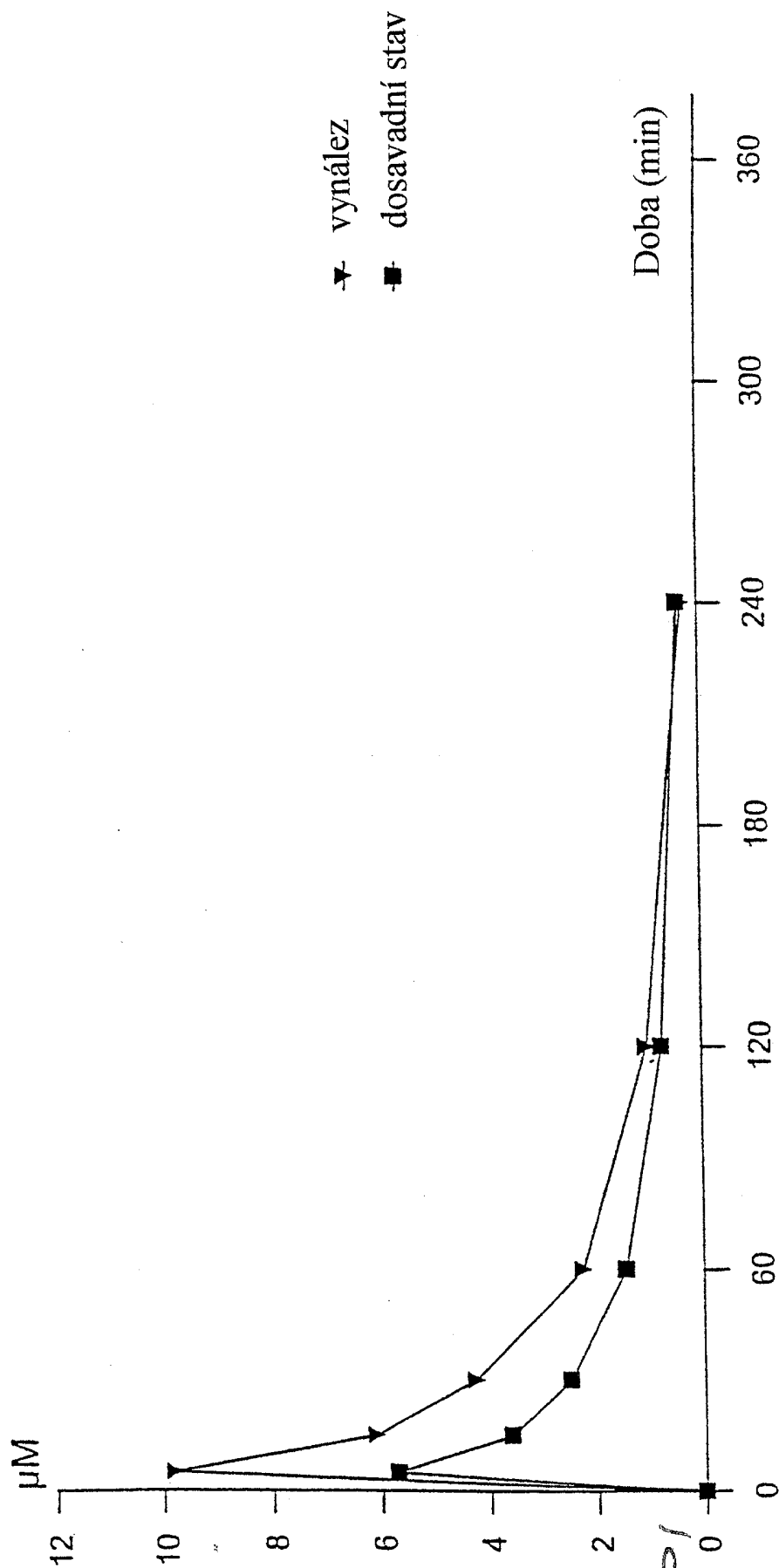
kde n , R^3 , R^4 a X mají význam uvedený shora, avšak kde chráněné amino, hydroxy a další substituenty jsou chráněny běžnými chránícími skupinami.

OBRÁZEK 1



JUDr. Otař ŠVORČÍK
advokát

OBRAZEK 2



Svorob
 JUDr. Oskar SVORČÍK
 advokát

