

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: 20.12.2000

(32) Datum podání prioritní přihlášky: 21.12.1999

(31) Číslo prioritní přihlášky: 1999/172823

(33) Země priority: US

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

(86) PCT číslo: PCT/US00/34832

(87) PCT číslo zveřejnění: WO01/046197

(21) Číslo dokumentu:

2002 - 2110

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl. :

C 07 D 487/04

C 07 D 487/16

C 07 K 5/06

(71) Přihlašovatel:

THE PROCTER & GAMBLE COMPANY, Cincinnati,
OH, US;

(72) Původce:

Golebiovski Adam, Loveland, OH, US;
Klopfenstein Sean Rees, Loveland, OH, US;

(74) Zástupce:

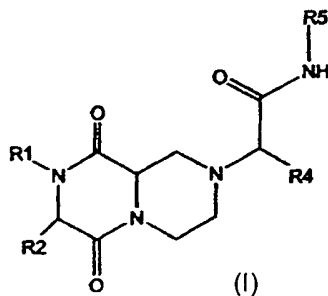
PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1273, Praha 4,
14000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Peptidové beta-rotující mimetické sloučeniny a
způsob jejich přípravy**

(57) Anotace:

Sloučeniny obecného vzorce I, kde (a) R1 je vodík nebo alkyl a R2 je vybrané ze skupiny obsahující vodík, alkyl, aryl, heterocyklyl, karboxy skupinu a její estery a amidy nebo jsou R1 a R2 spojené a dohromady tvoří alkylen nebo heteroalkylen, dále (b) R4 je vybrané ze skupiny obsahující aryl, heteroaryl, a α,β -nenasycený konjugovaný aryl nebo heteroaryl, a dále (c) R5 je vybrané ze skupiny obsahující vodík, alkyl, aryl a heterocyklyl; a dále jejich optický izomer, diastomer nebo jejich enantiomer, dále jejich sůl, hydrát, ester, amid nebo imid. Série takovýchto sloučenin a způsoby přípravy sloučenin a sérii.



28.08.03

1

2002-2910

Peptidové β -rotující mimetické sloučeniny a způsoby jejich přípravy

Oblast techniky

Vynález se týká nových peptidových β -rotujících mimetických sloučenin a způsobů jejich přípravy.

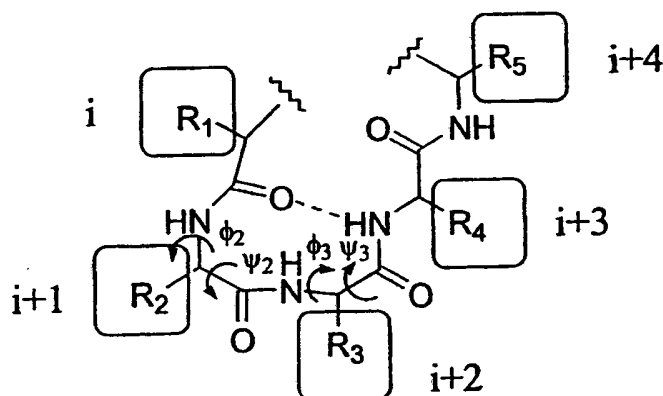
Odkaz

Tato přihláška nárokuje prioritu podle Title 35, United States Code 119(e) from Provisional Application Serial No. 60/172 823, filed December 21, 1999.

Dosavadní stav techniky

V peptidech patří β -rotace do množiny reverzní rotace, což je běžná charakteristika biologicky aktivních peptidů a proteinů. Všeobecně se usuzuje, že působí jako molekulárně identifikovatelné místo pro mnoho biologických procesů. Specifické druhy β -rotací se klasifikují podle jejich geometrie.

β -rotace je definována jako jakákoliv tetrapeptidová sekvence s intramolekulárně H-vázaným kruhem o 10 člancích, ve které se vzdálenost mezi C_a^i a C_a^{i+3} pohybuje v intervalu 0,4 až 0,7 nm (4 až 7 Å).



Obrázek 1

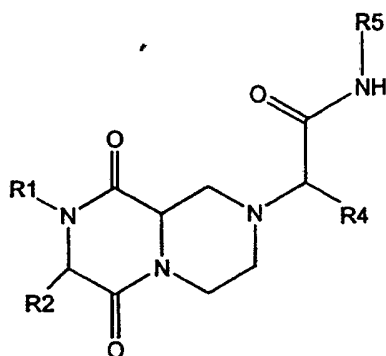
V závislosti na ϕ_2 , ψ_2 , ϕ_3 a ψ_3 existuje mnoho typů β -rotujících struktur popsanych v literatuře (viz. Gillespie et al., "Conformational Analysis of Dipeptide Mimetics", Biopoly, Vol. 43, (1997), pp. 191-217, dále Venkatachalam, Biopolymers, Vol. 6, (1968), pp. 1425-36).

Sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou mimetika pro β -rotující peptidy. Takovéto sloučeniny jsou vhodné jako sondy pro studium dějů molekulární identifikace, mezi které patří inhibice enzymů, vzájemné interakce mezi buňkami a interakce mezi buňkou a matrixem. Jedním z fyzikálních důsledků takovýchto strukturních zábran u sloučenin tohoto vynálezu je omezení množství dostupných strukturních stavů molekul, což vede k lepšímu definování bioaktivní struktury odpovídajících aktivních peptidů.

Informace týkající se β -rotujících peptidů a mimetických sloučenin lze také nalézt například v následujících odkazech: Ball et al., " β -Turn Topography", Tetrahedron, Vol. 49, No. 17 (1993), pp. 3467-3478, dále Kahn, "Peptide Secondary Structure Mimetics: Recent Advances and Future Challenges", SYNLETT, (Nov. 1993), pp. 821-826, dále Hanessian et al., "Design and Synthesis of Conformationally Constrained Amino Acids as Versatile Scaffolds and Peptide Mimetics", Tetrahedron, Vol. 53, No. 38 (1997), pp. 12789-12854.

Podstata vynálezu

Vynález se týká sloučenin obecného vzorce I,



(I)

kde

- a) R1 je vodík nebo alkyl a R2 se vybere ze skupiny obsahující vodík, alkyl, aryl, heterocyklyl, karboxy skupinu a její estery a amidy nebo jsou R1 a R2 spojeny a dohromady tvoří alkylen nebo heteroalkylen,
- b) R4 se vybere ze skupiny obsahující aryl, heteroaryl a α,β -nenasycený konjugovaný aryl nebo heteroaryl,
- c) R5 se vybere ze skupiny obsahující vodík, alkyl, aryl a heterocyklyl a dále jejich optický izomer, diastomer nebo enantiomer a dále jejich sůl, hydrát, ester, amid nebo imid.

Vynález se také týká sérií (knihoven) takovýchto sloučenin a způsobů přípravy sloučenin tohoto vynálezu a způsobů přípravy sérií.

Detailní popis vynálezu

Není-li specifikováno jinak, termín „alkyl“ znamená uhlovodíkový řetězec, který je rozvětvený, lineární nebo cyklický, nasycený nebo nenasycený (ale není aromatický), substituovaný nebo nesubstituovaný. Termín „alkyl“ lze použít samostatně nebo jako součást jiného slova, kde je to případně zkráceno na „alk“ (např. alkoxy, alkylacyl). Výhodný lineární alkyl obsahuje jeden až dvacet atomů uhlíku, výhodněji jeden až deset atomů uhlíku, ještě výhodněji jeden až šest atomů uhlíku, ještě výhodněji jeden až čtyři atomy uhlíku, nejvýhodněji je to methyl nebo ethyl. Výhodný cyklický a rozvětvený alkyl obsahuje tři až dvacet atomů uhlíku, výhodněji tři až deset atomů uhlíku, ještě výhodněji tři až sedm atomů uhlíku, ještě výhodněji tři až pět atomů uhlíku. Výhodný cyklický alkyl obsahuje jeden uhlovodíkový kruh, případně dva, tři nebo více kondenzovaných nebo spirocyklických uhlovodíkových kruhů. Výhodné nenasycené alkyly obsahují jednu až tři dvojně nebo trojně vazby, výhodně dvojně vazby, výhodnější jsou dále mono-nenasycené alkyly s jednou dvojnou vazbou. Ještě výhodnější jsou nasycené alkyly. Nasycený alkyl je zde označován jako „alkanyl“. Nenasycený alkyl s jednou nebo více dvojnými vazbami (ne s trojnými vazbami) je zde označován jako „alkenyl“. Mezi výhodné substituenty patří halogen, alkyl, aryl, heterocykl, dále hydroxy, alkoxy, aryloxy, thio, alkylthio, arylthio, amino, alkylamino a arylamino skupina, dále

amid, alkylamid, arylamid, formyl, alkylacyl, arylacyl, karboxy skupina a její alkyl a aryl estery a amidy a dále nitro a kyano skupina. Výhodné jsou také nesubstituované alkyly.

Termín "heteroatom" znamená atom dusíku, kyslíku nebo síry.

Termín "alkylen" znamená alkyl, který spojuje dvě jiné skupiny, termín „heteroalkylen“ znamená alkylen s jedním nebo více heteroatomy ve spojovacím řetězci.

Není-li specifikováno jinak, termín „aryl“ znamená aromatický uhlovodíkový kruh (nebo kondenzované kruhy), který je substituovaný nebo nesubstituovaný. Termín „aryl“ lze použít samostatně nebo jako součást jiného slova (např. aryloxy, arylacyl). Výhodný aryl obsahuje šest až čtrnáct, výhodně až deset atomů uhlíku v aromatickém kruhu (kruzích) a celkově šest až dvacet, výhodně až dvanáct atomů uhlíku. Výhodný aryl je fenyl nebo naftyl, nejvýhodněji fenyl. Mezi výhodné substituenty patří halogen, alkyl, aryl, heterocykl, dále hydroxy, alkoxy, aryloxy, thio, alkylthio, arylthio, amino, alkylamino a arylamino skupina, dále amid, alkylamid, arylamid, formyl, alkylacyl, arylacyl, karboxy skupina a její alkyl a aryl estery a amidy a dále nitro a kyano skupina. Výhodné jsou také nesubstituované aryle.

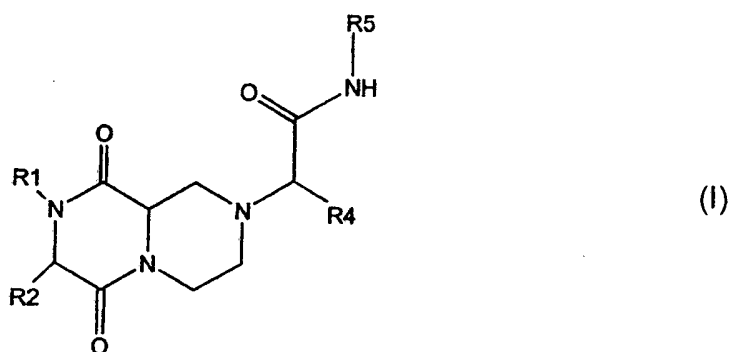
Není-li specifikováno jinak termín „heterocykl“ nebo „heterocyklyl“ znamená nasycený, nenasycený nebo aromatický cyklický uhlovodíkový kruh (nebo kondenzované kruhy) s jedním nebo více heteroatomy v uhlovodíkovém kruhu (kruzích). Výhodné heterocykly obsahují jeden až šest heteroatomů v kruhu (kruzích), výhodněji jeden nebo dva nebo tři heteroatomy v kruhu (kruzích). Výhodné heterocykly obsahují tři až čtrnáct, výhodně až deset atomů uhlíku plus heteroatomů v kruhu (kruzích), výhodněji tři až sedm, ještě výhodněji pět nebo šest atomů uhlíku plus heteroatomů v kruhu (kruzích), a dále celkově obsahuje tři až dvacet atomů uhlíku plus heteroatomů, výhodněji tři až deset, ještě výhodněji pět nebo šest atomů uhlíku plus heteroatomů. Výhodné heterocykly obsahují jeden kruh, případně dva, tři nebo více kondenzovaných nebo spirocyklických kruhů. Výhodnější heterocykly obsahují jeden kruh tvořený 5 nebo 6 atomy uhlíku plus heteroatomy, z nichž maximálně tři jsou

heteroatomy, z nichž dále maximálně dva jsou O a S. Ještě výhodnější jsou takové heterocykly, které jsou tvořené kruhem obsahujícím 5 nebo 6 atomů, z nichž jeden nebo dva atomy jsou O nebo S a zbylé jsou C, nebo z nichž jeden, dva nebo tři atomy jsou N a zbylé jsou C. Takovéto výhodné heterocykly, které jsou tvořené kruhem obsahujícím 5 nebo 6 atomů, jsou výhodně nasycené, nenasycené s jednou nebo dvěma dvojnými vazbami nebo aromatické. Takovéto heterocykly, které jsou tvořené kruhem obsahujícím 5 nebo 6 atomů, jsou výhodně jednotlivé nebo dále kondenzované s uhlovodíkovými kruhy, které jsou tvořené 3 až 6 atomy, a které jsou nasycené, nenasycené s jednou dvojnou vazbou nebo aromatické (fenyl), nebo dále kondenzované s jinými heterocykly, které jsou tvořené kruhem obsahujícím 5 nebo 6 atomů. Heterocykly jsou nesubstituované nebo substituované. Mezi výhodné substituenty patří ty, které jsou uvedeny u definice alkylu.

Není-li specifikováno jinak termín „heteroaryl“ znamená aromatický heterocykl.

Sloučeniny tohoto vynálezu

Předmětem tohoto vynálezu jsou sloučeniny obecného vzorce I



V obecném vzorci I je R1 vodík nebo alkyl. R1 je výhodně alkyl obsahující 1 až 12 atomů uhlíku, výhodněji 1 až 6 atomů uhlíku, ještě výhodněji 1 až 2 atomy uhlíku. R1 je výhodně nesubstituovaný nebo substituovaný alkyl, přičemž mezi výhodné substituenty patří aryl, heterocyklyl, dále amino, alkylamino, arylamino, hydroxy, alkoxy, aryloxy, thio, alkylthio a arylthio skupina, karboxy skupina a její estery a amidy; dále

mezi výhodnější substituenty patří fenyl, naftyl a heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, nebo dále heterocyklyl se dvěma kondenzovanými kruhy tvořenými 8 až 10 atomy, z nichž 1 až 4 jsou heteroatomy. R1 je výhodněji vodík.

V obecném vzorci I se R2 vybere ze skupiny obsahující vodík, alkyl, aryl, heterocyklyl, karboxy skupinu a její estery a amidy. R2 je výhodně alkyl obsahující 1 až 8 atomů uhlíku, výhodněji 1 až 4 atomy uhlíku, ještě výhodněji 1 až 2 atomy uhlíku. R2 je výhodně nesubstituovaný nebo substituovaný alkyl, přičemž mezi výhodné substituenty patří aryl, heterocyklyl, dále amino, alkylamino, arylamino, hydroxy, alkoxy, aryloxy, thio, alkylthio a arylthio skupina, dále halogen, dále nitro a kyano skupina, karboxy skupina a její estery a amidy; dále mezi výhodnější substituenty patří fenyl, naftyl a heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, nebo dále heterocyklyl se dvěma kondenzovanými kruhy tvořenými 8 až 10 atomy, z nichž 1 až 4 jsou heteroatomy, dále hydroxy, C₁-C₆ alkoxy, fenoxo, thio, C₁-C₆ alkylthio, fenylthio skupina, karboxy skupina a její C₁-C₆ estery a amidy. Aryl R2 je výhodně fenyl nebo naftyl, výhodněji fenyl. R2 je výhodně nesubstituovaný nebo substituovaný aryl, přičemž mezi výhodné substituenty patří alkyl, aryl, heterocyklyl, dále amino, alkylamino, arylamino, hydroxy, alkoxy, aryloxy, thio, alkylthio a arylthio skupina, dále halogen, dále nitro a kyano skupina, karboxy skupina a její estery a amidy; mezi výhodnější substituenty patří C₁-C₆ alkyl. R2 je výhodně heterocykl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, nebo dále heterocyklyl se dvěma kondenzovanými kruhy tvořenými 8 až 10 atomy, z nichž 1 až 4 jsou heteroatomy. Heterocykl R2 je výhodněji heteroaryl. R2 je výhodně nesubstituovaný nebo substituovaný heterocykl, přičemž mezi výhodné substituenty patří alkyl, aryl, heterocyklyl, dále amino, alkylamino, arylamino, hydroxy, alkoxy, aryloxy, thio, alkylthio a arylthio skupina, dále halogen, dále nitro a kyano skupina, karboxy skupina a její estery a amidy; mezi výhodnější substituenty patří C₁-C₆ alkyl, fenyl, naftyl a heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, nebo dále heterocyklyl se dvěma kondenzovanými kruhy tvořenými 8 až 10 atomy, z nichž 1 až 4 jsou heteroatomy.

R2 se výhodně vybere ze skupiny obsahující známé vedlejší řetězce α -aminokyselin, především těch α -aminokyselin, které se obvykle vyskytují v přírodě.

V obecném vzorci I jsou R1 a R2 případně spojené a takovéto R1/R2 spojení tvoří alkylen nebo heteroalkylen. R1/R2 je výhodně alkylen obsahující 1 až 6 atomů uhlíku, výhodněji 2 až 4 atomy uhlíku, ještě výhodněji 3 nebo 4 atomy uhlíku. R1/R2 je výhodně heteroalkylen obsahující 1 až 5 atomů uhlíku, výhodněji 1 až 4 atomy uhlíku, ještě výhodněji 2 nebo 3 atomy uhlíku a dále výhodně 1 až 3 heteroatomy, výhodněji 1 nebo 2 heteroatomy, ještě výhodněji 1 heteroatom. R1/R2 je výhodně nesubstituovaný nebo substituovaný alkylen a heteroalkylen, přičemž mezi výhodné substituenty atomu uhlíku patří alkyl, aryl, heterocyklyl, dále amino, alkylamino, arylamino, hydroxy, alkoxy, aryloxy, thio, alkylthio a arylthio skupina, karboxy skupina a její estery a amidy; dále mezi výhodnější substituenty atomu uhlíku patří hydroxy, C₁-C₆ alkoxy, fenoxi, thio, C₁-C₆ alkylthio a fenylthio skupina, karboxy skupina a její C₁-C₆ estery a amidy, mezi výhodné substituenty atomu dusíku dále patří C₁-C₆ alkyl (nesubstituovaný nebo substituovaný).

V obecném vzorci I se R4 vybere ze skupiny obsahující aryl, heteroaryl a α,β -nenasycený konjugovaný aryl nebo heteroaryl. Aryl R4 je výhodně fenyl nebo naftyl, výhodněji fenyl. R4 je výhodně nesubstituovaný nebo substituovaný aryl, přičemž mezi výhodné substituenty patří alkyl, aryl, dále alkoxy, aryloxy, alkylthio a arylthio skupina, dále halogen, dále nitro a kyano skupina, karboxy skupina a její estery a amidy; mezi výhodnější substituenty dále patří C₁-C₆ alkyl, fenyl, C₁-C₆ alkoxy skupina a halogen. R4 je výhodně heteroaryl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, nebo dále dvěma kondenzovanými kruhy tvořenými 8 až 10 atomy, z nichž 1 až 4 jsou heteroatomy. R4 je výhodně nesubstituovaný nebo substituovaný heteroaryl, přičemž mezi výhodné substituenty patří alkyl, aryl, dále alkoxy, aryloxy, alkylthio a arylthio skupina, dále halogen, dále nitro a kyano skupina, karboxy skupina a její estery a amidy; mezi výhodnější substituenty dále patří C₁-C₆ alkyl, fenyl, C₁-C₆ alkoxy skupina a halogen. Konjugovaný aryl a heteroaryl R4 je výhodně styryl. R4 je výhodně nesubstituovaný nebo substituovaný konjugovaný aryl a heteroaryl, přičemž mezi výhodné substituenty patří alkyl, dále alkoxy, aryloxy, alkylthio

a arylthio skupina, dále halogen, dále nitro a kyano skupina, karboxy skupina a její estery a amidy; mezi výhodnější substituenty dále patří C_1-C_6 alkyl, fenyl, C_1-C_6 alkoxy skupina a halogen.

V obecném vzorci I se R5 vybere ze skupiny obsahující vodík, alkyl, aryl a heterocyklyl. R5 je výhodně alkyl obsahující 1 až 10 atomů uhlíku, výhodněji 1 až 4 atomy uhlíku, ještě výhodněji 1 nebo 2 atomy uhlíku. R5 je výhodně nesubstituovaný nebo substituovaný alkyl, přičemž mezi výhodné substituenty patří alkyl, aryl, heterocyklyl, dále amino, alkylamino, arylamino, hydroxy, alkoxy, aryloxy, thio, alkylthio a arylthio skupina, dále formyl, alkylacyl, arylacyl, halogen, dále nitro a kyano skupina, karboxy skupina a její estery a amidy; mezi výhodnější substituenty dále patří fenyl, naftyl a heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, nebo dále dvěma kondenzovanými kruhy tvořenými 8 až 10 atomy, z nichž 1 až 4 jsou heteroatomy. Aryl R5 je výhodně fenyl nebo naftyl, výhodněji fenyl. R5 je výhodně nesubstituovaný nebo substituovaný aryl, přičemž mezi výhodné substituenty patří alkyl, aryl, heterocyklyl, dále amino, alkylamino, arylamino, hydroxy, alkoxy, aryloxy, thio, alkylthio a arylthio skupina, dále formyl, alkylacyl, arylacyl, halogen, dále nitro a kyano skupina, karboxy skupina a její estery a amidy; mezi výhodnější substituenty dále patří C_1-C_6 alkyl, fenyl a heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, nebo dále dvěma kondenzovanými kruhy tvořenými 8 až 10 atomy, z nichž 1 až 4 jsou heteroatomy. R5 je výhodně heterocykl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, nebo dále dvěma kondenzovanými kruhy tvořenými 8 až 10 atomy, z nichž 1 až 4 jsou heteroatomy. Heterocykl R5 je výhodněji heteroaryl. R5 je výhodně nesubstituovaný nebo substituovaný heterocykl, přičemž mezi výhodné substituenty patří alkyl, aryl, heterocyklyl, dále amino, alkylamino, arylamino, hydroxy, alkoxy, aryloxy, thio, alkylthio a arylthio skupina, dále formyl, alkylacyl, arylacyl, halogen, dále nitro a kyano skupina, karboxyamidová skupina její estery a amidy; mezi výhodnější substituenty dále patří C_1-C_6 alkyl, fenyl a heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, nebo dále dvěma kondenzovanými kruhy tvořenými 8 až 10 atomy, z nichž 1 až 4 jsou heteroatomy.

Tento vynález se týká optických izomerů, diasteromerů a enantiomerů sloučenin obecného vzorce I. Tento vynález se týká solí, hydrátů, esterů, amidů a imidů takovýchto sloučenin.

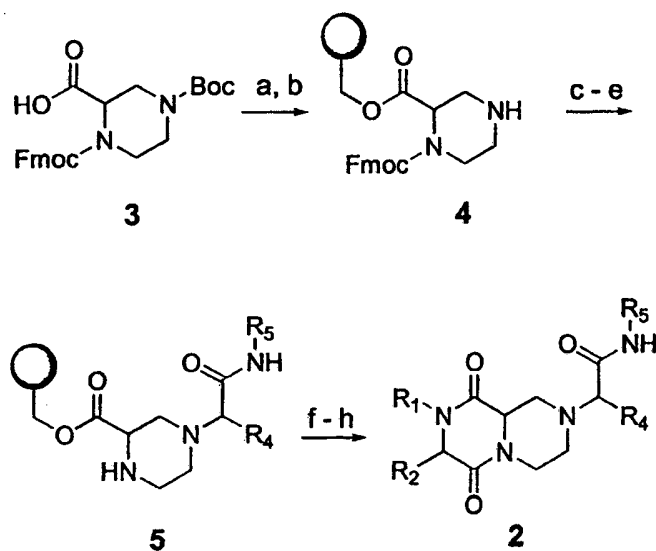
Termín „sůl“ znamená kationaktivní sůl vytvořenou na jakékoliv kyselé skupině (např. karboxy skupině) nebo anionaktivní sůl vytvořenou na jakékoliv zásadité skupině (např. amino skupině) ve sloučenině obecného vzorce I. Je známo mnoho solí. Mezi výhodné kationaktivní soli patří soli alkalických kovů, například sodné nebo draselné, dále soli kovů alkalických zemin, například hořečnaté a vápenaté a dále organické soli, například amoniové. Mezi výhodné anionaktivní soli patří halogenidy, sulfonáty, karboxyláty, fosfáty, apod. Soli vzniklé adicí případně poskytují optické centrum, které tam předtím nebylo.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu a jejich soli případně obsahují jedno nebo více chirálních center. Tento vynález se týká všech optických izomerů sloučeniny obecného vzorce I a jejich solí včetně diasteromerů a enantiomerů.

Vynález se také týká sérií sloučenin obecného vzorce I. Takovéto série jsou případně směsi sloučenin obecného vzorce I nebo sbírky individuálních sloučenin obecného vzorce I.

Způsoby přípravy sloučenin

Dále se tento vynález týká způsobu přípravy sloučenin obecného vzorce I (produkt **2**) jak je obecně zobrazeno na obrázku 2.



Obrázek 2

Používá se ortogonálně chráněná, na pryskyřici navázaná kyselina piperazinová. Reakce, při které dochází k sejmutí chránicí skupiny, je následována funkcionalizací β -dusíkového atomu prostřednictvím Petasisovi reakce. Následně vytvořená amidová vazba vede k požadované inkluzi R_4 a R_5 substituentů. Odblokováním α -dusíku, které je následováno spojením Boc-N-chráněné (Boc - butoxykarbonyl) α -aminokyseliny, sejmutím chránicí skupiny a cyklizativním štěpením, dojde ke včlenění substituentů R_2 a R_1 , což vede ke vzniku bicyckického produktu **2**.

V kroku **a** reaguje hydroxymethylpolystyrenová pryskyřice s N-chráněnou kyselinou piperazinovou (**3**), což vede k jejímu navázání na pryskyřici. Tato reakce se výhodně provádí v rozpouštědle tetrahydrofuranu (THF), po nabobtnání pryskyřice

v dichlormethanu (DCM), v přítomnosti trifenyfosfinu (Ph₃P) a diethylazodikarboxylátu (DEAD), které působí jako činidla Mitsunobu reakce. Pryskyřicový produkt se výhodně přefiltruje a několikrát promyje použitím jednoho nebo více THF, DCM a methanolu (MeOH), čímž se produkt vyčistí.

V kroku **b** se chránící skupina odstraní z β -dusíku kyseliny piperazinové navázané na pryskyřici za vzniku produktu **4**. Tohoto se výhodně dosáhne použitím roztoku kyseliny trifluoroctové (TFA) a DCM, výhodně 40% TFA, výhodně po nabobtnání reagující pryskyřicové složky v DCM. Pryskyřicový produkt se výhodně přefiltruje a několikrát promyje použitím DCM a/nebo MeOH, zneutralizuje se a pro vyčištění se opět přefiltruje a promyje.

V kroku **c** reaguje piperazinový ester pryskyřice **4** s kyselinou R₄-boronovou a kyselinou glyoxylovou. Tato reakce se výhodně provádí v roztoku DCM, výhodně po nabobtnání reagující pryskyřicové složky v DCM. Pryskyřicový produkt se výhodně přefiltruje a několikrát promyje použitím DCM a MeOH, což vede k jeho vyčištění. Tento reakční krok a čištění se výhodně opakují pro zvýšení výtěžku požadovaného produktu.

V kroku **d** reaguje pryskyřicový produkt z kroku **c** s aminem R₅-NH₂. Dříve než proběhne adice aminu v tomto kroku, nechá se reagující pryskyřicová složka výhodně nabobtnat v dimethylformamidu (DMF), smísí se s hydroxybenzotriazolem (HOBt), který působí jako aktivační činidlo, následně se smísí s diisopropyl-karbodiimidem (DIC), který působí jako spojovací činidlo a dále se přefiltruje a promyje DMF. Po proběhnutí reakce s aminem se pryskyřicový produkt výhodně přefiltruje a promyje DMF.

V kroku **e** se pryskyřicový produkt z kroku **d** smísí s piperidinem, který působí jako činidlo pro sejmutí chránící skupiny. Tento krok se výhodně provádí v roztoku piperidinu v DMF s obsahem 15 až 30 % piperidinu. Výsledný pryskyřicový produkt **5** se výhodně přefiltruje a několikrát promyje DMF. Tento krok se výhodně opakuje pro zvýšení výtěžku požadovaného produktu.

V kroku **f** reaguje pryskyřicový produkt **5** s N-chráněnou α -aminokyselinou. Tato reakce se výhodně provádí v přítomnosti benzotriazol-1-yl-oxy-tris-pyrrolidino-fosfonium hexafluorofosforečnanu (PyBOP), který působí jako spojovací činidlo a poté v přítomnosti zásady diisopropylethylaminu (DiPEA). Dříve než se přidá aminokyselina, nechá se reagující pryskyřicová složka výhodně nabobtnat v DMF. Pryskyřicový produkt se výhodně přefiltruje a několikrát promyje DMF. Tento krok se výhodně opakuje.

V kroku **g** se odstraní chránicí skupina α -aminokyseliny z kroku **f**. Toto je výhodné provést použitím roztoku TFA v DCM, výhodně 25% TFA. Pryskyřicový produkt se výhodně přefiltruje a několikrát promyje DMF a MeOH.

V kroku **h** se pryskyřicový produkt z kroku **g** odštěpí od pryskyřice a zacyklí se za vzniku produktu **2**. Tento krok se výhodně provádí v roztoku 5 až 20% kyseliny octové (AcOH) v isopropanolu (iPrOH) při zvýšené teplotě 30 až 80 °C po dobu 20 až 80 h. Rozštěpená pryskyřice se přefiltruje a několikrát promyje výhodně použitím MeOH. Filtrát a zbytky z promývání se výhodně smísí, zakoncentrují se a vysuší, což vede ke vzniku produktů **2** v pevném stavu. Produkt v pevném stavu se výhodně čistí pomocí opakovaného odpařování s chloroformem a poté sušením ve vakuu.

Příklady provedení vynálezu

V následujících rámcích vynálezu neomezuji příkladech jsou detailněji popsány způsoby přípravy sloučenin tohoto vynálezu.

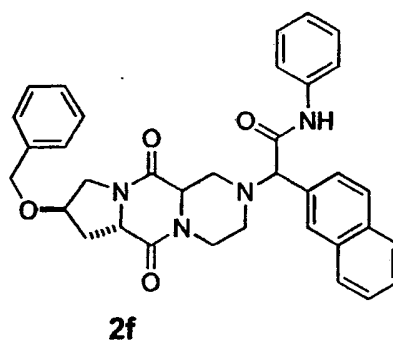
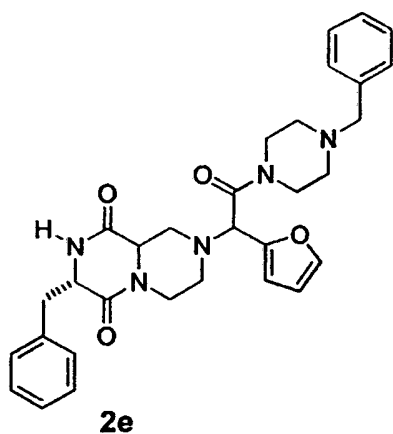
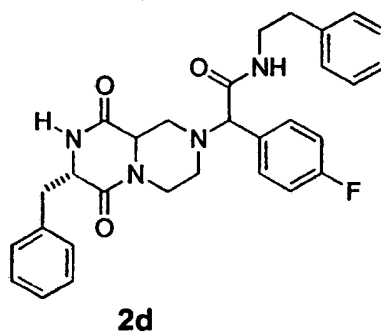
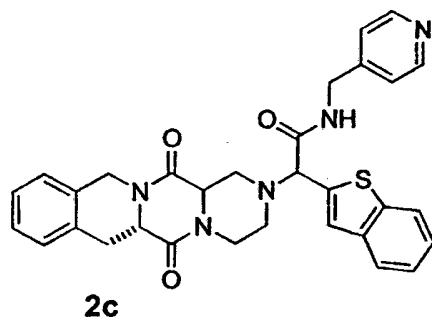
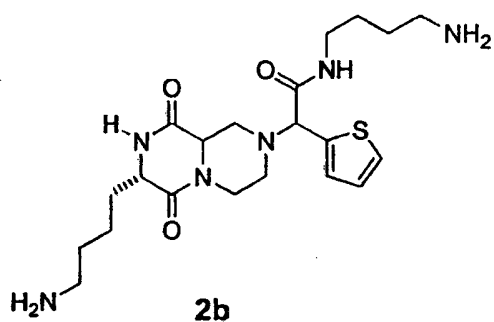
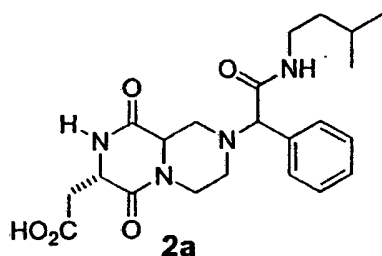
Příklad 1

- a) Hydroxymethylpolystyrenová pryskyřice (1,0 g, 1,44 mmol/g, Advanced Chemtech) se nechá nabobtnat v bezvodém DCM (6 ml). V této suspenzi se rozpustí Ph₃P (1,13 g, 4,32 mmol) a heterogenní reakce se pomocí dusíku ochladí na 0 °C. K této jemně rozmíchané suspenzi se po dobu 30 minut přidává THF (30 ml) roztok N-Fmoc-Np-Boc-2-karboxy-piperazinu **3** (Fmoc - fluorenylmethyloxycarbonyl, Np - nitropiperonyl) (1,95 g, 4,32 mmol) a DEAD (751 ml, 4,32 mmol). Směs se míchá po dobu 72 h, po uplynutí této doby se pryskyřice přefiltruje a promyje THF (3x), DCM (3x), MeOH (3x) a poté se několikanásobně, postupně a střídavě promyje DCM a MeOH (standardním způsobem).
- b) Piperazinový ester pryskyřice z kroku **a** (1,4 g) se nechá nabobtnat v DCM, přefiltruje se a po dobu 1 h se čistí 40% roztokem TFA v DCM. Pryskyřice se přefiltruje a promyje DCM (3x), MeOH (3x) a poté střídavě DCM/MeOH jak je uvedeno v kroku (a). Na pryskyřici navázaný amin TFA se poté neutralizuje 10% roztokem DiPEA v DCM a znovu se promyje standardním způsobem.
- c) Ester pryskyřice **4** z kroku **b** se nechá nabobtnat v DCM (10 ml) a přidá se kyselina glyoxylová (265 g, 2,88 mmol) a kyselina boronová (2,88 mmol) jako roztok v MeOH (15 ml). Výsledná suspenze se před filtrací pryskyřice a před promytím MeOH (3x) míchá po dobu 5 h. Výše popsaná procedura se opakuje po dobu 16 h a po jejím uplynutí se pryskyřice opět přefiltruje a promyje standardním způsobem.
- d) Ester pryskyřice z kroku **c** se nechá nabobtnat v DMF (5 ml) a přidá se HOBT (1,10 g, 7,2 mmol) a poté DIC (907 mg, 7,2 mmol). Směs se míchá po dobu 3 h a po uplynutí této doby se pryskyřice přefiltruje a promyje DMF (4x). Pryskyřice

- se nechá znovu nabobtnat v DMF (10 ml) a k této suspenzi se přidá amin (7,2 mmol). Směs se míchá po dobu 15 h. Pryskyřice se přefiltruje a promyje DMF (3x) a dále se promyje standardním způsobem.
- e) Ester pryskyřice z kroku **d** se čistí 25% piperidinem v DMF po dobu 20 min. Pryskyřice se před opakováním přefiltruje a promyje DMF (2x). Pryskyřicový produkt se přefiltruje a promyje standardním způsobem.
- f) Pryskyřicový produkt **5** z kroku **e** se nechá nabobtnat v DMF. Přidá se Boc- α -aminokyselina (Boc-AA) (7,2 mmol), PyBOP (3,74 g, 7,2 mmol) a poté DiPEA (1,1 g, 8,64 mmol). Směs se míchá po dobu 5 h, přefiltruje se a promyje se DMF (3x) standardním způsobem.
- g) Pryskyřicový produkt z kroku **f** se čistí 25% TFA/DCM po dobu 1 h. Pryskyřice se přefiltruje a promyje.
- h) Pryskyřicový produkt z kroku **g** se smísí s 10% AcOH v iPrOH a po dobu 16 h se udržuje při teplotě 50 °C. Pryskyřice se přefiltruje a několikrát promyje MeOH. Filtrát a zbytky z promývání se smísí a zakoncentrují se za vzniku téměř bílého produktu v pevném stavu. Produkt v pevném stavu se několikrát odpaří s chloroformem a poté se suší ve vakuu po dobu 15 h.

Příklad 2 až 7

V následujících rámcích vynálezu neomezuujících příkladech se sloučeniny připraví způsobem uvedeným v Příkladě 1 použitím níže uvedených derivátů kyseliny boronové, aminu a Boc- α -aminokyseliny namísto původních.



Příklad	Kyselina boronová	Amin	Aminokyselina	Produkt
2	kyselina fenylboronová	isoamylamin	Boc-Asp (O-tBu)-OH	2a
3	kyselina 2-thiofenboronová	mono-Boc-butyl- -1,4-diamin	Boc-Lys (Boc)-OH	2b
4	kyselina benzothiofen- -2-boronová	4-aminomethyl- -pyridin	Boc-Tic-OH	2c
5	kyselina 4-fluorboronová	fenethylamin	Boc-Phe-OH	2d
6	kyselina 2-furylboronová	benzylamin	Boc-Phe-OH	2e
7	kyselina 2-naftylboronová	anilin	Boc-Hyp (OBn)-OH	2f

(Asp - kyselina asparagová)

(tBu - terc. butyl)

(Lys - lysin)

(Tic - kyselina tetrahydroisochinolin-3-karboxylová)

(Phe - fenylalanin)

(Hyp - 4-hydroxyprolin)

(OBn - alkaloid ouabain)

Výše popsané způsoby příprav sloučenin tohoto vynálezu se provádějí použitím pryskyřice podporující vznik pevné látky. To umožňuje reakci, separaci a čištění meziproduktů a koncového produktu automatizovat. Série sloučenin obecného vzorce I se snadno připraví použitím způsobů příprav podle tohoto vynálezu. Automatizace přípravy takovýchto sérií se dosáhne použitím zařízení známého mezi odbornou veřejností. Takovéto zařízení lze použít pro přípravu sérií, což jsou směsi sloučenin obecného vzorce I nebo sbírky individuálních sloučenin obecného vzorce I, kde každá je v izolované komůrce.

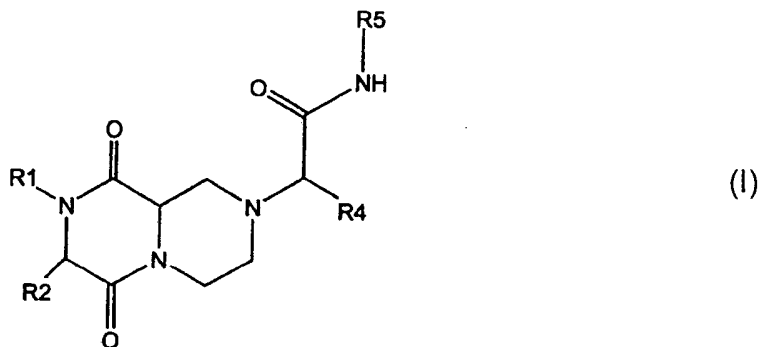
Ačkoliv byla popsána jednotlivá provedení tohoto vynálezu, odborné veřejnosti je zřejmé, že je lze provést s různými změnami a modifikacemi bez odchýlení od ducha a rámce tohoto vynálezu. Všechny takovéto modifikace, které nevybočují z rámce tohoto vynálezu, jsou zahrnuty v následujících nárocích.

Průmyslová využitelnost

Sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou vhodné jako sondy pro studium dějů molekulární identifikace.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Sloučenina obecného vzorce I,



kde

- (a) R1 je vodík nebo alkyl a R2 je vybrané ze skupiny obsahující vodík, alkyl, aryl, heterocyklyl, karboxy skupinu a její estery a amidy, nebo jsou R1 a R2 případně spojené a tvoří dohromady alkylen nebo heteroalkylen,
- (b) R4 je vybrané ze skupiny obsahující aryl, heteroaryl a α,β -nenasycený konjugovaný aryl nebo heteroaryl,
- (c) R5 je vybrané ze skupiny obsahující vodík, alkyl, aryl a heterocyklyl, a dále jejich optický izomer, diastomer nebo enantiomer, dále jejich sůl, hydrát, ester, amid nebo imid.
2. Sloučenina podle nároku 1, kde
- (a) R1 je vodík nebo C₁-C₁₂ alkyl a R2 je vybrané ze skupiny obsahující vodík, C₁-C₈ alkyl, fenyl, naftyl a heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, nebo dále dvěma kondenzovanými kruhy tvořenými 8 až 10 atomy, z nichž 1 až 4 jsou heteroatomy, nebo jsou R1 a R2 spojené a dohromady tvoří C₁-C₆ alkylen nebo heteroalkylen s 1 až 5 atomy uhlíku a s 1 až 3 heteroatomy,
- (b) R4 je vybrané ze skupiny obsahující fenyl, naftyl, styryl a heteroaryl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, nebo dále dvěma kondenzovanými kruhy tvořenými 8 až 10 atomy, z nichž 1 až 4 jsou heteroatomy,

- (c) R5 je vybrané ze skupiny obsahující vodík, C₁-C₁₀ alkyl, fenyl, naftyl a heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, nebo dvěma kondenzovanými kruhy tvořenými 8 až 10 atomy, z nichž 1 až 4 jsou heteroatomy.

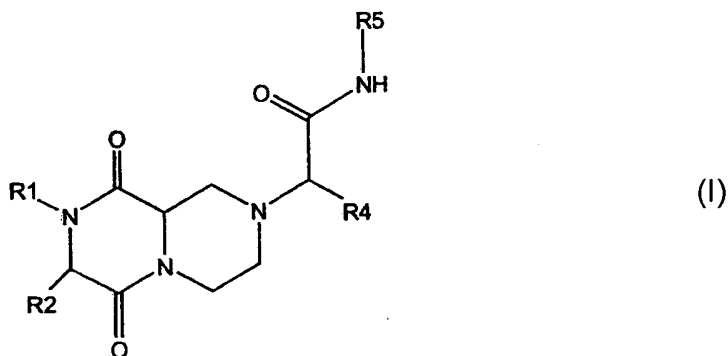
3. Sloučenina podle nároku 2, kde

- (a) R1 je vodík nebo nesubstituovaný nebo substituovaný C₁-C₆ alkyl a R2 je vybrané ze skupiny obsahující vodík, nesubstituovaný nebo substituovaný C₁-C₄ alkyl, nesubstituovaný nebo substituovaný fenyl, nesubstituovaný nebo substituovaný heteroaryl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, nebo jsou R1 a R2 spojené a dohromady tvoří nesubstituovaný nebo substituovaný C₁-C₄ alkylen nebo dále nesubstituovaný nebo substituovaný C₁-C₄ heteroalkylen obsahující také jeden nebo dva heteroatomy,
- (b) R4 je vybrané ze skupiny obsahující nesubstituovaný nebo substituovaný fenyl, nesubstituovaný nebo substituovaný styryl a nesubstituovaný nebo substituovaný heteroaryl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy,
- (c) R5 je vybrané ze skupiny obsahující vodík, nesubstituovaný nebo substituovaný C₁-C₄ alkyl, nesubstituovaný nebo substituovaný fenyl a nesubstituovaný nebo substituovaný heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy.

4. Sloučenina podle nároku 3, kde

- (a) substituenty alkylu R1 jsou fenyl nebo heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy,
- (b) substituenty alkylu R2 jsou vybrané ze skupiny obsahující fenyl, heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy, dále hydroxy, C₁-C₆ alkoxy, fenoxi, thio, C₁-C₆ alkylthio a fenylthio skupinu, karboxy skupinu a její C₁-C₆ estery a amidy,
- (c) substituenty arylu R2 jsou C₁-C₆ alkyly,

- (d) substituenty heterocyklylu R2 jsou vybrány ze skupiny obsahující C₁-C₆ alkyl, fenyl a heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy,
 - (e) substituenty alkylenu a heteroalkylenu R1/R2 jsou vybrány ze skupiny obsahující C₁-C₆ alkyl, dále hydroxy, C₁-C₆ alkoxy, fenoxi, thio, C₁-C₆ alkylthio a fenylthio skupinu, karboxy skupinu a její C₁-C₆ estery a amidy,
 - (f) substituenty fenylu, heteroarylu a styrylu R4 jsou vybrány ze skupiny obsahující C₁-C₆ alkyl, fenyl, C₁-C₆ alkoxy skupinu a halogen,
 - (g) substituenty alkylu R5 jsou fenyl nebo heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy,
 - (h) substituenty arylu a heterocyklylu R5 jsou vybrány ze skupiny obsahující C₁-C₆ alkyl, fenyl a heterocyklyl s jedním kruhem tvořeným 5 nebo 6 atomy, z nichž 1 až 3 jsou heteroatomy.
5. Sloučenina podle nároku 3, kde R1 je vodík nebo alkyl, R1 a R2 jsou spojené a R4 je aryl, heteroaryl nebo α,β -nenasycený konjugovaný aryl nebo heteroaryl.
6. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce I,



vyznačující se tím, že ester kyseliny piperazinové nebo ester pryskyřice se použijí jako reaktanty.

7. Způsob podle nároku 8 vyznačující se tím, že β -dusíkový atom esteru kyseliny piperazinové je funkcionalizován pomocí Petasisovi reakce kyseliny boronové, kde
- (a) hydroxymethylpolystyrenová pryskyřice reaguje s N-chráněnou kyselinou piperazinovou, což vede k jejímu navázání na pryskyřici za vzniku produktu kroku (a),
 - (b) z β -dusíku produktu kroku (a) se odstraní chránící skupina, což vede ke vzniku produktu kroku (b),
 - (c) produkt kroku (b) reaguje s kyselinou R4-boronovou a kyselinou glyoxylovou, což vede ke vzniku produktu kroku (c),
 - (d) produkt kroku (c) reaguje s aminem R5-NH₂, což vede ke vzniku produktu kroku (d),
 - (e) z produktu kroku (d) se odstraní chránící skupina, což vede ke vzniku produktu kroku (e),
 - (f) produkt kroku (e) reaguje s N-chráněnou α -aminokyselinou, což vede ke vzniku produktu kroku (f),
 - (g) odstraní se chránící skupina α -aminokyseliny produktu kroku (f), což vede ke vzniku produktu kroku (g),
 - (h) produkt kroku (g) se odštěpí od pryskyřice a cyklizuje se, což vede ke vzniku sloučeniny.
8. Způsob podle nároku 9 vyznačující se tím, že
- (a) v kroku (c) se produkt kroku (b) nechá nabobtnat v DCM a reakce se provede v rozpouštědle MeOH,
 - (b) v kroku (d) se produkt kroku (c) nechá nabobtnat v DMF, kontaktuje se s HOBt, který působí jako aktivační činidlo a kontaktuje se s DIC, který působí jako spojovací činidlo,
 - (c) v kroku (f) se produkt kroku (e) nechá nabobtnat v DMF, kontaktuje se s PyBOP, který působí jako spojovací činidlo, a zásadou DiPEA, a poté se kontaktuje s aminokyselinou,
 - (d) v kroku (h) se použije 5 až 20% roztok AcOH v iPrOH.

9. Série sloučenin vyznačující se tím, že obsahují sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 1, 3, 4, 8 nebo 9.
10. Série sloučenin vyznačující se tím, že obsahují sloučeniny připravené způsobem podle nároku 9.