

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

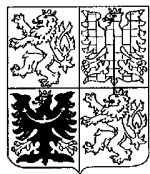
zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

1999 - 3498

(19)

ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **03.04.1998**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **04.04.1997**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1997/9701245**

(33) Země priority: **SE**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12.04.2000**
(Věstník č. 4/2000)

(86) PCT číslo: **PCT/SE98/00622**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO98/45330**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 K 14/81

A 61 K 38/55

A 61 P 31/12

A 61 P 31/18

(71) Přihlašovatel:

MEDIVIR AB, Huddinge, SE;

(72) Původce:

Classon Björn, Stockholm, SE;

Kvarnström Ingemar Sven-Anders, Linköping,
SE;

Samuelsson Bengt Bertil, Onsala, SE;

(74) Zástupce:

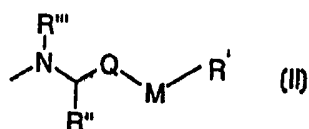
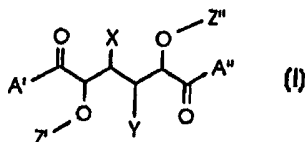
Švorčík Otakar JUDr., Hálkova 2, Praha 2,
120 00;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Inhibitory virové proteasy

(57) Anotace:

Sloučeniny vzorce (I), kde A a A' jsou nezávisle stejné nebo různé skupiny vzorce (II), kde substituenty jsou vysvětleny v popise vynálezu a její farmaceuticky přijatelné soli a prekurzory léčiva. Tyto sloučeniny jsou použitelné jako inhibitory aspartyl proteasy HIV, mohou být připraveny snadnou dvoustupňovou syntézou z nových 2,5-di-O-benzyl-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonových meziproductů.



Inhibitory virové proteasy

Oblast techniky

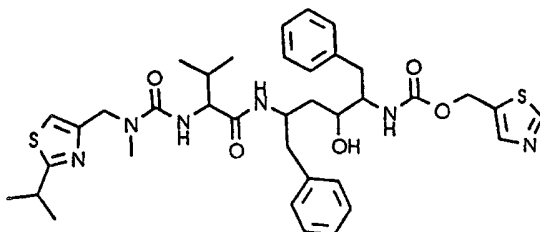
Předkládaný vynález se týká nových inhibitorů proteas, zejména inhibitorů aspartat proteasy, která je přítomna v některých retrovirech, hlavně v HIV. Vynález se dále týká použití takových inhibitorů proteas v léčbě onemocnění vyvolaných retroviry a v přípravě léků pro tento účel. Vynález se také týká nových způsobů syntézy pro usnadnění přípravy inhibitorů proteasy a podobných chemických struktur.

Dosavadní stav techniky

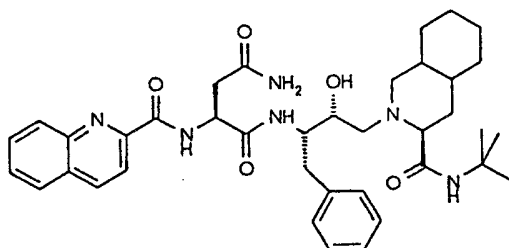
Mnoho biologických procesů je závislých na přesném enzymatickém zpracování polypeptidů v konkrétních aminokyselinových sekvencích. Příkladem takové zpracování je posttranslační zpracování produktů gag a gag-pol genů viru lidské imunodeficiency (HIV), které umožňuje organizaci jaderných strukturálních proteinů a uvolnění virových enzymů. Enzym odpovědný za toto zpracování, HIV proteasa, je virem kodovaná homodimerická proteasa, která náleží do rodiny aspartat-proteasy. Lidské enzymy renin a pepsin také patří do této rodiny proteas. Inhibice HIV proteasy v buněčné kultuře brání maturaci viru a jeho replikaci a proto představuje tento enzym atraktivní cíl pro antivirovou terapii proti HIV u lidí.

V patentové literatuře existuje několik odkazů popisujících inhibitory HIV proteasy, které obvykle popisují peptidomimetika mající velký počet center chiralit. Například Abbott Laboratories rozsáhle zkoumaly lineární peptidomimetika, jak jsou popsána v serii patentových přihlášek začínajících EP 402654 a vrcholících přihláškou č. WO 94 14436, která popisuje

optimalizovaná lineární peptidomimetika a konkrétně sloučeninu Ritonavir:

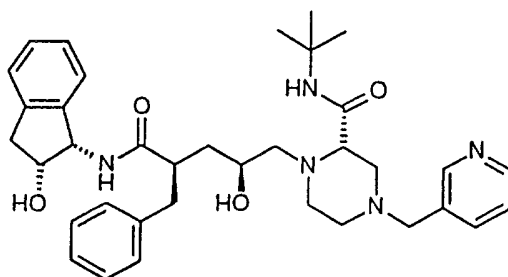


Nyní je tato sloučenina známá jako Norvir, je registrována FDA a ačkoliv má dobrou klinickou účinnost, je její syntéza obtížná. Obtíže spojené se syntézou, která byly popsány v oboru dříve, jsou známy v souvislosti s inhibitory proteasy saquinavirem (Inverase, Roche):

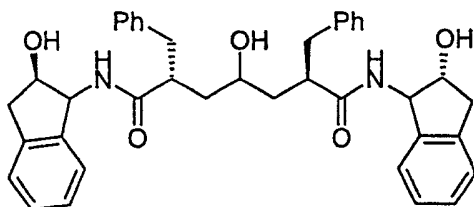


Podle publikovaných zpráv vyžaduje syntéza této sloučeniny přibližně 20 stupňů, které vedou ke konečnému výtěžku sloučeniny okolo 2%. Tato obtížnost syntézy zvyšuje náklady na léčbu a snižuje kapacitu výroby.

U.S. patent č. 5413999 (Merck) popisuje indanylpentaminové sloučeniny, včetně v současnosti prodáváného výrobku indinaviru:

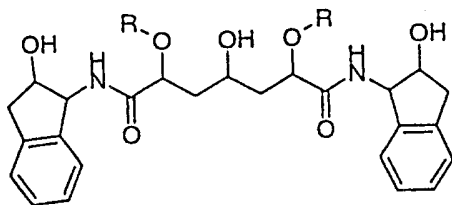


EP 480714 popisuje symetrický inhibitor proteasy mající terminální indanolaminové skupiny na obou stranách skeletu tvořeného 7 atomy uhlíku:



Tyto sloučeniny jsou připraveny komplexní technikou z alkendiolu.

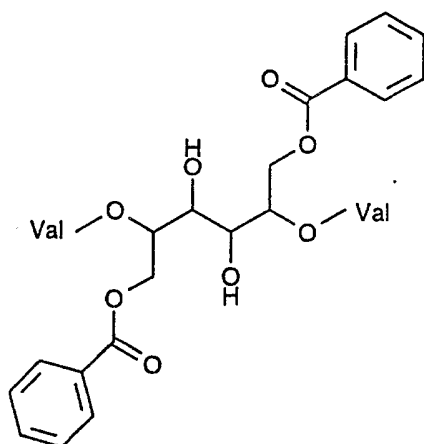
Japonská patentová přihláška č. 7242613 A (Banyu) také popisuje symetrický inhibitor proteasy mající terminální indanolaminové skupiny na obou stranách skeletu tvořeného 7 atomy uhlíku:



kde R je H nebo nižší alkyl. Tyto sloučeniny jsou připraveny BuLi-alkylací N,O-isopropylidinu N-[2(R)-hydroxy-(1S)-indynyl]-3-fenylpropanamidu s 2-chlor-2-chlormethyl-propenem, po které následuje ozonace, redukce a odstranění chránících skupin.

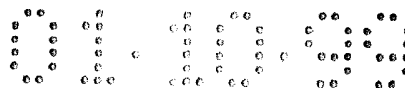
Mezinárodní patentová přihláška WO 94/13629 (Vertex) popisuje použití mannit-uhlovodíkového prekursoru pro přípravu sloučenin vzorce:

01.10.99

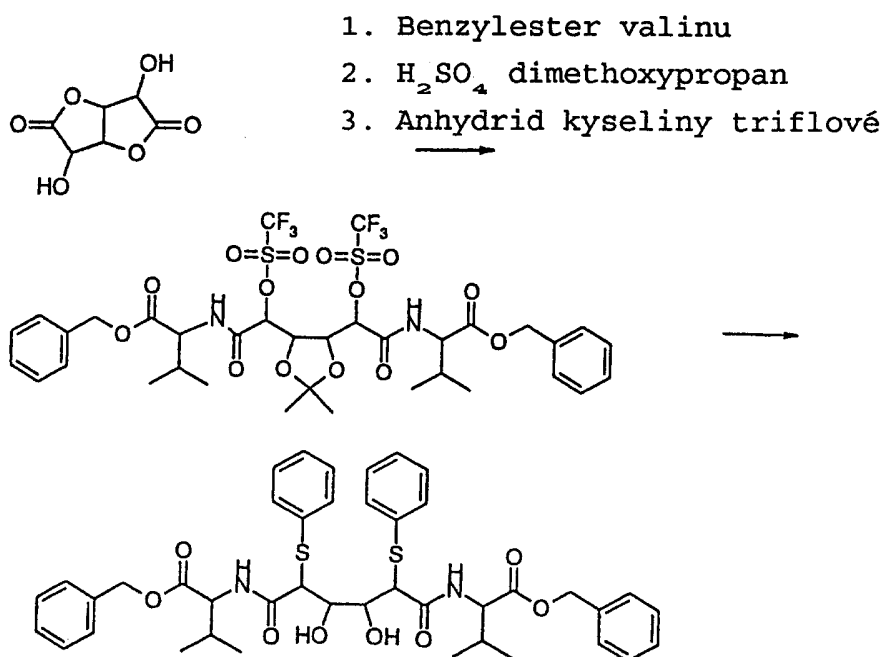


Je zřejmé, že u těchto inhibitorů benzoylové skupiny esterifikované na C-1 a C-6 hydroxylové skupiny manitolového prekursoru by měly vyplňovat P1 a P1' kapsy aktivního místa HIV proteasy. Aminokyselinové funkce, jako je valyl, jsou amidovou vazbou navázané na C-2 a C-5 hydroxylové skupiny a mají vyplňovat P-2 a P-2' kapsy enzymu. Tyto sloučeniny jsou připraveny přemostěním 3- a 4-hydroxylových skupin za použití isopropylidinu, epoxidací a otevřením kruhu terminálních hydroxylových skupin za použití nukleofilního činidla jako je arylalkohol a potom amidací výsledných volných hydroxylových skupin za použití příslušné aminokyseliny. Alternativně je isopropylidinem chráněný mannit nejprve amidován na aktivnějších C-1 a C-6 (terminálních) hydroxylových skupinách aminokyselinovými P-2 vyplňujícími skupinami a potom je esterifikován benzoylovými skupinami na C-2 a C-5 hydroxylových skupinách.

Jedna z prvních přihlášek od Abbott Laboratories týkajících se proteasy, EP 402646, popisuje velký počet potenciálních přístupů pro konstrukci inhibitorů proteasy. Jeden z těchto přístupů také využívá uhlovodíkového prekursoru, který se stává centrálním skeletem symterického inhibitoru proteasy. Příklady 305 a 307 EP 402646 popisují otevření kruhu mannosacharodilaktonu a adici



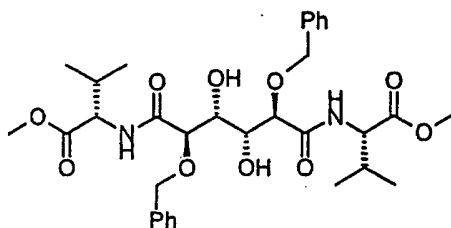
terminálních esterů valinu za zisku 3,4-O-isopropylidinem přemostěného adipaminového derivátu. Arylové skupiny, které odpovídají P1 a P1' kapsám proteasy jsou potom navázány pomocí aktivace triflatem na C-2 a C-5 pozicích uhlovodíkového skeletu a tyto skupiny jsou potom přeměněny na fenylthio-skupiny před odstraněním isopropylidinového můstku.



Nevýhodou tohoto postupu jsou nežádoucí inverse konfigurací C-3 a C-4 a to, že ačkoliv mohou být použita pro odstranění triflatových odštěpitelných skupin činidla jako je thiofenyl, jak je uvedeno v EP 402646, je možno za použití takových činidel získat pouze thioetherové deriváty pro P1 a P1' vyplňující skupiny. Mohlo by se zdát, že triflatová odštěpitelná skupina může být odstraněna za použití běžných alkylačních činidel, jako je alkoxid, za zisku O-alkylované P1/P1' vyplňující skupiny. Nicméně, zjistili jsme, že v tomto známém postupu má alkoxid tendenci eliminovat triflaty produkující olefin, místo

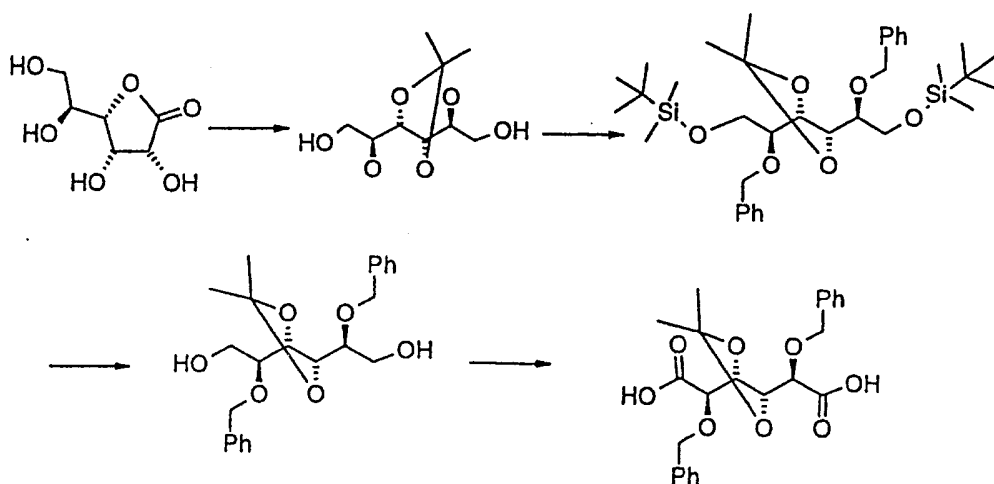
požadovaného O-alkylovaného substituentu.

Magnus Bjornse et al., v "Synthesis of Potential Candidates for Therapeutic Intervention against Human Immunodeficiency Virus", Stockholm University, 1995, popisuje sloučeninu



odpovídající benzylester a fenylalaninový analog. Tyto sloučeniny jsou připraveny z kyseliny L-mannonové pomocí stupňů:

- i) přemostění C-3 a C-4 hydroxylů hexitolu isopropylidinem,
- ii) chránění C-1 a C-6 primárních hydroxylových skupin,
- iii) O-alkylace C-2 a C-5 hydroxylových skupin na aralkylethery,
- iv) oxidace C-1 a C-6 primárních hydroxylových skupin na karboxylové kyseliny, a
- v) kondenzace výsledné sloučeniny s vhodnými aminokyselinovými (esterovými) terminálními skupinami. Tento postup může být graficky znázorněn následujícím způsobem:



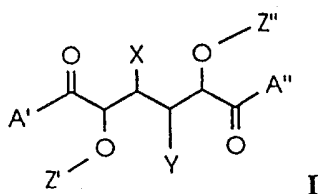
Vhodná valinová nebo fenylalaninová (esterová) koncová

jednotka se potom kondenzuje na terminální karboxylové skupiny v dichlormethanu-THF za použití HOBt-EDC kopulační reakce. I přes nutnost stupňů chránění, oxidace a odstranění chránících skupin znamená způsob syntézy dle Bjorsnea zlepšení vzhledem k velkému počtu stupňů v běžné syntéze peptidomimetik (viz výše uvedený saquinavir). Způsob syntézy dle Bjorsnea se také vyhýbá tirflatové aktivaci, přednostní reaktivitě "špatných" C-3 a C-4 atomů a jiných nevýhod postupu popsaného v EP 402646 (Abbott). Nicméně, sloučeniny navržené Bjorsneem mají neadekvátní antivirové charakteristiky. Nejlepší sloučenina navržená Bjorsneem, ve které jsou terminálními aminy methylestery valinu (znázorněná výše) má IC_{50} 5 μ M, což by mělo být porovnáváno se současnými prodávanými inhibitory proteas, která mají hodnoty IC_{50} o jeden nebo o dva řády nižší.

Podstata vynálezu

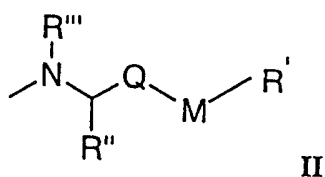
Nyní jsme objevily novou skupinu sloučenin s antivirovými vlastnostmi při IC_{50} v řádech nanomolů, která je vhodná pro novou techniku syntézy na bázi uhlovodíků, která je výhodnější než techniky známé v oboru, které byly popsány výše.

V souladu s tím obsahuje vynález v prvním aspektu nové sloučeniny vzorce I:



kde

A a A' jsou nezávisle skupina vzorce II:



kde

R' je H, CH_3 , $C(CH_3)_2$, $-OR^a$, $-N(R^a)_2$, $-N(R^a)OR^a$ nebo $-DP$;

R''' je H, CH_3 ; R^a je H, C_1 - C_3 alkyl;

D je vazba, C_{1-3} alkylen, $-C(=O)-$, $-S(O)-$, $-S(O)-$ nebo $-S(O)_2-$;

P je volitelně substituovaný, mono- nebo bicyklický cyklický uhlovodík nebo heterocyklus;

R'' je H, jakýkoliv vedlejší řetězec vyskytující se v přirozených aminokyselinách, karboxacetamid nebo skupina $(CH_2)_nDP$;

M je vazba nebo $-C(=O)N(R''')$;

Q buď není přítomen, nebo je vazba nebo je $-CH(OH)-$ nebo $-CH_2-$;

nebo tvoří R'' spolu s Q, M a R' volitelně substituovaný 5 nebo 6 členný cyklický uhlovodík nebo heterocyklus, který je volitelně fúzován s dalším 5 nebo 6 členným cyklickým uhlovodíkem nebo heterocyklem;

s podmínkou, že R' je $-OR^a$, $-N(CH_3)_2$, $-N(R^a)OR^a$ nebo $-DP$, pokud je M vazba a Q není přítomen;

X je H, OH, OCH_3 ;

Y je H, OH, OCH_3 , ale X a Y nejsou oba H;

Z' a Z'' jsou nezávisle $-(CH_2)_mP$, kde P je stejný, jak je definován výše;

n a m jsou nezávisle 0, 1 nebo 2;

a jejich farmaceuticky přijatelné sole a proléčiva.

Sloučeniny vzorce I jsou aktivními inhibitory aspartyl proteas, jako je proteasa HIV. V dalším aspektu proto vynález obsahuje:

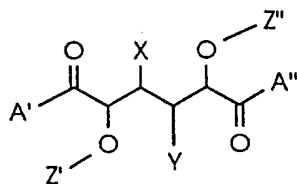
- farmaceuticky prostředek obsahující sloučeninu vzorce I ve směsi s farmaceuticky přijatelným nosičem nebo ředidlem;
- použití sloučeniny vzorce I ve výrobě léku pro profylaxy

nebo léčbu onemocnění, jako je AIDS, způsobených retroviry, jako je HIV; a

- způsob léčby stavů způsobených retroviry, zejména AIDS u lidí, který obsahuje podání sloučeniny vzorce I subjektu postiženému uvedeným onemocněním.

Sloučeniny mají relativně nízkou molekulovou hmotnost a proto by měly mít dobrou orální absorpci u savců. Proti dříve známým inhibitorům aspartyl proteasy mohou být sloučeniny podle předkládaného vynálezu připraveny syntezou o malém počtu stupňů ze snadno dostupných a levných výchozích materiálů, jako je L-mannaro-dilakton nebo jeho komerčně dostupné prekursory a deriváty, jako je L-mannono- γ -lakton.

V dalším aspektu vynález obsahuje způsob přípravy sloučenin vzorce I



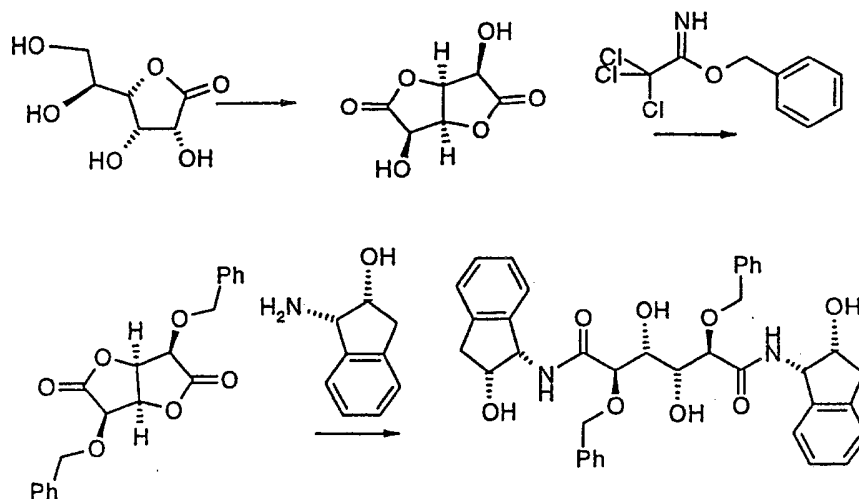
kde X, Y, Z' a Z'' jsou stejné, jak je definováno výše a A' a A'' jsou nezávislé:

skupina vzorce II nebo běžná skupina vyplňující P-2/P-2' proteasy,

kde uvedený způsob obsahuje:

- i) O-alkylaci L-mannaro-1,4:6,3-di-laktonu za vzniku Z' a Z'' skupin,
- ii) otevření laktonu pomocí stejných nebo odlišných primárních nebo sekundárních aminů za vzniku příslušných A' a A'' skupin; a
- iii) volitelně konversi C-3 a C-4 na vhodné X a Y'' skupiny.

Příklad tohoto aspektu vynálezu může být znázorněn následujícím způsobem:



Způsob podle předkládaného vynálezu je výhodně použit pro výrobu sloučenin vzorce I, jak jsou definován v patentových nárocích, ale může být také použit pro přípravu inhibitorů proteas s běžnými skupinami pro vyplnění P-2/P-2' proteasy.

Vložení Z' a Z'' skupin jako etherů C-2 a C-5 hydroxylů ve stupni i) je výhodně provedeno O-alkylací s vhodným derivátem: $E(CH_2)_n$, kde E je halogen, mesylat, tosylat atd. a P a n jsou stejné, jak je definováno výše, za přítomnosti baze jako je uhličitan, hydrid kovu nebo hydroxid a aprotického rozpouštědla jako je N,N-dimethylformamid, tetrahydrofuran nebo aceton. Výhodně je alkylačním činidlem benzyltrichloracetimidat spolu s protonem nebo Lewisovou kyselinou, t.j. trimethylsilyltriflatem.

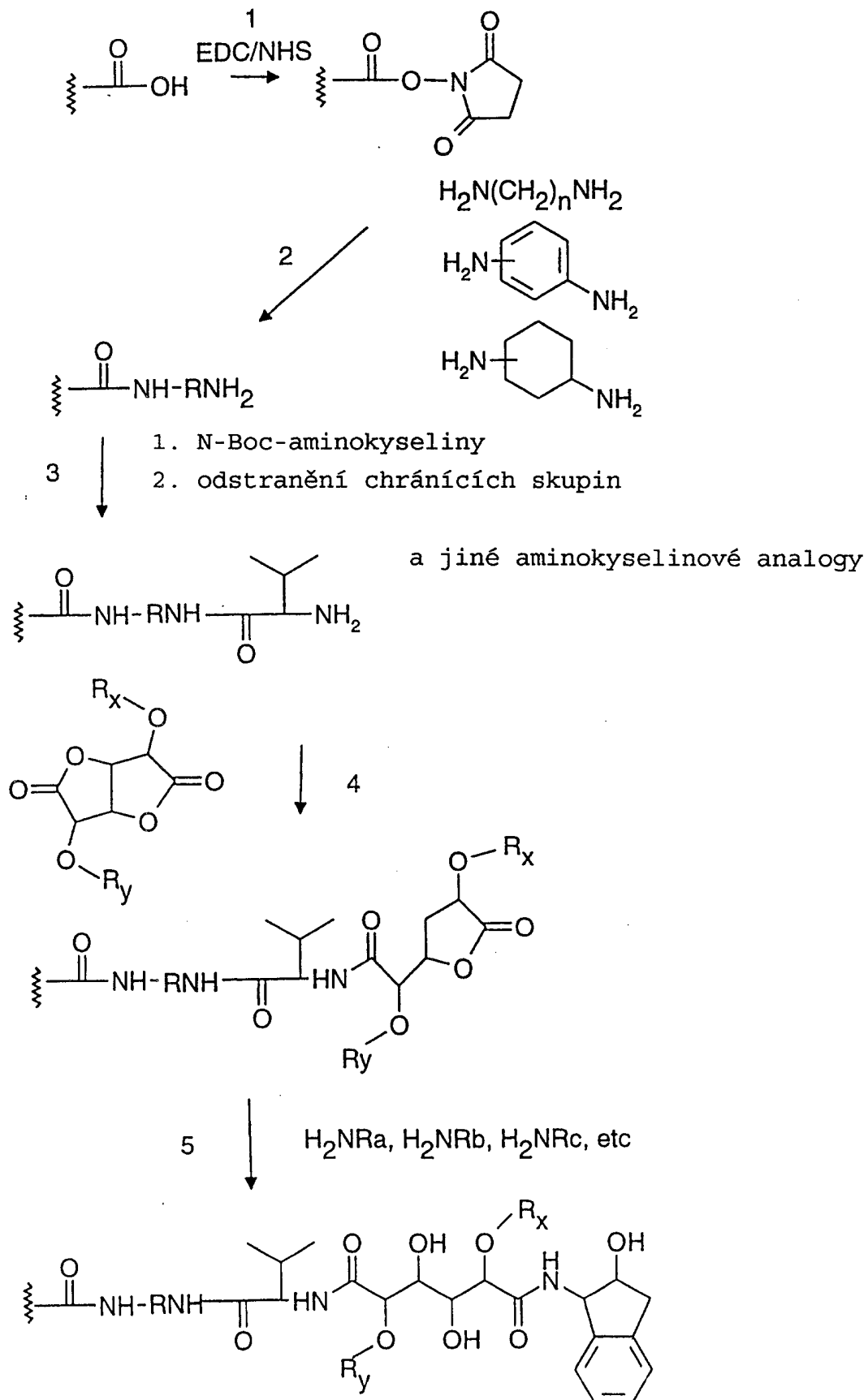
Otevření kruhu ve stupni ii) pro vložení aminových nebo aminokyselinových derivátů A' a A'' je výhodně provedeno za standardních podmínek v rozpouštědlech jako je dioxan, nitromethan THF, diglym, DMF nebo DMSO, kde uvedené rozpouštědlo

je s výhodou vybráno tak, aby rozpouštělo jak uhlovodíkový derivát, tak konkrétní obsažený amin.

Pro usnadnění syntézy je obvykle výhodné, aby byly koncové aminy A' a A'' stejné. Nicméně, ačkoliv je cílový enzym symetrický dimer, což ukazuje na těsnou interakci se symetrickými sloučeninami, mohou být za určitých okolností výhodné asymetrické terminální aminy, například pro resistenci nebo z farmakokinetických důvodů. Pokud je žádoucí získání asymetrické sloučeniny, to znamená sloučeniny s různými skupinami A' a A'', pak je nejvýhodnější navázat příslušné skupiny A' a A'' postupně. Toto navázání může být provedeno spolu s navázáním vhodných chránících skupin pro jeden dilaktonový kruh, ale může být také provedeno úpravou koncentrací činidel, reakčních podmínek, rychlosti adice atd., za zisku monoaminovaného laktonu, který se separuje pomocí běžných technik nebo neutralizací aminu, před reakcí s druhým A' nebo A'' aminem.

Alternativně může být různá koncová aminace provedena syntézou na pevné fázi, při které je neaminovaný nebo částečně aminovaný lakton zajištěn na substrátu pro pevnou fázi, jako jsou polymerové korálky, které jsou známé v oboru syntézy na pevné fázi, například na Merrifieldově pryskyřici. Takováto imobilizace laktonu umožní aminaci pouze určeného laktonového kruhu. Schema 1, dále, znázorňuje takové schema syntézy použité pro kombinatoriální syntezu sloučenin podle předkládaného vynálezu, ale je jasné, že jednotlivá čistá sloučenina může být připravena stejnou technikou za použití čistých činidel.

Schema 1



Ve schematu 1 obsahují stupně 1 a 2 přípravu vazebných skupin na karboxylových skupinách pryskyřicových korálků. Mohou být použity linkery různých velikostí, rigidit a různých štěpitelností (několik z nich je uvedeno ve stupni 2), jak jsou běžně používány v oboru syntézy na pevné fázi. Ve stupni 3 je volným aminem na korálku pro solidní fázi opatřeném linkerem amid, který je navázaný na N-chráněnou aminokyselinu za použití standardních podmínek peptidové chemie. Aminokyselinová činidla zahrnují mnoho různých, chráněných aminokyselin, jako je N-Boc valin, N-Boc isoleucin, N-Boc alanin, N-Boc leucin atd. a tak vede tento reakční krok ke vzniku první kombinatoriální řady. Korálky pro pevnou fázi nyní nesou mnoho náhodně rozmístěných aminokyselin oddělených příslušným linkerem od karboxylového povrchu korálku.

Ve stupni 4 je volný amin (po odstranění N-Boc chránících skupin) na aminokyselinách použit k otevření kruhu di-O-alkylovaného γ -dilaktonu, kde R_x a R_y jsou stejné nebo odlišné volitelně substituované (hetero)arylalkylové skupiny, například benzyl, fluorbenzyl, pyridylmethyl atd. Toto otevření kruhu se provede za použití běžných podmínek, jak jsou uvedeny dále, v rozpouštědlech jako je dioxan, nitromethan, THF, diglym, DM, DMSO a podobně. Pokud jsou R_x a R_y odlišné (hetero)arylalkylové skupiny, vznikne v tomto stupni další řada kombinatoriálních variací, podle toho, zda je otevřen kruh obsahující R_x nebo R_y . Nicméně, dilaktonová činidla sama o sobě mohou obsahovat mnoho různých dilaktonů s různými kombinacemi R_x , R_y a/nebo stereochemickým uspořádáním laktonu, což vede ke vzniku ještě větší kombinatoriální diversity.

V pátém stupni je zbylý kruh nyní imobilizovaného laktonu otevřen stejným způsobem za použití dalšího aminového činidla. Znovu může toto aminové činidlo obsahovat směs různých aminů,

například L-aminokyselin nebo (hetero)cyklických aminů, jak je znázorněno. Tak může být v tomto stupni vytvořena další řada kombinatoriální diversity. Kombinatoriální knihovna je odštěpena od linkeru za použití vhodné štěpícího činidla, obvykle specifické amidasy, nebo pomocí změny pH, atd.

Ačkoliv jsou sloučeniny vzorce I výhodně připraveny způsobem podle předkládaného vynálezu, je také možné použít první stupně Bjorsneho techniky popsané výše spolu s vhodnou volbou A' a A'' aminů, a potom následuje nezbytná post-modifikace X a Y popsaných výše a doložených příklady v následujícím příkladu 2.

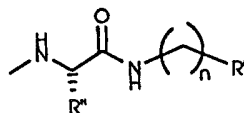
Příprava sloučenin vzorce I, ve kterých je X vodík, může být výhodně provedena deoxygenací, jak je uvedena například v příkladech 2 a 26. Výhodné stereochemické uspořádání je 2R,3R,4R,5R forma.

Cyklické uhlovodíkové skupiny pro R' jako -DP a/nebo Z'/Z'' a/nebo jejich volitelné substituenty mohou být nasycené, nenasycené nebo aromatické a obsahují monocyklické kruhy jako je fenyl, cyklohexynyl, cyklopentenyl, cyklohexanyl, cyklopentanyl, nebo bicyklické kruhy jako je indanyl, naftyl a podobně.

Heterocyklické skupiny pro R' jako -DP a/nebo Z'/Z'' a/nebo jejich volitelné substituenty mohou být nasycené, nenasycené nebo aromatické a mají 1 až 4 heteroatomů a patří mezi ně monocyklické kruhy jako je furyl, thienyl, pyran, pyrrol, pyrrolin, pyrrolidin, pyrazol, pyrazolin, pyrazolidin, imidazol, imidazolin, imidazolidin, pyridin, piperidin, pyrazin, piperazin, pyrimidin, pyridazin, oxazol, oxazolidin, isoxazolidin, isoxazol, isoxazolidin, morfolin, thiazol, thiazolidin, isothiazol, isothiazolidin, a podobně nebo bicyklické kruhy, zejména výše uvedené kruhy

fúzované na fenylový kruh jako je indolyl, chinoliny, isochinoliny, benzimidazolyl, benzothiazolyl, benzoxazolyl, benzothienyl atd. Uhlovodíkové nebo heterocyklické kruhy mohou být navázány prostřednictvím uhlíku nebo prostřednictvím heteroatomu, obvykle atomu dusíku, jako je N-piperidyl, N-morfolinyl atd.

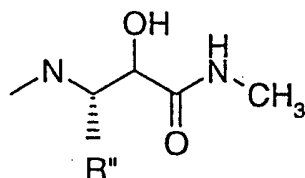
Mezi výhodná provedení vzorce II pro skupiny A'/A'' ve sloučeninách podle předkládaného vynálezu patří skupiny vzorce IIa nebo IIe:



IIa

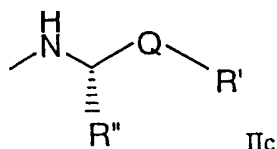
kde n je 1 nebo 2 a R' je alkyloxy, výhodně methyloxy, nebo ty, kde n je 0 a R' je methyl.

Jinými výhodnými skupinami vzorce II jsou skupiny vzorce IIb:



IIb

Alternativně jsou skupiny A'/A'' sloučenin podle předkládaného vynálezu skupiny vzorce IIc:

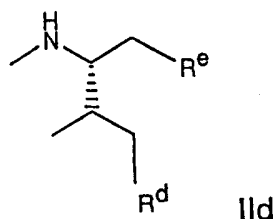


IIc

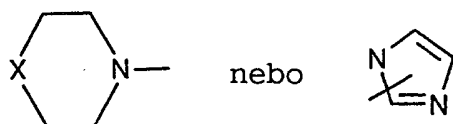
kde Q je vazba, methylen nebo -C(OH)- a R' je -OR^a, -N(R^a)₂, -NR^aOR^a, kde R^a je H nebo C₁-C₃alkyl nebo cyklický uhlovodík nebo

heterocyklus vybraný ze skupiny zahrnující N-piperidin, N-morfolin, N-piperazin, pyrrolyl, imidazolyl, pyrazolyl, pyridyl, pyrimidyl, pyrazinyl atd.

Výhodnou podskupinou sloučenin vzorce IIc jsou sloučeniny vzorce IIId:



kde R^d je vodík nebo methyl (to znamená valylový nebo isoleucylový vedlejší řetězec) a R^e je



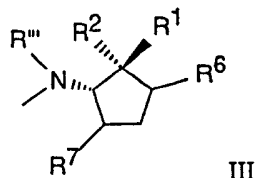
kde X je methylen, O, S, S=O, S(=O)₂ nebo NH nebo R^e je N(CH₃)₂, -NHOH, -NHOMe, -NHOEt, -NMeOH, -NMeOMe atd.

V každém ze vzorců IIa, IIb a IIc je R'' vodík, methyl, ethyl, isopropyl, cykloalkyl jako je cyklopropyl, cyklobutyl nebo cyklohexyl, cykloalkenyl, benzyl, karboxacetamid nebo 4-imidazolylmethyl, z nichž každý může být substituovaný způsobem popsáným výše. Výhodné skupiny R'' zahrnují vedlejší řetězce vyskytující se v přirozených aminokyselinách, zejména v leucinu, asparaginu, histidinu nebo prolinu. Nejvýhodnějšími skupinami R'' pro vzorce IIa, IIb, IIc a IIId jsou vedlejší řetězec isoleucylu a zejména valylu.

R' se liší podle charakteru Q a/nebo M, pokud jsou přítomny, a může být například vybrán ze skupiny zahrnující vodík, methyl, ethyl, isopropyl, R^e , jak je definován výše, valinol, heterocyklus jako je například pyridyl, thiazol, oxazol,

imidazol, N-piperidin, N-morfolin, N-piperazin, pyrrolyl, imidazolylyl, pyrazolylyl, pyrimidyl, pyrazinyl, kdy kterákoliv R' skupina může být substituována způsobem definovaným pro Z'/Z'' uvedeným dále.

Dalšími výhodnými skupinami A'/A'' jsou skupiny vzorce II, kde R''' , Q , M a R' dohromady tvoří volitelně substituovaný 5 nebo 6 členný uhlovodíkový kruh nebo heterocyklus. Výhodnými skupinami podle této definice jsou skupiny vzorce III:



kde

R''' je stejný, jak je definován výše,

R^1 je H, NR^4R^4 , $C(=O)R^3$, CR^3R^4 nebo monocyklický, volitelně substituovaný uhlovodíkový kruh nebo heterocyklus,

R^2 je OH nebo je dohromady s $R^1 = O$, nebo pokud je $R^1 = NR^4R^4$, pak může R^2 být H,

R^3 je H, halogen, C_1 - C_3 alkyl, OR^5 , NR^4R^4 ,

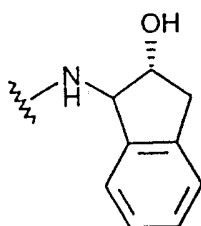
R^4 je H, C_1 - C_3 alkyl,

R^5 je H nebo farmaceuticky přijatelný ester,

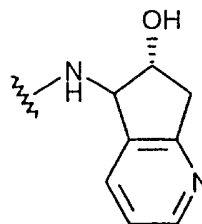
R^6 je OH, NH_2 , karbamoyl nebo karboxylová skupina,

R^7 je vodík, C_1 - C_4 alkyl s přímým nebo s rozvětveným řetězcem, nebo tvoří spolu se sousedními atomy uhlíku fúzovaný fenylový nebo heteroaromatický kruh.

Výhodné skupiny vzorce III jsou aminoindanol a 1-amino-azaindan-2-ol, to znamená skupiny vzorce:



nebo



Mezi běžné skupiny vyplňující P-2/P-2' proteasy pro A'/A'' patří ty, které obsahují sloučeniny saquinavir (Roche) a ritonavir (Abbott). Dalšími příklady běžných skupin vyplňujících P-2/P-2' proteasy patří ty, které jsou obsaženy ve VE 478 (Vertex), AG1343 (Agouron, nyní známý jako nelfinavir) a indinaviru (Merck), jak jsou uvedeny výše.

Volitelné substituenty pro cyklickou uhlovodíkovou nebo heterocyklickou skupinu Z'/Z'' nebo A'/A'' zahrnují jeden až tři substituenty jako je halogen, amino, merkpto, oxo, nitro, $\text{NHC}_1\text{-C}_6\text{alkyl}$, $\text{N}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{alkyl})_2$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{alkyl}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{alkenyl}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{alkynyl}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{alkanoyl}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{alkoxy}$, $\text{thioC}_1\text{-C}_6\text{alkyl}$, $\text{thioC}_1\text{-C}_6\text{alkoxy}$, hydroxy, $\text{hydroxyC}_1\text{-C}_6\text{alkyl}$, $\text{halogenC}_1\text{-C}_6\text{alkyl}$, $\text{aminoC}_1\text{-C}_6\text{alkyl}$, $\text{C}_1\text{-C}_6\text{alkyl}$, kyan, karboxyl, karbalkoxy, karboxamid, karbamoyl, sulfonamid, benzyloxy, morfolyl- $\text{C}_1\text{-C}_6\text{alkalkyloxy}$, monocyklický uhlovodík nebo heterocyklus, jak jsou definovány výše, cyklická uhlovodíková nebo heterocyklická skupina oddělená alkylem, jako je $\text{C}_1\text{-C}_3\text{alkylaryl}$ atd.

Výhodné definice pro Z' a Z'' jsou benzyl, nesubstituovaný nebo substituovaný 1, 2 nebo 3 substituenty, zejména jedním substituentem vybraným ze skupiny zahrnující fluor, chlor, hydroxy, amino, $\text{-NH}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{alkyl})$, $\text{-N}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{alkyl})_2$, $\text{NPh}(\text{C}_1\text{-C}_6\text{alkyl})$, -NHPh , methoxy-, kyan, hydroxymethyl, aminomethyl, alkylsulfonyl, karbamoyl, morfolinethoxy, benzyloxy, benzylamid atd. Jiné možnosti, kterých je v této oblasti mnoho, jsou uvedeny v příkladech. Mělo by být jasné, že substituent na Z' a/nebo Z'' může obsahovat kruhovou strukturu (kde kruh může být sám substituovaný způsobem, který je zde definován), jako je fenyl nebo 5 nebo 6 členný heterocyklus obsahující jeden nebo dva heteroatomy, jako je například thiofen, pyridin atd. Příprava použitelných heterocyklických substituentů pro Z' a Z'' jako

benzylu je popsána v Tetrahedron Letters 1997, 6359 - 6367 a v J. Org. Chem. 62 (1997) 1264 a 6066, a patří sem N-morfolin, N-piperidin, N-piperazin, N'-methyl-N-piperazin, N-pyrrolidon, N-pyrrolidin a podobně.

Takové substituenty mohou být v meta-pozici, ale hlavně v orto- nebo para- pozicích Z'/Z'', kdy malé skupiny jako je fluor jsou přednostně v orto- a meta-pozici a různé větší skupiny jsou v para-pozici, jako například (volitelně substituované) cyklické substituenty, včetně N-navázaných kruhů uvedených v předešlém odstavci. Celé Z' a Z'' skupiny nebo jejich příslušné cyklické uhlovodíkové nebo heterocyklické skupiny mohou být odlišné, ale pro snazší syntézu je výhodné, aby byly shodné.

Vhodné farmaceuticky přijatelné soli, jak pro A'/A'' jako volné kyseliny, tak pro jiné skupiny s nábojem ve sloučeninách vzorce I zahrnují soli organických karboxylových kyselin jako je kyselina octová, mléčná, glukonová, citronová, vinná, maleinová, jablečná, pantothenová, isethionová, šťavelová, laktobionová a jantarová, soli organických sulfonových kyselin jako je kyselina methansulfonová, ethansulfonová, benzensulfonová, p-chlorbensensulfonová a p-toluensulfonová a soli anorganických kyselin jako je kyselina chlorovodíková, jodovodíková, sírová, fosforečná a sulfamová.

Proléčiva podle předkládaného vynálezu jsou deriváty, které uvolňují sloučeninu vzorce I in vivo, obvykle hydrolýzou nebo jinou metabolickou interakcí v tenkém střevu, játrech nebo plasmě. Typickými proléčivy jsou estery tvořené na volnýchhydroxylových skupinách sloučenin. Mezi výhodné farmaceuticky přijatelné estery patří estery C₁-C₂₂ mastných kyselin, ve kterých je mastná kyselina nenasycená, mononenasycená nebo vícenenasycená. Mezi estery nasycených mastných kyselin

patří ty, které mají krátký řetězec, jako je acetyl nebo butyryl, nebo ty, které mají dlouhý řetězec, jako je stearoyl. Estery nenasycených mastných kyselin jsou výhodně v ω -9 serii, jako jsou estery kyseliny palmitové nebo linolenové. Mezi další estery patří C_1 - C_6 alkylaryl estery jako je benzyl nebo methylpyridyl nebo estery kyseliny fosforečné, jako je monofosforečnan. Mezi alternativní estery patří karbonátové, karbamátové nebo sulfonové estery odpovídajících mastných kyselin nebo alkylarylů.

Výhodnými sloučeninami vzorce I jsou:

- N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl] -
- (2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;
- N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl] -
- (2R,3S,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3-hydroxyhexandiamid;
- N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl] -
- (2R,3R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3-hydroxyhexandiamid;
- N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)butyl] -
- (2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;
- N1,N6-di[(1S)-1-(methylkarbamoyl)-2-fenylethyl] -
- (2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;
- N1,N6-di[(1S)-1-(methylkarbamoyl)-2-(4-hydroxyfenyl)ethyl] -
- (2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;
- N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl] - (2R,3R,4R,5R) -
- 2,5-di(4-fluorbenzyl)oxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;
- N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(cyklopropylkarbamoyl)propyl] -
- (2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;
- N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl] - (2R,3R,4R,5R) -
- 2,5-di[(2-methylbenzyl)oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid;
- N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl] -
- (2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1-[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-N6-[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(2-fluorbenzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(4-fluorbenzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-(2R,3R,4R,5R)-2-(benzyloxy)-5-(4-methylbenzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[(4-fenylbenzyl)oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[(4-(3-thienyl)benzyl)oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S)-1-fenyl-1-(methylkarbamoyl)methyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[4-(3-fluorbenzyl)oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(3-fluorbenzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[4-(2-fluorbenzyl)oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[4-(2,4-difluorbenzyl)oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(2,4-difluorbenzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[4-(2-pyridyl)benzyloxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[4-(2-pyridyl)benzyloxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[(4-(3-nitrofenyl)benzyl)oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid;

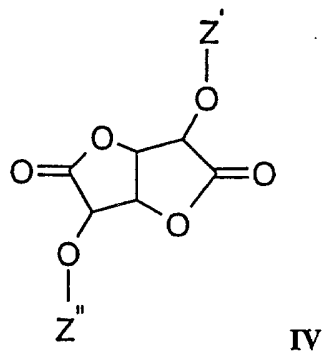
N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-
-2,5-di[4-(2-thienyl)benzyloxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid;

N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-
-(2R,3R,5R)-2,5-di(2,5-dibenzyloxy)-3-hydroxyhexandiamid;

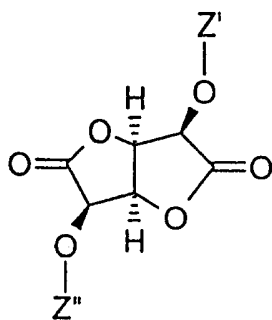
N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-N6-(2-
-chlor-6-fluorbenzyl)-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(2-fluorbenzyloxy)-3,4-
-dihydroxyhexandiamid;

a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

O-alkylované dilaktonové meziprodukty jsou také novými
sloučeninami a proto další aspekt vynálezu obsahuje sloučeniny
vzorce IV:



kde jsou Z' a Z'' stejné, jak je definováno výše. Výhodně má
sloučenina vzorce IV následující stereochemické uspořádání:



Výhodnými sloučeninami vzorce IV jsou ty, kde Z' a Z'' jsou
benzyl, 2-fluorbenzyl, 2-methylbenzyl, 2,4-difluorbenzyl,
4-fluorbenzyl, 4-brombenzyl, 4-fenylbenzyl, 4-thiofenylbenzyl,
4-(4'-nitrofenyl)benzyl, 4-pyridyl)benzyl nebo benzyl

parasubstituovaný primárním, sekundárním nebo terciálním aminem nebo N-vázaným heterocyklem jako je piperidin, morfolin atd. Alternativně k benzylu mohou být Z' a Z'' skupiny jiný arylC₁₋₂alkyl nebo heteroarylC₁₋₂alkyl, jako je pyridylmethylen, chinolylmethylen nebo naftylmethylen, jak je známo v oboru P1 proteas.

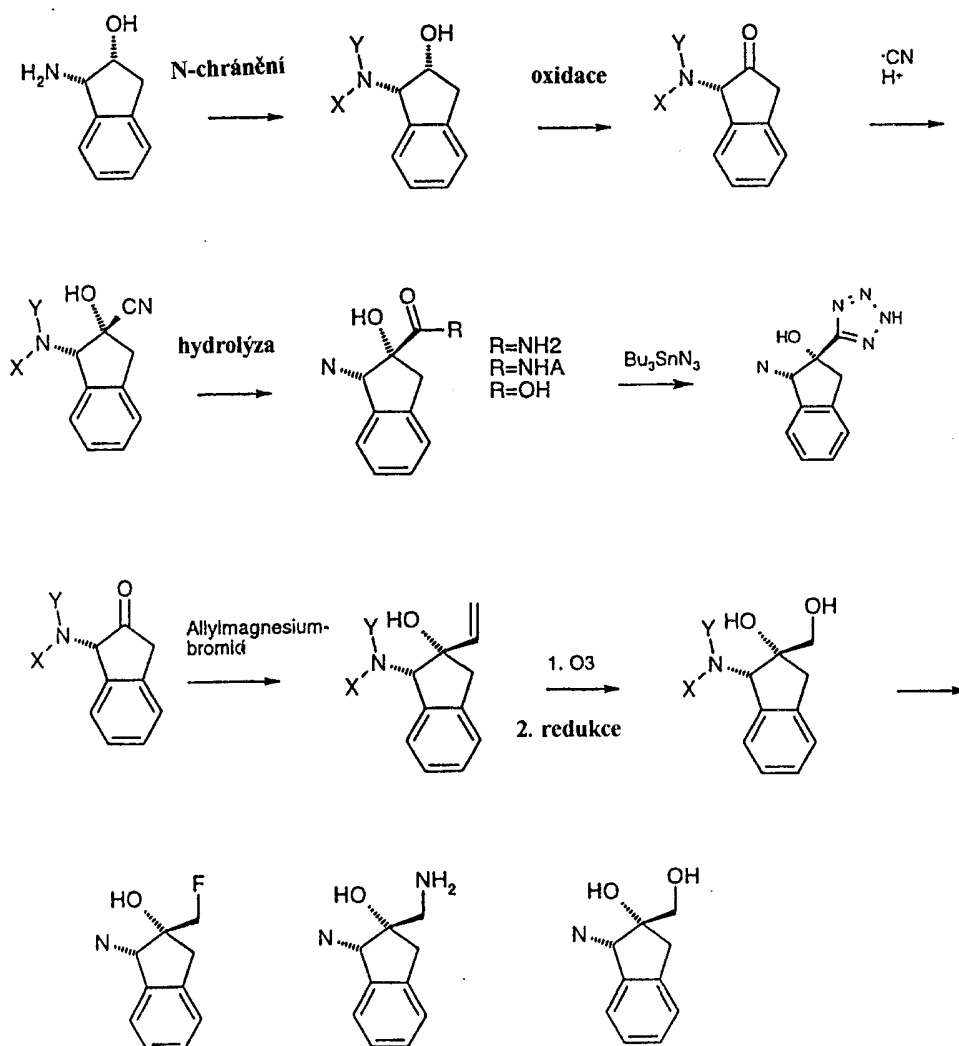
Stejně jako ve vzorci I se mohou ve vzorci IV skupiny Z' a Z'' lišit, ale je výhodné vzhledem k bimerickému charakteru cílového enzymu, aby byly stejné.

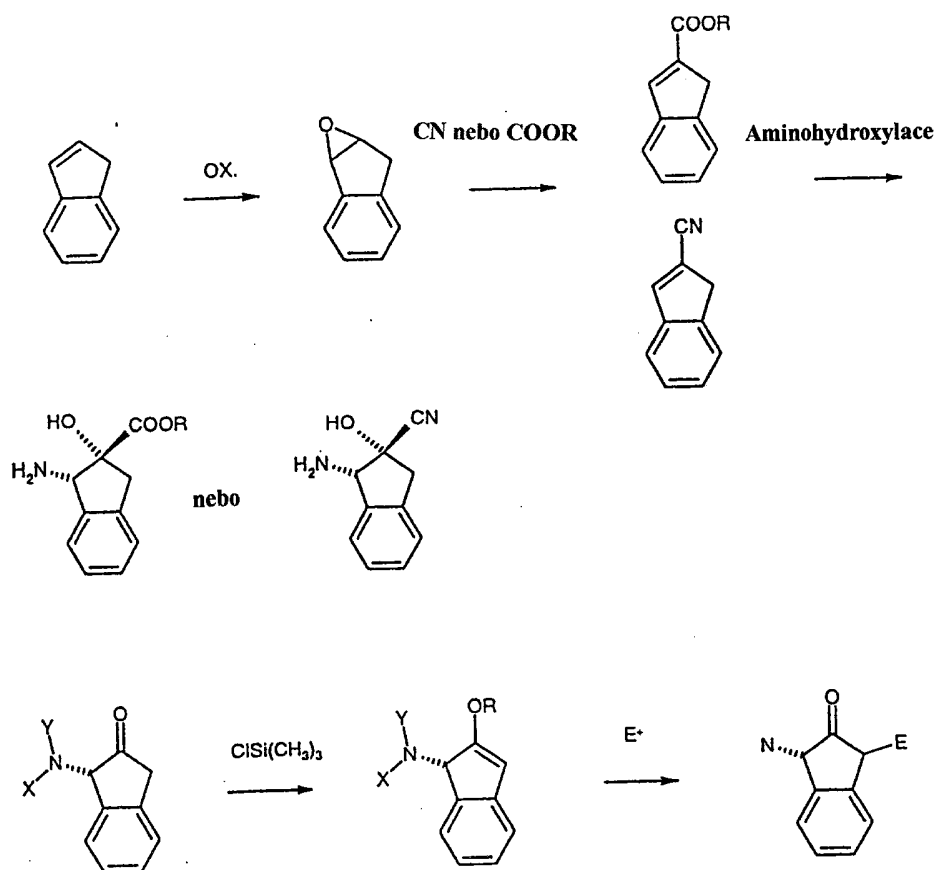
Mezi výhodné meziprodukty vzorce IV tak patří:

2,5-di-O-benzyl-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(2-fluorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(2,4-difluorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-fluorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(2-chlorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-chlorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-thiofen-3'-yl-benzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-thiofen-2'-yl-benzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-(thiazol-4'-yl)-benzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-
 -dilakton;
 2,5-di-O-(4-thiazol-2'-yl-benzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-fenylbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-fenylbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-fenylbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-(4'-nitrofenylbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-(4'-kyanfenylbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-(4'-halogenfenylbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-
 -dilakton;
 2,5-di-O-(4-(4'-aminofenylbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;

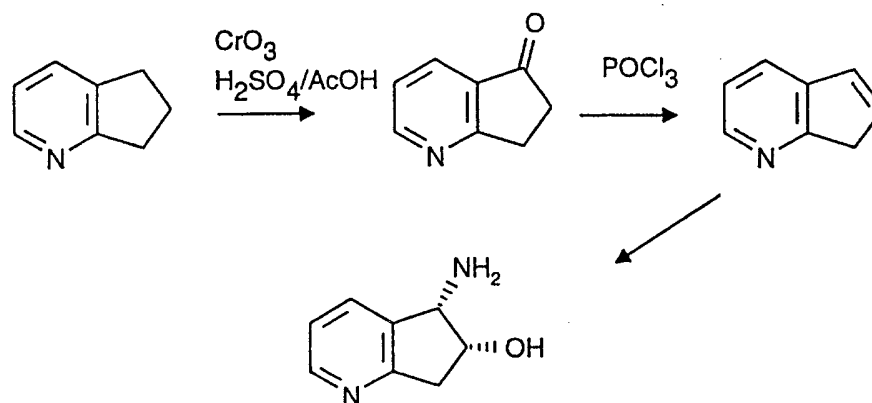
2,5-di-O-(4-(4'-karboxyfenylbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-(4'-fenylbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-pyrid-2-ylbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-pyrid-3-ylbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-N-morfolinylbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-N-piperidinylnbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-N-piperazinylnbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 2,5-di-O-(4-benzylbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton;
 a podobné sloučeniny.

Meziprodukty vzorce III mohou být připraveny podle následujícího reakčního schématu:





1-amino-azaindan-2-olové skupiny vyplňující P-2 mohou být připraveny analogicky ke způsobu uvedenému v J. Med. Chem. 1991, 1228 - 1230.



Při léčbě onemocnění vyvolaných retroviry jsou sloučeniny vzorce I výhodně podány v takovém množství, aby bylo dosaženo plasmatických koncentrací přibližně 10 až 1000 nM, lépe 100 až

500 nM. Toto odpovídá dávce v rozmezí od 0,001 do 100 mg/kg/den, lépe od 10 do 50 mg/kg/den, podle biologické dostupnosti prostředku.

V souladu s obvyklou praxí použití HIV inhibitorů je výhodné současné podání jednoho až tří dalších antivirových činidel, jako je AZT, ddI, ddC, D4T, ritonavir, saquinavir, indinavir, nelfinavir, DMP 266, delavirdin, nevirapin, trovirdin, PFA, H2G atd. Molární poměr takových současně podaných antivirových činidel bude obvykle vybrán tak, aby zohledňoval EC_{50} charakteristiky antivirových činidel. Výhodné budou často molární poměry 25:1 až 1:25 vzhledem ke sloučenině vzorce I.

Ačkoliv je možné, aby bylo aktivní činidlo podáno samostatně, je výhodné, aby bylo podáno jako součást farmaceutického prostředku. Takové prostředky budou obsahovat výše definované aktivní činidlo společně s jedním nebo více přijatelnými nosiči a volitelně s dalšími terapeutickými přísadami. Nosiče musí být přijatelné ve smyslu kompatibility s dalšími složkami prostředku a nesmí být škodlivé pro příjemce prostředku.

Mezi prostředky patří prostředky vhodné pro orální, rektální, nasální, lokální (včetně bukalního a sublinguálního), vaginální nebo parenterální (včetně subkutáního, intramuskulárního, intravenosního a intradermálního) podání. Prostředky jsou výhodně v jednotkové dávkové formě, například ve formě tablet a kapslí se zpomaleným uvolňováním, a mohou být připraveny jakoukoliv technikou známou ve farmacii.

Takové techniky obsahují krok smísení výše definovaných aktivních činidel s nosičem. Obvykle jsou prostředky připraveny rovnoměrným a těsným smísením aktivního činidla a kapalných nosičů nebo jemně dělených nosičů v pevné formě nebo obou, a

pokud je to nutné, tak krok tvarování prostředku.

Prostředky podle předkládaného vynálezu pro orální podání mohou být připraveny jako jednotlivé jednotky jako jsou kapsle, lékařské oplatky nebo tablety, kde každá jednotka obsahuje předem určené množství aktivního činidla; dále mohou být připraveny ve formě prášku nebo granulí; ve formě roztoku nebo suspenze aktivního činidla ve vodné kapalině nebo nevodné kapalině; nebo ve formě emulze olej ve vodě nebo voda v oleji a ve formě bolusu a podobně.

Pro prostředky pro orální podání (například tablety a kapsle) zahrnuje termín vhodný nosič vehikula jako jsou běžné přísady, například pojiva, jako je například sirup, arabská klovatina, želatina, sorbitol, tragant, polyvinylpyrrolidon (Povidon), methylcelulosa, ethylcelulosa, karboxymethylcelulosa sodná, hydroxypropylmethylcelulosa, sacharosa a škrob; plniva a nosiče, jako je například kukuřičný škrob, želatina, laktosa, sacharosa, mikrokrytalická celulóza, kaolin, manitol, fosforečnan vápenatý, chlorid sodný a kyselina alginová; a kluzná činidla jako je stearan hořečnatý a jiné stearany kovů, kyselina stearová, silikonová kapalina, talek, vosky, oleje a koloidní oxid křemičitý. Také mohou být použita chuťová korigens jako je pepermint, olej libavky položené, třešňová příchut' a podobně. Pro snadnou identifikaci dávkové formy může být žádoucí přidání barviva. Tablety mohou být také potaženy za použití dobře známých technik.

Tablety mohou být vyrobeny lisováním nebo litím do forem, volitelně s jednou nebo více pomocnými přísadami. Lisované tablety mohou být připraveny stlačením aktivního činidla v sypké formě jako je prášek nebo granule, volitelně ve směsi s pojivem, kluzným činidlem, inertním ředidlem, konzervačním činidlem,

povrchově aktivním činidlem nebo dispergačním činidlem, ve vhodném přístroji. Odlívané tablety mohou být připraveny odlitím směsi sloučeniny ve formě prášku zvlčeného inertním kapalným ředidlem ve vhodném přístroji. Tablety mohou být volitelně potaženy nebo rýhovány a mohou být připraveny tak, že umožňují pomalé nebo kontrolované uvolňování aktivního činidla.

Prostředky vhodné pro lokální podání zahrnují pastilky obsahující aktivní činidlo v ochucené bazi, obvykle v sacharose nebo arabské klovatině nebo tragantu; pastilky obsahující aktivní činidlo v inertní bazi jako je želatina a glycerin, nebo sacharosa a arabská klovatina; a ústní vody obsahující aktivní činidlo ve vhodném kapalném nosiči.

Prostředky vhodné pro lokální podání na kůži mohou být připraveny jako masti, krémy, gely a pasty obsahující aktivní činidlo a farmaceuticky aktivní nosič. Příkladem systému pro lokální podání je transdermální náplast obsahující aktivní činidlo.

Prostředky vhodné pro vaginální podání mohou být připraveny jako čípky nebo pesary s vhodnou bazí obsahující například kakaové máslo nebo salicylat. Jiné vaginální prostředky mohou být připraveny jako tampony, krémy, gely, pasty, pěny nebo spreje obsahující kromě aktivního činidla vhodné nosiče.

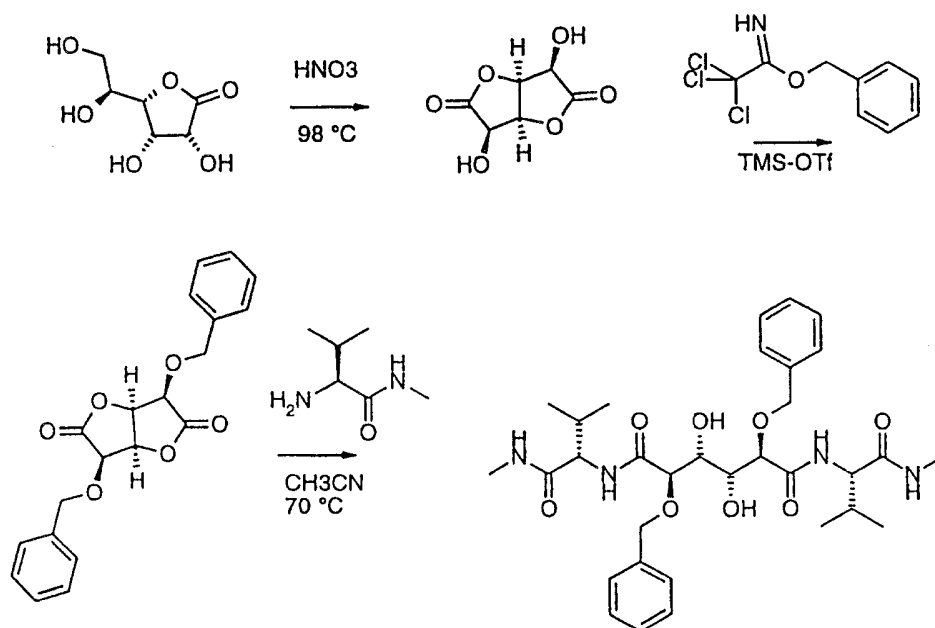
Prostředky vhodné pro nasální podání, kdy nosič je v pevné formě, zahrnují hrubý prášek s velikostí částic například v rozmezí od 20 do 500 mikronů, který je podán vdechnutím do nosu, t.j. rychlou inhalací ze zásobníku umístěného v těsné blízkosti nosu. Mezi vhodné prostředky pro nasální podání, ve kterých je nosičem kapalina, jako jsou například nosní spreje nebo nosní kapky, patří vodné nebo olejové roztoky aktivního činidla.

Mezi prostředky vhodné pro parenterální podání patří vodné a nevodné sterilní injekční roztoky, které mohou obsahovat antioxidační činidla, pufrы, bakteriostatická činidla a rozpuštěná činidla pro úpravu isotonicity prostředku s krví příjemce; a vodné a nevodné sterilní suspenze, které mohou obsahovat suspenzační činidla a zahušťovací činidla. Prostředky mohou být připraveny v jednodávkových nebo mnohodávkových zásobnících, například v uzavřených ampulích a lékovkách, a mohou být skladovány v lyofilizovaném stavu vyžadujícím pouze přidání sterilního kapalného nosiče, například vody pro injekce, bezprostředně před použitím. Improvizované injekční roztoky a suspenze mohou být připraveny ze sterilních prášků, granulí a tablet způsobem, který byl popsán dříve.

Příklady provedení vynálezu

Vynález bude dále popsán v následujících příkladech, které nejsou omezující.

Příklad 1: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl] - (2R,3R,4R,5R) - 2,5-di(benzyloxy) - 3,4-dihydroxyhexandiamid



Stručně, oxidací γ -laktonu kyseliny mannonové s kyselinou dusičnou se získá krystalický L-mannaro-1,4:6,3-dilakton, který se dibenzyluje za použití dibenzyltrichloracetimidatu a trimethylsilyltriflatu za zisku 2,5-di-O-benzyl-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu. Tento lakton může být otevřen adicí jakéhokoli primárního nebo častěji sekundárního aminu, v tomto případě N-methyl-L-valinu za zisku titulní sloučeniny s celkovým výtěžkem 10 - 30%.

Podrobněji je výše uvedené schema syntézy provedeno následujícím způsobem:

A. γ -lakton kyseliny L-mannonové (8,1 g) ve vodném (65%) HNO_3 (120 ml) se udržuje při 98 °C pod proudem dusíku po dobu 1 - 2 hodin. Po koncentrování na lepivou hmotu se přidá voda (50 ml) a roztok se koncentruje téměř do vysušení. Tento materiál se suší ve vakuu po dobu 16 hodin a potom se přidá ethanol (5 ml) a ether (100 ml) a materiál v pevném stavu se jemně disperguje sonikací a mechanickým mletím. Roztok se odstraní a pevný materiál se promyje ethanolem (10 ml). Zbylý pevný materiál se rekrystalizuje v ethanolu za zisku 4,3 g L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu.

^{13}C -NMR (DMSO- d_6): δ 69,2 (C2, C5), 75,9 (C3, C4), 174,3 (C1, C6).

B. Trimethylsilyltriflat nebo kyselina trifluormethylmethansulfonová (44 kapek z Pasteurovi pipety) se přidá do dobře promíseného roztoku L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu (696 mg) a benzyltrichloracetimidatu (3040 mg) v dioxanu (140 ml). Po 1,5 hodině se roztok filtruje přes vrstvu 1 cm oxidu křemičitého, 1 cm NaHCO_3 a 1 cm oxidu křemičitého, promyje se dioxanem (20 ml), koncentruje se do sucha a rekrystalizuje se z CHCl_3 za zisku 1,85 materiálu v pevném stavu. Z tohoto pevného

materiálu se za použití horkého etheru vytvoří kaše, která se filtruje. Zbývající pevný materiál (900 mg) se odebere jako 2,5-di-O-benzyl-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton.

^{13}C -NMR (DMSO- d_6): δ 72,3, 74,6, 75,1 (CH_2O , C2, C3, C4, C5), 128,2, 128,3, 128,7, 137,2 (Ar), 172 (C1, C6).

C. Roztok 2,5-di-O-benzyl-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu (50 mg) a N-methyl-L-valinu (110 mg) v acetonitrilu (0,5 mg) se zahřívá při 70 °C po dobu 16 hodin. Po ochlazení se materiál přečistí chromatografií na silikagelu (CHCl_3 -MeOH, 9:1) za zisku 30 mg.

Příklad 2: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3S,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3-hydroxyhexandiamid

A. Příprava dikyseliny (2R,3S,4S,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-O-isopropyliden-3,4-dihydroxyhexanové

Do roztoku 2,5-di-O-benzyl-3,4-O-isopropyliden-L-iditolu (1,84 g, 4,57 mmol) v CH_2Cl_2 (90 ml) se přidá TEMPO (36 mg, 0,23 mmol), bromid draselný (104 mg, 0,87 mmol), tetrabutylammoniumbromid (163 mg, 0,51 mmol) a nasycený vodný roztok hydrogenuhlitanu sodného (20 ml). Směs se ochladí na 0 °C a přidá se roztok chlornanu sodného (42 ml, 1,2 M, 50,4 mmol) během 1,5 hodiny. Po mísení po dobu 30 minut při 0 °C se organická vrstva separuje a promyje se NaHCO_3 (vodným roztokem) (3 x 40 ml) a vodou (3 x 40 ml). Do kombinovaných vodných fází se přidá EtOH (50 ml) a roztok se mísí po dobu 30 minut. Potom se přidá EtOAc (100 ml) a pH roztoku se upraví z 9 na 2 přidáním H^+ -Dowex. Dowex se odfiltruje, fáze se separují a vodná fáze se extrahuje EtOAc (4 x 100 ml), suší se a koncentruje se za redukováného tlaku bez zahřívání za zisku titulní sloučeniny (1,40 g, 3,25 mmol, 71%).

^{13}C -NMR (CD_3OD -aceton- d_6 2:1): δ 27,1 (CH_3 isoprop), 73,7, 77,4, 78,0, 111,0 (isoprop), 128,8, 129,1, 129,3 a 138,6 (aromatický C), 172,7 (COOH).

B. Příprava N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3S,4S,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-O-isopropyliden-3,4-dihydroxyhexandiamidu

Výsledný surový materiál ze stupně A (1,40 g, 3,25 mmol) se rozpustí v suchém CH_3CN (21 ml) pod atmosférou dusíku a přidá se pyridin (1,58 ml, 19,5 mmol) a di-N-sukcinylimidylkarbonat (DSC) (3,30 g, 12,9 mmol). Směs se mísí při teplotě okolí po dobu 15 hodin, ředí se EtOAc (50 ml), promyje se vodou (3 x 20 ml) a solankou (1 x 30 ml), suší se, koncentruje se a přečistí se chromatografií na silikagelové koloně.

Aktivovaná dikyselina ze stupně uvedeného výše (974 mg, 1,64 mmol) se rozpustí ve směsi 2:1 CH_2Cl_2 :THF (7 ml) pod atmosférou dusíku a přidá se L-valin-methylamid (560 mg, 4,30 mmol). Reakční směs se mísí při teplotě okolí po dobu 18 hodin, ředí se CH_2Cl_2 (50 ml) a přečistí se chromatografií na silikagelové koloně (CHCH_3 -MeOH 20:1) za zisku 844 mg, 1,29 mmol, 79%.

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 16,7 a 19,7 (valCH_3), 26,2 (valCH_3NH), 27,2 (CH_3 isoprop), 28,9 (val CHMe_2), 57,8 (val CHNH), 73,7, 77,1, 77,0, 110,0 isoprop), 128,2, 128,4, 128,7, 129,0 a 135,7 (aromatický C), 169,8 a 170,9 (CONH a val CO).

C. Příprava N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3S,4S,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamidu

Výsledný materiál ze stupně B (775 mg, 1,18 mmol) se rozpustí ve směsi CH_3CN - H_2O (309 ml), přidá se 2,3-dichlor-5,6-

dikyanbenzochinon (DDQ) (30 mg, 0,13 mmol) a teplota se udržuje na 75 °C. Po 2 dnech a po 4 dnech se přidají další díly (2 x 60 mg) DDQ a po 6 dnech se reakční směs koncentruje. Zbytek se rozpustí v EtOAc (50 ml), promyje se vodou (2 x 30 ml), filtruje se přes vrstvu živočišného uhlí, celitu a Na₂SO₄ a přečistí se chromatografií na silikagelové koloně (CHCH₃-MeOH 20:1) za zisku titulní sloučeniny (501 mg, 0,81 mmol, 69%). $[\alpha]_D^{25} - 22,9^\circ$ (c 1,4 g/100 ml CHCl₃).

¹³C-NMR (CDCl₃) δ 16,7 a 19,7 (val CH₃), 26,2 (val CH₃NH), 28,6 (val CHNH), 57,7 (val CHNH), 69,6, 73,7, 77,6, 128,2, 128,9 a 135,9 (aromatický C), 170,8 a 172,3 (CONH a val CO).
Anal. vypočítána pro C₃₂H₄₆N₄O₈: C 62,52; H 7,54; N 9,11.
Zjištěno: C 62,41; H 7,39; N 8,98.

D. Příprava N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3S,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3-hydroxyhexandiamidu

Výsledný materiál ze stupně C (58 mg, 94 μ mol) se rozpustí v suchém THF (5 ml) v atmosféře argonu a zahřeje se na 45 °C před tím, než se přidá N,N-thiokarbonyldiimidazol (40 mg, 0,22 mmol). Reakční směs se zahřívá při teplotě zpětného toku po dobu 30 hodin, koncentruje se a přečistí se chromatografií na silikagelu (chloroform-methanol 20:1) za zisku thiokarbonatu (60 mg, 91 μ mol, 97%).

¹³C-NMR (CDCl₃) δ 17,2 a 19,5 (val CH₃), 26,4 (val CH₃NH), 29,7 (val CHMe₂), 58,7 (val CHNH), 75,6, 78,0, 83,4, 128,3, 128,9 a 135,2 (aromatický C), 167,7 a 170,6 (CONH a val CO), 189,6 (CS).

Suspenze thiokarbonatu (60 mg, 91 μ mol), tributylcínhydridu (50 μ l, 0,19 mmol) a α,α' -azaisobutyronitrilu (15 mg, 91 μ mol) v

suchém toluenu (4 ml) se po kapkách přidá do refluxujícího toluenu (2 ml) během 20 minut. Směs se zahřívá při teplotě zpětného toku po dobu 45 minut, ochladí se a koncentruje se. Zbytek se rozpustí v acetonitrilu (10 ml) a promyje se hexanem (2 x 5 ml). Acetonitrilová vrstva se koncentruje a přečistí se chromatografií na silikagelu (toluen-aceton 1:1) za zisku titulní sloučeniny (18 mg, 30 μ mol, 33%). $[\alpha]_D^{25} +6,1^\circ$ (c 0,7 g/100 ml CHCl_3).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 17,3, 17,4 a 19,6 (val CH_3), 26,3 (val CH_3NH), 29,5 (val CHMe_2), 34,5, 58,0 a 58,1 (val CHNH), 68,5, 72,7, 73,7, 76,8, 81,1, 127,9, 128,3, 128,5, 128,6, 128,8, 136,2 a 136,5 (aromatický C), 171,1, 171,4, 171,6 a 172,5 (NHCO a val CO).

Příklad 3: Příprava N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)-propyl]-(2R,3R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3-hydroxyhexandiamidu

Sloučenina z příkladu 1 (144 mg, 0,23 mmol) se rozpustí v suchém THF (8 ml) v atmosféře argonu a zahřeje se na 45°C před tím, než se přidá N,N-thiokarbonyldiimidazol (104 mg, 0,58 mmol). Reakční směs se zahřívá při teplotě zpětného toku po dobu 17 hodin, koncentruje se a přečistí se chromatografií na silikagelu (chloroform-methanol 20:1) za zisku thiokarbonatu (125 mg, 0,19 mmol, 83%).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 17,4 a 19,4 (val CH_3), 26,3 (val CH_3NH), 30,2 (val CHMe_2), 58,4 (val CHNH), 75,8, 77,7, 82,4, 128,9, 129,1 a 135,3 (aromatický C), 167,0 a 170,6 (CONH a val CO), 190,7 (CS).

Thiokarbonat (125 mg, 0,19 mmol) se suspenduje v suchém toluenu (4 ml) v atmosféře argonu a zahřívá se při teplotě

zpětného toku a během 10 minut se přidá roztok tributylinhydridu (153 μ l, 0,57 mmol) a α,α' -azaisobutyronitrilu (47 mg, 0,28 mmol) v suchém toluenu (3 ml). Směs se zahřívá při teplotě zpětného toku po dobu 20 hodin, ochladí se a koncentruje se. Zbytek se rozpustí v acetonitrilu (15 ml) a promyje se hexanem (2 x 10 ml). Acetonitrilová vrstva se koncentruje a přečistí se chromatografií na silikagelu (CHCl_3 -MeOH 20:1) za zisku titulní sloučeniny (40 mg, 67 μ mol, 35%). $[\alpha]_D^{25} +1,8^\circ$ (c 0,8 g/100 ml CHCl_3).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 17,5, 18,0, 19,4 a 19,6 (val CH_3), 26,1 a 26,3 (val CH_3NH), 29,5 a 30,6 (val CHMe_2), 35,5, 58,2 a 58,3 (val CHNH), 70,2, 73,0, 73,3, 77,2, 83,0, 127,9, 128,0, 128,4, 128,6, 136,7 (aromatický C), 170,5, 171,3, 121,4, 173,1 (CONH a val CO).
Anal. vypočítána pro $\text{C}_{32}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_7$: C 64,19; H 7,74; N 9,36.
Zjištěno: C 64,00; H 7,50; N 9,15.

Příklad 4: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)butyl]-
(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

Roztok 2,5-di-O-benzyl-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu z příkladu 1 (50 mg) a N-methyl-L-isoleucinu (120 mg) v acetonitrilu se zahřívá při 70 $^\circ\text{C}$ po dobu 16 hodin. Po ochlazení se materiál přečistí chromatografií na silikagelu (CHCl_3 -MeOH 19:1) za zisku čisté sloučeniny.

^{13}C -NMR (CD_3OD) δ 11,7, 16,1, 25,1, 26,3, 37,2, 58,5, 72,3, 73,4, 80,8, 128,7, 129,1, 137,7, 172,7, 173,1.

Příklad 5: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)-2-fenylethyl]-
(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

2,5-di-O-benzyl-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu z příkladu 1 (30

mg, 0,085 mmol) se rozpustí v dichlormethanu (3 ml) a do míseného roztoku se přidá fenylalanin-N-methylamid (91 mg, 0,51 mmol). Roztok se zahřívá při teplotě zpětného toku (40 °C) po dobu 18 hodin a potom se koncentruje. Surový materiál se přečistí chromatografií na silikagelu (chloroform-methanol 20:1).

^{13}C -NMR (CD_3OD) δ 72,8, 73,7, 81,9, 127,7, 127,8, 128,4, 128,7, 128,8, 129,0, 135,0, 136,4, 170,0, 172,1.

Příklad 6: N1,N6-di[(1S)-1-(methylkarbamoyl)-2-(4-hydroxyfenyl)-ethyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

2,5-di-O-benzyl-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu z příkladu 1 (40 mg, 0,113 mmol) se rozpustí v dichlormethanu (4 ml) a do míseného roztoku se přidá tyrosin-N-methylamid (132,2 mg, 0,667 mmol). Roztok se zahřívá při teplotě zpětného toku (40 °C) po dobu 18 hodin a potom se koncentruje. Surový materiál se přečistí chromatografií na silikagelu (chloroform-methanol 20:1).

^{13}C -NMR (CD_3OD) δ 26,1, 37,1, 55,3, 72,9, 72,9, 81,1, 116,1, 128,8, 129,2, 130,9, 138,3, 157,2, 172,9, 173,6.

Příklad 7: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(4-fluorbenzyl)oxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

A. Do chladného (-10 °C) roztoku 4-fluorbenzylakoholu (0,85 ml, δ 1,168 g/ml, 7,93 mmol, 1 ekv.) v CH_2Cl_2 (10 ml) a KOH (50% vodný roztok, 10 ml) se přidá tetrabutylammoniumhydrogensulphat (0,015 g). Po mísení po dobu 5 minut se přidá trichloracetonitril (0,953 ml, c 1,44 g/ml, 9,51 mmol, 1,2 ekv.) a reakční směs se udržuje při teplotě -5 °C po dobu 30 minut před zahřátím na teplotu okolí. Organická fáze se separuje a vodná fáze se

extrahuje CH_2Cl_2 (2 x 10 ml). Kombinované extrakty se suší přes MgSO_4 a koncentrují se na jednu třetinu. Po filtraci přes celit se rozpouštědlo odstraní ve vakuu za zisku dilaktonu jak hnědo-žlutého oleje (1,82 g, 85%).

$^1\text{H-NMR}$ (CHCl_3 , 250 MHz) δ 5,30 (s, 2H), 7,00-7,15 (m, 2H), 7,40 (m, 2H), 8,40 (b, 1H).

B. Příprava 2,5-di-O-(4-fluorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu

Do roztoku dilaktonu ze stupně A (0,200 g, 1,12 mmol) v dioxanu (40 ml) se přidá 4-fluorbenzyltrichloracetimidat (0,72 g, c 1,353 g/ml, 3,37 mmol, 3,0 ekv.). Reakční nádoba se umístí pod atmosféru N_2 (g) a míší se pod dobu 10 minut. Po částech se přidá TMS-OTf (0,08 ml, c 1,230 g/ml, 0,45 mmol, 0,4 ekv.). Po 4 hodinách se směs filtruje přes vrstvu $\text{SiO}_2\text{-NaHCO}_3\text{-SiO}_2$, rekrystalizuje se z CHCl_3 , za použití Et_2O se zpracuje na kaši (2 ml) a filtruje se za zisku (0,315 g, 71,8%).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 250 MHz) δ 4,75, 4,80 (d, $J = 7,1$ Hz, 4H), 4,90 (d, $J = 3,7$, 2H), 5,3 (d, $J = 5,8$ Hz, 2H), 7,15 - 7,25 (m, 4H), 7,40 - 7,55 (m, 4H). $^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6 , 62,9 MHz) δ 71,4, 74,4, 74,7, 115,1, 115,5, 130,2, 130,3, 133,3, 160,0, 164,0, 171,8.

C. Do benzylovaného dilaktonu ze stupně B (0,050 g, 0,128 mmol, 1,0 ekv.) v CH_3CN (pa, 2 ml) se přidá L-valin-N-methylamid (0,050 g, 3,84 mmol, 3,0 ekv.). Reakční směs se zahřívá a míší při 70 °C po dobu 24 hodin. Po koncentrování se získá hnědý olej (surový, 0,107 g). Po přečištění rychlou chromatografií na silikagelu (9:1 $\text{CHCl}_3\text{:MeOH}$) (12:1 $\text{CHCl}_3\text{:MeOH} + 1\%$ HOAc) a (12:1 $\text{CHCl}_3\text{:MeOH}$) se získá 0,006 g titulní sloučeniny (7,2%).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 250 MHz) δ 0,90 - 0,95 (m, 6H), 1,90 - 2,05 (m,

2H), 2,55 (m, 6H), 3,80 - 3,90 (m, 2H), 3,95 - 4,05 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 4,10 - 4,20 (m, 2H), 4,40 - 4,45 (m, 4H), 4,75 - 4,65 (d, $J = 7,47$, 2H), 7,10 - 7,20 (m, 4H), 7,25 - 7,40 (m, 4H), 7,75 - 7,80 (d, $J = 8,94$ Hz, 2H), 7,85 - 7,90 (d, $J = 4,64$ Hz, 2H). ^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 62,9 MHz) δ 18,0, 19,1, 25,3, 57,5, 69,6, 70,26, 79,2, 93,0, 114,7, 115,0, 129,5, 129,6, 134,1, 159,5, 163,4, 170,3, 171,0, 115,1, 115,5, 130,2, 130,3, 133,3, 160,0, 164,0, 171,8.

Příklad 8: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(cyklopropylkarbamoyl)-propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

Podobným způsobem jako v příkladu 2B, ale za použití L-valin-N-cyklopropylamidu (117 mg, 0,27 mmol) se získá odpovídající meziprodukt jako špinavě bílá pevná látka (147 mg, 0,25 mmol, 93%).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 6,1, 6,7 (CH_2 cyklopropyl), 17,4, 19,4 (val CH_3), 22,6 (val CHMe_2), 27,1 (CH_3 isoprop), 30,1 (CHNH-cyklopropyl), 57,8 (NHCH), 74,2 (C3, C4), 76,6 (C2, C5), 78,9 (OCH_2Ph), 110,3 (isoprop), 128,4, 128,7, 128,9, 136,5 (arom. C), 169,3 (val C=O), 172,1 (NHC=O).

Tento meziprodukt (86 mg, 0,16 mmol) se zpracuje postupem podle příkladu 2C za zisku titulní sloučeniny (52 mg, 0,010 mmol, 65%) jako špinavě bílého pevného materiálu. $[\alpha]_D^{20} - 17^\circ$ (c. 0,86 CHCl_3).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 5,8, 6,3 (CH_2 -cyklopropyl), 16,8, 19,5 (val CH_3), 22,8 (val CHMe_2), 28,9 (CHNH-cyklopropyl), 58,0 (NHCH), 73,4 (C3, C4), 73,4 (C2, C5), 82,2 (OCH_2Ph), 128,6, 128,8, 129,3, 136,2 (arom. C), 171,1 (val C=O), 172,0 (NHC=O).

Příklad 9: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[(2-methylbenzyl)oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid

A. 1,6-di-(dimethyl-terc-butylsilyl)-3,4-O-isopropyl-L-mannit (1,834 g, 4,07 mmol) se rozpustí v suchém tetrahydrofuranu (25 ml). Roztok se potom ochladí na 0 °C a přidá se hydroxid sodný (60% vodný roztok, 0,556 g, 13,44 mmol, 3,3 ekv.). Chladicí lázeň se odstraní a reakční směs se mísí při pokojové teplotě po dobu 15 minut. Přidá se 2-methylbenzylbromid (120 ml, 8,96 mmol, 2,2 ekv.) a tetrabutylammoniumjodid (0,285 g, 0,77 mmol, 0,19 ekv.) a reakční směs se mísí při teplotě okolí přes noc. Roztok se potom ředí diethyletherem (200 ml) a promyje se třikrát vdou (200 ml). Organická fáze se suší a koncentruje. Materiál se přečistí rychlou chromatografií na silikagelu (toluen) za zisku disilyletheru (1,86 g, 70%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 250 MHz) δ 0,10 (s, 12H, 2 x $\text{CH}_3\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-Si}$), 0,90 (s, 12H, 2 x $(\text{CH}_3)_2\text{-Si}$), 1,30 (s, 6H, 2 x $\text{CH}_3\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-Si}$), 1,40 (s, 6H, 2x isoprop., CH_3), 2,30 (s, 6H, 2x Ph-CH_3), 3,63 - 3,78 (m, 4H, H-1, H-6), 3,86 - 3,94 (dd, 2H, H-2, H-5, $J = 7,47, 3,20$ Hz), 4,17 - 4,24 (dd, 2H, H-3, H-4, $J = 1,72, 1,29$ Hz), 4,50 - 4,82 (dd, 4H, 2x $\text{O-CH}_2\text{-Ph}$, $J = 52,55, 11,86$ Hz), 7,08 - 7,36 (m, 8H, 2x Ph).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 62,9 MHz): δ 5,47 ($(\text{CH}_3)_2\text{Si}$), 18,61 ($\text{CH}_3\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-Si}$), 25,90 (2x $\text{CH}_3\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{-Si}$), 27,25 (isoprop.C), 29,72 (2x Ph-CH_3), 63,70 (C-1, C-6), 71,38 (C-2, C-5), 78,29 (2x $\text{O-CH}_2\text{-Ph}$), 81,47 (C-3, C-4), 109,49 (isoprop. C.), 125,65, 127,42, 128,32, 129,31 (2x Ph).

B. Příprava 2,5-di-O-(2-methylbenzyl)-3,4-isopropyliden-L-mannitu

Disilylether ze stupně A (1,749 g, 2,65 mmol) se rozpustí

v suchém tetrahydrofuranu. Přidá se tetrabutylammoniumfluorid v THF (6,92 ml, 1,0 M, 2,6 ekv.). Roztok se mísí při teplotě okolí po dobu 2,5 hodin a koncentruje se. Materiál se přečistí rychlou chromatografií na silikagelu (toluen:ethylacetat 1:1) za zisku titulního diolu (0,99 g, 88%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 250 MHz) δ 1,40 (s, 6H, 2x isoprop., CH_3), 2,35 (s, 6H, 2x Ph-CH_3), 3,60 - 3,68 (m, 4H, H-1, H-6), 3,75 - 3,85 (m, 2H, H-2, H-5), 4,19 - 4,25 (dd, 2H, H-3, H-4, $J = 2,40, 1,35$ Hz), 4,52 - 4,71 (dd, 4H, $\text{Ph-CH}_2\text{-O}$, $J = 13,49, 11,58$ Hz), 7,10 - 7,25 (m, 8H, 2x Ph).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 62,9 MHz): δ 61,26 (C-2, C-5), 70,68 (C-1, C-6), 78,95 (2x $\text{O-CH}_2\text{-Ph}$), 80,94 (C-3, C-4), 125,92, 127,47, 128,69, 129,32 (2x Ph).

C. Příprava kyseliny 2,5-di-O-(2-methylbenzyl)-isopropyliden-L-mannonové

K diolu ze stupně B (0,126 g, 0,51 mmol) v dichlormethanu (3,6 ml) se přidá 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yloxyl, volný radikál (0,003 g, 0,02 mmol, 0,03 ekv.) a přidá se roztok bromidu draselného (0,006 g, 0,05 mmol, 0,09 ekv.) a tetramethylammoniumbromid (0,008 g, 0,03 mmol, 0,05 ekv.) a nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (2,20 ml). Tento roztok se ochladí na 0 °C a během 45 minut se přidá roztok chlornanu sodného (14%, 4,32 ml, 10,2 mmol, 20 ekv.), nasycený vodný roztok chloritanu sodného (2,30 ml) a nasycený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (1,20 ml). Po mísení po dobu další jedné hodiny se organická fáze promyje 3 x 15 ml H_2O a kombinované vodné fáze se okyselí 1M kyselinou chlorovodíkovou na pH 2. Tato okyselená vodná fáze se potom promyje třikrát ethylacetatem (15 ml), organická fáze se suší a koncentruje se za zisku titulní dikyseliny. Výsledná sloučenina může být použita

přímo v dalším stupni.

D. (i). Příprava N-(benzyloxykarbonyl)-N'-methyl-L-valinamidu

Cbz-valin (2,55 g, 10,17 mmol), methylamin hydrochlorid (0,824 g, 12,20 mmol, 1,2 ekv.) a 1-hydroxybenzotriazol (2,06 g, 15,25 mmol) se rozpustí v dichlormethanu (125 ml) a přidá se triethylamin (5,52 ml, 39,65 mmol, 3,9 ekv.) pro upravení pH na 7,5. Roztok se ochladí na 0 °C a přidá se N,N'-dicyklohexylkarbodiimid (2,94 g, 14,24 mmol, 1,4 ekv.) a roztok se mísí po dobu další jedné hodiny v chladicí lázni. Roztok se potom mísí přes noc při teplotě okolí. Reakční směs se filtruje, koncentruje se a rozpustí se v ethylacetatu (176 ml). Organická fáze se promyje vodou (125 ml) a hydrogenuhličitánem sodným (125 ml), suší se a koncentruje se. Materiál se přečistí rekrytalizací ve směsi ethylacetat-hexan za zisku titulní sloučeniny (2,04 g, 75%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 250 MHz) δ 0,90 - 1,00 (m, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{CH-CH}$), 1,66 (s, 1H, $\text{CH-CH}(\text{CH}_3)_2$), 3,80 (d, 3H, $J = 4,82$ Hz), 3,88 - 3,99 (m, 1H, H-3), 5,10 (s, 2H, H-5), 5,25 - 5,41 (d, 1H, NH-CO , $J = 7,67$ MHz), 5,90 - 6,05 (s, 1H, NH-COO), 7,30 - 7,42 (m, 5H, Ph).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 62,9 MHz): δ 19,24 (C-1), 26,14 ($\text{CH-CH}(\text{CH}_3)_2$), 30,67 ($\text{CH-CH}(\text{CH}_3)_2$), 60,67 (C-3), 67,06 (C-5), 128,02, 128,20, 128,54, 136,19 (Ph), 156,45 (C-2), 171,80 (C-4).

D. (ii). Příprava N-methyl-valinamidu

N-(benzyloxykarbonyl)-N'-methyl-L-valinamid ze stupně (i) (2,49 g, 9,42 mmol) se rozpustí v ethanolu (100 ml) a přidá se palladium na uhlíku (10%, 0,399 g). Směs se potom hydrogenuje (přibl. 230 ml H_2) při teplotě okolí přes noc. Pd/C se potom odfiltruje přes vrstvu celitu a provede se koncentrování.

Materiál se přečistí rychlou chromatografií na silikagelu (dichlormethan:aceton 1:1) za zisku N-methyl-valinamidu (0,87 g, 71%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 250 MHz) δ 0,79 - 0,85 (m, 6H, $\text{CH-CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,76 (m, 1H, $\text{CH-CH}(\text{CH}_3)_2$), 2,74 - 2,76 (d, 2H, H-1, $J = 4,99$ Hz), 3,75 - 3,77 (d, 1H, H-3, $J = 4,43$), 6,76 (s, 2H, NH_2), 7,26 (s, 1H, NH-CH_3).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 69,2 MHz) δ 19,68 (C-1), 26,23 ($\text{CH-CH}(\text{CH}_3)_2$), 30,77 ($\text{CH-CH}(\text{CH}_3)_2$), 60,21 (C-3), 166,10 (C-2).

D. (iii). Příprava N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)-propyl]-(2R,3R,4R,5R)-3,4-O-isopropyliden-2,5-di[(2-methylbenzyl)-oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamidu

Dikyselina ze stupně C (0,247 g, 0,56 mmol) a amid ze stupně D (ii) (0,211 g, 1,62 mmol, 2 ekv.) se rozpustí, spolu s 1-hydroxybenztriazolem (0,27 g, 2,00 mmol, 3,6 ekv.) v dichlormethanu (5,8 ml) a tetrahydrofuranu (2,9 ml). Přidá se triethylamin (0,18 ml, 1,28 mmol, 2,3 ekv.) pro úpravu pH na 7,5. Reakční směs se ochladí na 0 °C a přidá se 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimid, hydrochloridová sůl (0,287 g, 1,50 mmol, 2,7 ekv.) a roztok se mísí v chladicí lázni po dobu 1 hodiny. Reakční směs se potom mísí po dobu dalších 2 hodin při teplotě okolí. Reakční směs se potom ředí dichlormethanem (30 ml) a promyje se hydrogenuhlíčitanem sodným (3 x 30 ml), suší se a koncentruje se. Materiál se přečistí rychlou chromatografií na silikagelu (dichlormethan:methanol 3:1) za zisku titulního diamidu (0,291 g).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 250 MHz) δ 0,78 - 0,94 (m, 12H, 2x $\text{H-CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,22 (s, 6H, isoprop. CH_3), 1,87 - 1,93 (m, 2H, H-4, H-13), 2,24 (s, 6H, 2x Ph-CH_3), 2,56 (d, 6H, H-1, H-16, $J = 4,38$ Hz), 4,11 -

4,14 (m, 6H, 2x CH-CH(CH₃)₂), H-7, H-8, H-9, H-10), 4,46 - 4,50 (d, 4H, Ph-CH₂-O, J = 9,92), 6,48 - 7,05 (m, 8H, Ph), 7,70 - 7,75 (d, 2H, 2x CH-NH-CO, J = 11,32 Hz), 8,00 (d, 2H, 2x CH₃-NH, J = 4,44).

E. Příprava N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[(2-methylbenzyl)oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamidu

Kyselina chlorovodíková, 45% v methanolu (2 ml) se přidá k diaminu stupně D (0,060 g, 0,090 mmol). Reakční směs se mísí při teplotě okolí po dobu 60 minut a potom se koncentruje. Materiál se přečistí rychlou chromatografií na silikagelu (dichlormethan:methanol 9:1) za zisku titulního diamidu (0,042 g, 74 %).

¹H-NMR (DMSO-d₆, 250 MHz) δ 0,82 - 0,87 (t, 12H, 2x CH-CH(CH₃)₂, J = 6,06), 1,94 - 2,02 (m, 2H, CH-CH(CH₃)₂), 2,25 (s, 6H, 2x Ph-CH₃), 2,60 (d, 6H, H-1, H-16, J = 4,42 Hz), 3,86 - 3,88 (m, 2H, H-4, H-13), 4,01 - 4,04 (d, 2H, H-8, H-9, J = 7,27), 4,18 - 4,19 (m, 2H, H-7, H-10), 4,47 (s, 4H, Ph-CH₂-O), 7,15 - 7,31 (m, 8H, Ph), 7,70 - 7,74 (d, 2H, 2x CH-NH-CO, J = 8,82 Hz), 7,90 - 7,92 (d, 2H, 2x CH₃-NH, J = 4,49).

¹³C-NMR (DMSO-d₆, 69,2 MHz) δ 17,99 (CH-CH(CH₃)₂), 19,13 (Ph-CH₃), 25,31 (CH-CH(CH₃)₂), 30,40 (C-1, C-16), 57,57 (C-4, C-13), 69,37 (Ph-CH₂-O), 69,80 (C-7, C-10), 79,29 (C-8, C-9), 125,47, 127,59, 128,30, 129,78, 131,48, 136,42 (Ph), 170,38 (C-3, C-14), 172,03 (C-6, C-11).

Příklad 10: N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

0,915 g (2,2 ekv., mmol) (1S,2R)-1-amino-2-indanolu se

suspenduje ve 12 ml CHCl_3 a zahřívá se při 45 °C. V jedné porci se přidá 2,5-di-O-benzyl-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton (1,0 g, 1,0 ekv., 2,82 mmol) a směs se mísí při 50 °C po dobu dalších 4 hodin. Potom se reakční směs extrahuje nasyceným vodným roztokem NH_4Cl (2x) a vodou (2x), suší se přes MgSO_4 a koncentruje se. Při rekrystalizaci z methanolu se získá titulní sloučenina jako bílá pevná substance (0,65 g, 35%).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 39,2, 57,8, 71,6, 72,5, 73,5, 81,5, 124,0, 125,3, 127,0, 128,2, 128,3, 128,6, 136,7, 139,8, 140,8, 171,6. Analýza ($\text{C}_{38}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_8$) C,H,N. $[\alpha]_D -20,7$ (c 0,68, CHCl_3).

Příklad 11: N1-[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-N6-[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di-(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

208 mg (1,0 ekv., 1,41 mmol) (1S,2R)-1-amino-2-indanolu se suspenduje ve 4 ml CH_3CN a zahřívá se při 55 °C. V jedné porci se přidá 2,5-di-O-benzyl-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton (0,5 g, 1,0 ekv., 1,41 mmol) a směs se mísí při 50 °C po dobu další 1,5 hodin spolu s 1 ml CH_3CN . Po 3,5 hodinách se přidá další část L-valin-methylamidu (184 mg, 1,0 ekv., 1,41 mmol). Po 22 hodinách se reakční směs koncentruje a přečistí se rychlou chromatografií na silikagelu (CHCl_3 :MeOH 30:1, CHCl_3 :MeOH 20:1 a EtOAc:MeOH 10:1) za zisku titulní sloučeniny (14 mg, 1,6%).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 17,2, 19,5, 39,3, 58,0, 58,4, 72,2, 72,4, 72,8, 73,4, 81,4, 81,8, 123,9, 125,4, 127,0, 128,1, 128,2, 128,4, 128,5, 128,7, 128,8, 136,4, 139,6, 140,8, 170,9, 172,0.

Příklad 12: N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(2-fluorbenzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

A. Příprava 2-fluorbenzyltrichloracetimidatu

Titulní sloučenina se připraví postupem podle příkladu 7A, za použití 2-fluorbenzylalkoholu (2,79 g, 74%).

$^1\text{H-NMR}$ (CHCl_3 , 250 MHz) δ 5,36 (s, 2H, H-4), 7,23-7,49 (m, 6H, Ph), 8,45 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 62,9 MHz) δ 64,65 (C-4), 91,14 (C-1), 115,14, 115,45, 123,97, 128,97, 128,90, 129,97, 130,11 (Ph), 162,18 (C-2).

B. Příprava 2,5-di-O-(2-fluorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu

Titulní sloučenina ve formě bílé pevné substance se připraví postupem podle příkladu 7B, za použití 2-fluorbenzyltrichloracetimidatu (0,303 g, 73%).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 250 MHz) δ 4,83 (d, 4H, 2x Ph-CH₂, J = 8,00), 4,93 (d, 2H, H-3, H-4, J = 3,72), 5,31 (d, H-2, H-5, J = 3,78), 7,19 - 7,54 (m, 8H, 2x Ph).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6 , 62,9 MHz) δ 65,78 (C-3, C-4), 74,22 (C-2, C-5), 74,95 (2x Ph-CH₂), 115,04, 124,41, 130,25, 130,38, 130,58 (2x Ph), 170,41 (C-1, C-6).

C. Titulní sloučenina se připraví postupem podle příkladu 10, za použití 2,5-di-O-(2-fluorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu (0,056 g, 33%).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 250 MHz) δ 2,77 - 3,11 (d+dd, 4H, H-1, H-14, J = 4,58, 11,56, 16,07), 3,96 (t, 2H, H-3, H-12, J = 7,28), 4,16 (d, 2H, H-7, H-8, J = 7,96), 4,44 (q, 2H, H-6, H-9, J = 3,83, 4,43), 4,62 (d, 4H, 2x Ph-CH₂, J = 3,40), 4,92 (d, 2H, 2x OH-CH, J = 7,23), 5,08 (d, 2H, CH₂-OH, J = 4,10), 5,27 (q, 2H, C-23, C-13, J

= 3,61, 5,53), 7,11 - 7,51 (m, 16H, 4x Ph), 7,82 (d, 2H, NH, J = 8,72).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 62,9 MHz) δ 54,79 (C-1, C-14), 56,57 (C-3, C-12), 64,88 (2x Ph-CH₂), 69,81 ((C-7, C-8), 72,01 (C-2, C-13), 79,53 (C-6, C-9), 114,80, 115,15, 124,18, 125,70, 124,91, 126,09, 127,16, 129,55, 129,68, 130,10, 140,55, 141,90, 157,86, 161,76 (4x Ph), 170,64 (C-5, C-10).

Příklad 13: N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(4-fluorbenzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

A. Příprava 4-fluorbenzyltrichloracetimidatu

Titulní sloučenina se připraví postupem podle příkladu 7A, za použití 4-fluorbenzylalkoholu (3,036 g, 81%).

^1H -NMR (CHCl₃, 250 MHz) δ 5,29 (s, 2H, H-4), 7,18-7,43 (m, 6H, Ph), 8,45 (s, 1H, NH).

^{13}C -NMR (CDCl₃, 62,9 MHz) δ 70,02 (C-4), 91,35 (C-1), 115,32, 115,67, 129,77, 129,90, 131,26 (Ph), 162,40 (C-2).

B. Příprava 2,5-di-O-(4-fluorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu

Titulní sloučenina ve formě bílé pevné substance se připraví postupem podle příkladu 7B, za použití 4-fluorbenzyltrichloracetimidatu (0,242 g, 54%).

^1H -NMR (DMSO- d_6 , 250 MHz) δ 4,74 (d, 4H, 2x Ph-CH₂, J = 6,87), 4,87 (d, 2H, H-3, H-4, J = 4,00), 5,24 (d, H-2, H-5, J = 4,02), 7,18 - 7,47 (m, 8H, 2x Ph).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 62,9 MHz) δ 71,17 (C-3,C-4), 74,25 (C-2, C-5), 74,68 (2x Ph-CH₂), 114,92, 115,27, 130,00, 130,13, 133,07 (2x Ph), 171,54 (C-1, C-6).

C. Titulní sloučenina se připraví postupem podle příkladu 10, za použití 2,5-di-O-(4-fluorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu (0,053 g, 40%).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 250 MHz) δ 2,78 - 3,11 (d+dd, 4H, H-1, H-14, $J = 4,63, 11,53, 16,08$), 3,95 (t, 2H, H-3, H-12, $J = 7,64$), 4,11 (d, 2H, H-7, H-8, $J = 8,04$), 4,45 (m, 2H, H-6, H-9), 4,51 (d, 4H, 2x Ph-CH₂, $J = 6,02$), 4,89 (d, 2H, 2x OH-CH, $J = 7,45$), 5,10 (d, 2H, CH₂-OH, $J = 4,16$), 5,27 (q, 2H, C-23, C-13, $J = 3,59, 4,96$), 7,09 - 7,84 (m, 16H, 4x Ph), 8,30 (d, 2H, NH, $J = 8,74$).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6 , 62,9 MHz) δ 54,80 (C-1, C-14), 56,56 (C-3, C-12), 69,72 (2x Ph-CH₂), 70,38 ((C-7, C-8), 72,02 (C-2, C-13), 79,36 (C-6, C-9), 114,68, 115,01, 124,23, 124,71, 126,09, 127,18, 129,62, 129,74, 134,15, 140,56, 141,92, 159,55, 163,40 (4x Ph), 170,81 (C-5, C-10).

Příklad 14: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(4-fenylbenzyl)oxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

A. Příprava 4-brombenzyltrichloracetimidatu

Titulní sloučenina se připraví postupem podle příkladu 7A, za použití 4-brombenzylalkoholu (3,2 g, 90%).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 250 MHz) δ 5,3 (s, 2H), 7,3 (d), 8,4 (s).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 62,9 MHz) δ 69,84, 122,32, 131,65, 134,38, 132,32.

B. Příprava 2,5-di-O-(4-brombenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu

Titulní sloučenina se připraví postupem podle příkladu 7B, za použití 4-brombenzyltrichloracetimidatu (0,739 g, 83%).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 250 MHz) δ 4,7 (d), 4,8 (d), 4,9 (d), 5,3 (d), 7,4 (d), 7,6 (d).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6 , 62,9 MHz) δ 71,27, 74,40, 74,92, 130,08, 131,36, 136,44, 171,68.

C. Příprava N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(4-brombenzyl)oxy)-3,4-dihydroxyhexandiamidu

Titulní sloučenina se připraví postupem podle příkladu 10, za použití 2,5-di-O-(4-brombenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu (0,0746 g, 66%).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6 , 62,9 MHz) δ 17,93, 19,81, 26,32, 30,84, 58,93, 72,11, 72,51, 80,72, 122,67, 130,36, 132,29, 136,80, 172,35, 172,88.

D. Příprava titulní sloučeniny

Materiál ze stupně C (30 mg, 0,039 mmol), kyselina fenylboritá (23,6 mg, 0,194 mmol), $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (2,2 mg, 0,0019 mmol), NaCO_3 (77,6 μl , 2M), EtOH (60 μl), H_2O (80 μl) a dimethoxyethan (240 μl) se smísí v reakční zkumavce opatřené šroubovacími zátkami v atmosféře N_2 . Zkumavka se ozáří mikrovlnným zářením po dobu 4 minut při 45 W. Zkumavka se ochladí ve vodě před koncentrování reakční směsi a před přečištěním chromatografií na silikagelu (CHCl_3 -MeOH 20:1), při kterém se získá titulní sloučenina (28 mg).

$^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 62,9 MHz) δ 17,08, 19,79, 26,18, 29,04, 58,42, 73,28, 73,64, 81,96, 127,20, 127,68, 128,96, 129,01, 135,26, 140,51, 141,71, 170,55, 172,53.

Příklad 15: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-
-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[4-(3-thienyl)benzyloxy]-3,4-
-dihydroxyhexandiamid

Příprava titulní sloučeniny. Materiál z příkladu 14C (33 mg, 0,043 mmol), kyselina 3-thiofenboritá (23,9 mg, 0,214 mmol), $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (2,5 mg, 0,00214 mmol), NaCO_3 (85,0 μl , 2M), EtOH (65 μl), H_2O (90 μl) a dimethoxyethan (270 μl) se smísí v reakční zkumavce opatřené šroubovacími zátkami v atmosféře N_2 . Zkumavka se ozáří mikrovlnným zářením po dobu 4 minut při 45 W. Zkumavka se ochladí ve vodě před koncentrování reakční směsi a před přečištěním chromatografií na silikagelu (CHCl_3 -MeOH 20:1), při kterém se získá titulní sloučenina (30 mg).

^{13}C -NMR ($\text{CDCl}_3/\text{MeOH-d}_4$, 62,9 MHz) δ 16,55, 18,42, 24,91, 29,54, 57,64, 70,96, 71,77, 79,38, 119,70, 125,34, 125,63, 125,76, 128,00, 135,14, 141,08, 171,32, 171,66.

Analýza: Výpočet: C 61,61; H 6,47; N 7,19. Zjištěno: C 61,2; H 6,5; N 7,2.

Příklad 16: N1,N6-di[(1S)-2-fenyl-1-(methylkarbamoyl)methyl]-
-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

2,5-di-O-benzyl-L-mannaro-1,4:6,3-di-lakton z příkladu 1 (150 mg, 0,423 mmol) se rozpustí v acetonitrilu (1 ml) a do míseného roztoku se přidá fenylglycin-N-methylamid (271 mg, 1,67 mmol). Roztok se zahřívá při 65 °C po dobu 14 hodin a potom se koncentruje. Surový materiál se přečistí chromatografií na silikagelu (chloroform:methanol 9:1).

^{13}C -NMR (CDOD_3 a CDCl_3) δ 26,3, 26,4, 57,1, 71,8, 73,4, 80,3, 127,4, 128,3, 128,4, 128,5, 128,6, 129,0, 136,5, 137,2, 170,3, 171,3.

Analýza: Výpočet: C 66,85; H 6,20; N 8,21. Zjištěno: C 66,74 H 6,34; N 8,12.

Příklad 17: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[4-(3-fluorbenzyl)oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid

A. Tetrabutylammoniumhydrogensulphat (30 mg, 0,09 mmol) se přidá do 3-fluorbenzylalkoholu (1,6 g, 12,4 mmol) v CH_2Cl_2 (15 ml) a KOH (50%, 15 ml). Tato směs se ochladí na -15°C před adicí trichloracetonitrilu (1,5 ml, 14,9 mmol). Po 30 minutách při -10°C a 2,5 hodině při teplotě okolí se fáze separují. Vodná fáze se extrahuje dvakrát CH_2Cl_2 . Kombinované organické fáze se suší přes MgSO_4 a přečistí se chromatografií na silikagelové koloně (toluen) za zisku 3-fluorbenzyltrichloracetimidatu (3,27 g, 95%) jako čirého oleje.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 5,3 (s), 7,0 - 7,15 (m), 7,3 - 7,45 (m), 8,4 (s).

B. Příprava 2,5-di-O-(3-fluorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu

Titulní sloučenina ve formě bílé pevné substance se připraví postupem podle příkladu 7B, za použití 3-fluorbenzyltrichloracetimidatu (0,220 g, 33%).

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 250 MHz) δ 4,8 (d, 4H, $J = 5,8$), 4,9 (d, 2H, $J = 4,1$), 5,25 (d, 2H, $J = 3,9$), 7,15 - 7,25 (m, 8H), 7,3 - 7,35 (m, 2H).

$^{13}\text{C-NMR}$ (DMSO-d_6 , 62,9 MHz) δ 71,08, 74,27, 74,67, 114,45, 123,59, 130,30, 130,53, 139,8, 171,55.

C. Postupem podle příkladu 7C, za použití 2,5-di-O-(3-fluorbenzyl)-

-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu, se získá N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[4-(3-fluorbenzyl)oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid (0,030 g, 16%) jako bílá pevná substance.

Příklad 18: N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(3-fluorbenzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

Postupem podle příkladu 10, za použití 2,5-di-O-(3-fluorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu z příkladu 17B (0,03 g, 0,08 mmol) a (1S,2R)-1-amino-2-indanolu (0,046 g, 0,31 mmol), se získá titulní sloučenina (0,04 g, 76%).

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 62,9 MHz) δ 39,4, 56,6, 69,7, 70,2, 72,0, 79,5, 113,8, 113,9, 114,2, 114,3, 123,2, 124,2, 124,7, 126,1, 127,2, 130,0, 130,1, 140,6, 141,0, 141,1, 141,9, 160,1, 164,0, 170,7.

Příklad 19: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[4-(2-fluorbenzyl)oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid

Postupem podle příkladu 7C, za použití 2,5-di-O-(2-fluorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu (příklad 12B), se získá titulní sloučenina (0,062 g, 38%) jako bílá pevná substance.

^{13}C -NMR (DMSO- d_6 , 62,9 MHz) δ 17,90, 19,11, 25,29, 30,43, 57,49, 64,78, 69,74, 79,38, 114,82, 115,15, 124,18, 124,59, 129,59, 130,14, 170,14, 170,93.

Příklad 20: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[4-(2,4-difluorbenzyl)oxy]-3,4-dihydroxyhexandiamid

A. Tetrabutylammoniumhydrogensulphat (15 mg) se přidá k 2,4-difluorbenzylalkoholu (1,0 g, 6,94 mmol) v CH_2Cl_2 (10 ml) a KOH (50%, 10 ml). Tato směs se ochladí na -15°C před adicí trichloracetonitrilu (1,2 ml, 8,32 mmol). Po 30 minutách při -15°C a 3 hodinách při teplotě okolí se fáze separují. Vodná fáze se extrahuje dvakrát CH_2Cl_2 . Kombinované organické fáze se suší přes MgSO_4 a redukují se na jednu třetinu. Zbytek se filtruje přes celit a koncentruje se za zisku surového 2,4-difluorbenzyltrichloracetimidatu (1,83 g, 92%) jako žlutého oleje.

^1H -NMR (CDCl_3) δ 5,35 (s), 6,75 - 6,90 (m), 7,50 (m), 8,50 (s).

^{13}C -NMR (CDCl_3 , 62,9 MHz) δ 64,1, 91,1, 103,9, 111,1, 118,6, 131,2, 158,9, 161,0, 162,3, 162,9, 165,2.

B. Příprava 2,5-di-O-(2,4-difluorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilaktonu

Titulní benzylovaný dilakton jako bílá pevná substance (0,97 g, 99%) se připraví postupem podle příkladu 7B, za použití 2,4-difluorbenzyltrichloracetimidatu.

^1H -NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 250 MHz) δ 4,75 (t, 4H, $J = 2,1, 3,3$), 5,20 (d, 4H, $J = 6,6$), 6,9 - 7,1 (m, 4H), 7,5 - 7,65 (m, 2H).

C. benzylovaný dilakton ze stupně B (0,11 g, 0,28 mmol) a N-methyl-L-valin (0,22 g, 1,66 mmol) se zahřívají při teplotě zpětného toku v dichlormethanu (1 ml) přes noc. Po koncentrování a přečištění chromatografií na silikagelové koloně se získá titulní diamid (0,042 g, 23%) jako bílá pevná substance.

^{13}C -NMR ($\text{MeOH}-d_4$, 62,9 MHz) δ 18,4, 19,7, 26,2, 31,2, 59,9, 66,8, 72,1, 81,4, 104,2, 104,6, 104,9, 112,0, 112,4, 121,7, 122,1,

133,1, 133,2, 173,3, 173,8.

Příklad 21: N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-
-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(2,4-difluorbenzyloxy)-3,4-
-dihydroxyhexandiamid

Postupem podle příkladu 20C, za použití (1S,2R)-1-amino-2-
-indanolu (0,16 g, 1,09 mmol), se získá titulní sloučenina (0,
048 g, 25%) jako bílá pevná substance.

$^1\text{H-NMR}$ (MeOH-d_4 , 62,9 MHz) δ 2,90 (2d, 2H), 3,15 (2d, 2H), 4,20
(d, 2H), 4,62 (m, 4H), 4,7 (s, 2H), 5,4 (d, 2H), 6,8 - 7,0 (m,
4H), 7,2 - 7,4 (m, 8H), 7,45 - 7,65 (m, 6H).

Příklad 22: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl]-
-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di[4-(2-pyridyl)benzyloxy]-3,4-
-dihydroxyhexandiamid

Materiál z příkladu 14C (30 mg, 0,039 mmol),
trimethyl-2-pyridylcín (47,0 mg, 0,194 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (2,25 mg,
0,0010 mmol), DMF (1 ml) a CuO (3,1 mg, 0,039 mmol) se smísí
v reakční zkumavce opatřené šroubovacími zátkami v atmosféře N_2 .
Zkumavka se ozáří mikrovlnným zářením po dobu 2 minut při 60 W.
Směs se ředí CH_2Cl_2 (50 ml), promyje se solankou (3 x 20 ml),
koncentruje se a přečistí se chromatografií na silikagelu
(CH_2Cl_2 -MeOH 15:1), za zisku titulní sloučeniny (16 mg).

$^{13}\text{C-NMR}$ ($\text{CDCl}_3/\text{MeOH-d}_4$, 62,9 MHz) δ 18,6, 20,0, 26,4, 31,9, 60,1,
72,3, 73,2, 81,6, 122,7, 123,9, 128,3, 129,7, 139,1, 140,1,
150,4, 158,7, 173,7, 174,1.

Příklad 23: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl] -
- (2R,3R,4R,5R) -2,5-di[4-(3-pyridyl)benzyloxy] -3,4-
-dihydroxyhexandiamid

Postupem podle příkladu 22, za použití trimethyl-3-pyridylcínu
(47 mg, 0,194 mmol) a přečištění chromatografií na silikagelové
koloně (CHCl_3 -MeOH 9:1) se získá titulní sloučenina (15 mg).

^{13}C -NMR ($\text{CDCl}_3/\text{MeOH}-d_4$, 62,9 MHz) δ 18,1, 20,0, 31,1, 59,2, 72,4,
73,0, 81,0, 125,1, 128,1, 129,7.

Příklad 24: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl] -
- (2R,3R,4R,5R) -2,5-di[(4-(3-nitrofenyl)benzyl)oxy] -3,4-
-dihydroxyhexandiamid

Materiál z příkladu 14C (200 mg, 0,259 mmol), kyselina
3-thiofenboritá (216,1 mg, 1,294 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (15,0 mg, 0,
0129 mmol), NaCO_3 (259 μl , 2M), EtOH (773 μl), H_2O (1288 μl)
a dimethoxyethan (3091 μl) se smísí v reakční zkumavce opatřené
šroubovacími zátkami v atmosféře N_2 . Zkumavka se zahřívá při 80
 $^\circ\text{C}$ přes noc. Směs se ředí CH_2Cl_2 (50 ml), promyje se solankou (3
x 20 ml), koncentruje se a přečistí se chromatografií na
silikagelové koloně (CHCl_3 -MeOH 20:1), za zisku titulní
sloučeniny (206 mg).

^{13}C -NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 62,9 MHz) δ 18,1, 19,2, 25,4, 30,5, 57,6, 69,8,
70,7, 79,5, 120,9, 122,0, 126,8, 128,4, 130,4, 133,1, 137,0,
138,5, 141,4, 148,4, 170,0, 171,1.

Příklad 25: N1,N6-di[(1S)-2-methyl-1-(methylkarbamoyl)propyl] -
- (2R,3R,4R,5R) -2,5-di[4-(2-thienyl)benzyloxy] -3,4-
-dihydroxyhexandiamid

Materiál z příkladu 14C (100 mg, 0,129 mmol), kyselina 2-thiofenboritá (82,8 mg, 0,647 mmol), $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (7,49 mg, 0,0065 mmol), NaCO_3 (129 μl , 2M), EtOH (386 μl), H_2O (644 μl) a dimethoxyethan (1546 μl) se smísí v reakční zkumavce opatřené šroubovacími zátkami v atmosféře N_2 . Zkumavka se zahřívá při 80 °C přes noc. Směs se ředí CHCl_3 (50 ml), promyje se solankou (3 x 20 ml), koncentruje se a přečistí se chromatografií na silikagelové koloně (CHCl_3 -MeOH 20:1), za zisku titulní sloučeniny (88,8 mg).

^{13}C -NMR ($\text{CDCl}_3/\text{MeOH-d}_4$, 62,9 MHz) δ 17,0, 18,3, 19,6, 26,0, 29,0, 50,7, 58,3, 72,9, 73,0, 81,4, 123,4, 125,2, 126,2, 128,1, 128,6, 131,9, 134,6, 135,3, 143,5, 170,7, 172,1,
Analýza: Zjištěno: C 68,9; H 6,33; N 7,36.

Příklad 26: N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-(2R,3R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3-hydroxyhexandiamid

A. Do míseného roztoku materiálu z příkladu 10 (400 mg, 620 mmol) v CH_2Cl_2 (3 ml) při 0 °C v atmosféře argonu se přidá lutidin (142 μl , 1,22 mmol) a t-butyldimethylsilyltriflat (296 μl , 1,29 mmol). Po 4 hodinách se přidá 1M NaOH (0,5 ml) a směs se promyje 1M HCl a solankou. Organická vrstva se suší, koncentruje se a přečistí se chromatografií na silikagelové koloně (CHCl_3 -MeOH 80:1), za zisku disilylované sloučeniny (313 mg, 355 μmol , 57%).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ -4,8, 17,9, 25,7, 40,6, 56,3, 71,1, 74,0, 77,2, 124,5, 124,8, 126,9, 127,9, 128,2, 128,5, 136,7, 139,8, 140,9, 176,2.

B. Do roztoku materiálu ze stupně a) (922 mg, 1,05 mmol) v CH_2Cl_2 (21 ml) se přidá N,N-thiokarbonyldiimidazol (598 mg, 3,36 mmol). Směs se zahřívá při teplotě zpětného toku po dobu 22 hodin,

koncentruje se a přečistí se chromatografií na silikagelové koloně (toluen:EtOAc 3:1), za zisku meziproduktu (887 mg, 0,961 mmol, 92%).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ -4,8, -4,9, 17,8, 25,6, 40,5, 56,9, 74,3, 75,2, 78,2, 82,7, 124,6, 124,8, 126,6, 128,6, 128,8, 129,0, 135,6, 140,0, 141,5, 165,7, 192,0.

C. Do refluxujícího roztoku materiálu ze stupně b) v toluenu (84 ml) v atmosféře argonu se během 20 minut přidá tributylcínhydrid (0,70 ml, 2,6 mmol) a α,α' -azoisobutyronitril (284 mg, 1,73 mmol) v toluenu. Po 20 hodinách se přidá další tributylcínhydrid (0,23 ml) a α,α' -azoisobutyronitril (71 mg). Po dalších 4 hodinách se směs koncentruje, rozpustí se v toluenu a promyje se 2,5 M NaOH a vodou, suší se a koncentruje se. Zbytek se přečistí se chromatografií na silikagelové koloně (toluen:EtOAc 3:1), za zisku 150 mg (0,17 mmol, 20%).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ -4,7, -4,8, 18,0, 25,7, 36,4, 40,5, 40,6, 56,3, 56,4, 69,8, 73,3, 74,0, 74,5, 82,0, 124,5, 124,7, 124,8, 126,9, 127,0, 127,1, 127,7, 127,9, 128,0, 128,2, 128,3, 128,4, 128,5, 136,7, 139,7, 141,2, 141,3, 171,3, 173,4.

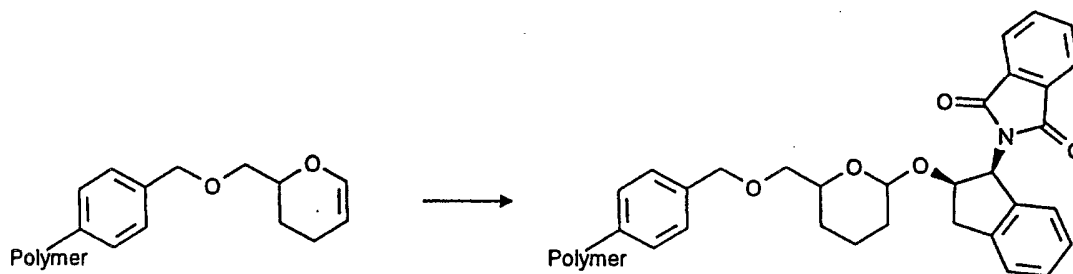
D. Do míseného roztoku materiálu ze stupně c) (150 mg, 0,17 mmol) v MeOH (6 ml) se přidá H^+ -Dowex. Po 3 dnech při teplotě okolí se směs filtruje, koncentruje se a přečistí se chromatografií na silikagelové koloně (CHCl_3 -MeOH 20:1), po čemž následuje rekrystalizace z MeOH, za zisku N1,N6-di[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-(2R,3R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3-hydroxyhexandiamidu (38 mg, 0,060 mmol, 34%).

^{13}C -NMR (CDCl_3 -MeOH- d_6) δ 35,9, 39,8, 39,9, 57,2, 57,3, 69,2, 72,5, 72,7, 73,4, 74,0, 77,6, 84,0, 124,1, 124,2, 125,5, 127,2,

128,3, 128,4, 128,5, 128,8, 137,1, 140,2, 140,4, 140,6, 140,7, 171,4.

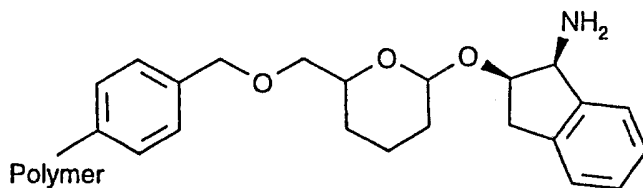
Příklad 27: N1-[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-N6-(2-chlor-6-fluorbenzyl)-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(2-fluorbenzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

A. Příprava (1S,2R)-1-ftalimido-2-indanolu na pevném nosiči



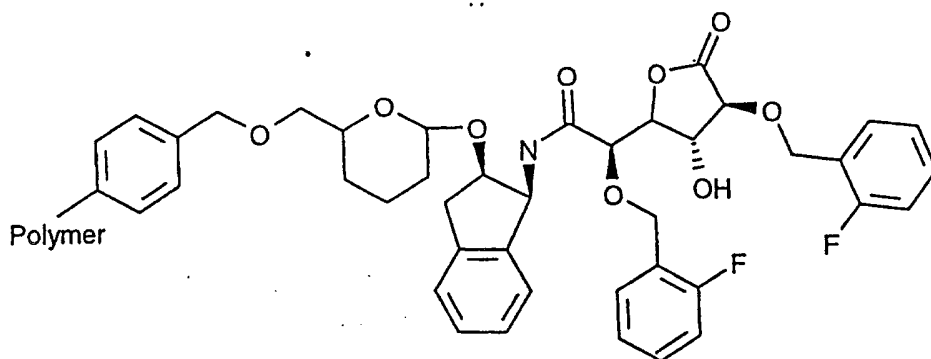
Suchá Merrfieldova pryskyřice s dihydropyranovým linkerem (300 mg, 2,1 mmol/g, 0,65 mmol linkeru) se nechá nabobtnat v 1,2-dichlorethanu (4,2 ml) pod atmosférou argonu. Přidá se bezvodý PPTS (300 mg, 1,2 mmol) a (1S,2R)-1-ftalimido-2-indanol (501 mg, 1,8 mmol) a směs se zahřeje na 75 °C. Po 20 hodinách se směs ochladí na teplotu okolí a pevná látka se vypláchne CH_2Cl_2 (20 ml), THF (10 ml) a suší se ve vakuu.

B. Příprava (1S,2R)-1-amino-2-indanolu na pevném nosiči



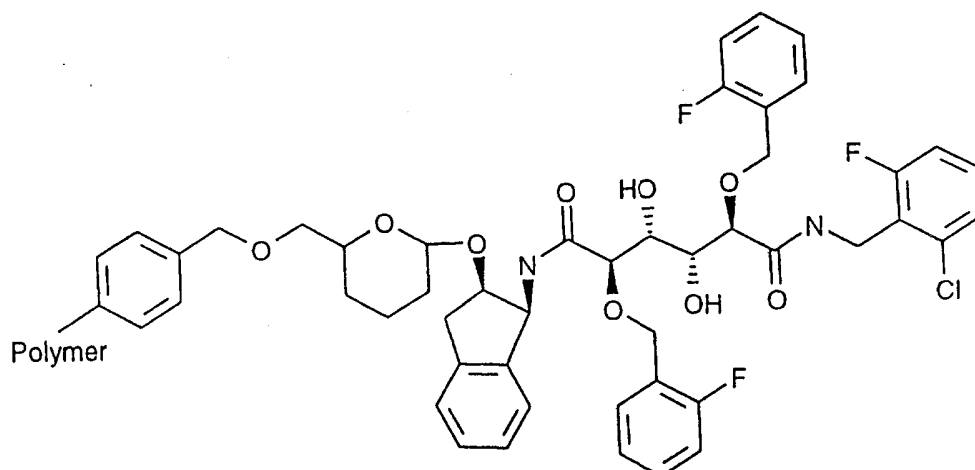
Methylamin v ethanolu (4,0 ml, 33%) se přidá k solidnímu materiálu z předešlého stupně a provede se mísení po dobu 16 hodin. Vzniklý pevný materiál se vypláchne CH_2Cl_2 (10 ml), THF (10 ml), MeOH (10 ml) a CHCl_3 (10 ml) a suší se ve vakuu.

C. Příprava N1-(2,5-di-O-(2-fluorbenzyl))-1,4-mannolakton-6-amid-N6-[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenylu] na pevném nosiči



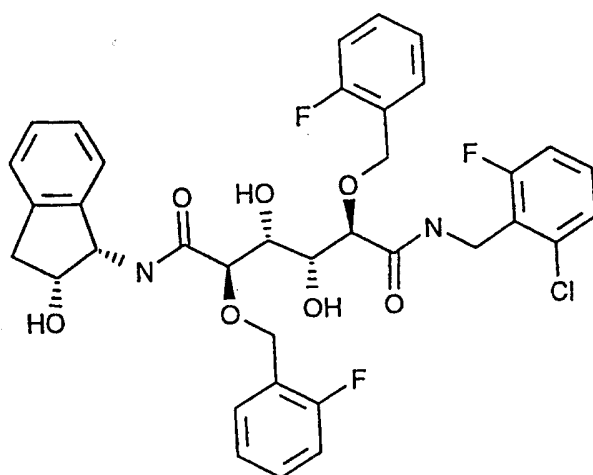
Solidní materiál z předešlého stupně se nechá nabobtnat v 1,2-dichlorethanu (4,5 ml) během 40 minut pod atmosférou argonu. Přidá se 2,5-di-O-(2-fluorbenzyl)-L-mannaro-1,4:6,3-dilakton (příklad 12B) (502 mg, 1,29 mmol) a směs se po dobu 16 hodin zahřívá při 50 °C, potom se nechá vychladnout a vypláchne se CH_2Cl_2 (10 ml) a CHCl_3 (10 ml).

D. Příprava N1-[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-N6-(2-chlor-6-fluorbenzyl)-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamidu na pevném nosiči



Solidní materiál z předešlého stupně se nechá nabobtnat v CH_3CN (4,5 ml) během 40 minut pod atmosférou argonu. Přidá se 2-chlor-6-fluorbenzylamin (249 mg, 1,56 mmol) a směs se po dobu 16 hodin zahřívá při 50 °C, potom se nechá vychladnout a vypláchne se CH_2Cl_2 (10 ml) a CHCl_3 (10 ml).

E. Příprava N1-[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-N6-(2-chlor-6-fluorbenzyl)-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(2-fluorbenzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamidu



2,3 M HCl v methanolu (8,5 ml) se přidá k pevnému materiálu z předešlého stupně. Po 4 hodinách v atmosféře argonu se pevný materiál vypláchne CH_2Cl_2 (20 ml) a MeOH (20 ml). Kombinované organické vrstvy se odeberou a kombinují se a potom se ředí CHCl_3 (20 ml) a promyjí se nasyceným vodným roztokem NaHCO_3 (2 x 30 ml). Kombinované vodné vrstvy se extrahují CHCl_3 (2 x 40 ml). Kombinovaná organická vrstva se koncentruje a přečistí se chromatografií na silikagelové koloně (CHCl_3 -MeOH 40:1) za zisku titulní sloučeniny (68 mg, 23% výtěžek vzhledem k náplni).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 34,3, 34,3, 39,2, 57,8, 67,4, 68,2, 71,3, 71,5, 72,4, 72,5, 79,8, 80,9, 114-140, 159,1, 159,2, 159,7, 162,8, 162,9, 163,4, 171,2, 172,1.

Příklad 28: N1-[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-N6-[(1S)-2-methyl-1-([2-pyridylmethyl]karbamoyl)propyl]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamid

A. Příprava N1-(2,5-di-O-benzyl)-1,4-mannolakton-6-amid-N6[t-butylvalin esteru]

t-butylvalin ester (0,4 g) a materiál ze stupně 1B v CH_2Cl_2 (50 ml) se udržují po dobu 16 hodin při teplotě 4 °C. Po koncentrování a přečištění chromatografií na silikagelové koloně (EtOAc-hexan 1:2) se získá titulní sloučenina (120 mg).

B. Příprava N1-[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-N6-[t-butylvalin ester]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamidu

(1S,2R)-1-amino-2-indanol se přidá do roztoku materiálu z předešlého stupně v CH_2Cl_2 a reakce probíhá po dobu 16 hodin. Po koncentrování a přečištění chromatografií na silikagelové koloně (EtOAc-hexan 1:2) se získá titulní sloučenina (135 mg).

C. Příprava N1-[(1S,2R)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1H-1-indenyl]-N6-[kyselina valinová]-(2R,3R,4R,5R)-2,5-di(benzyloxy)-3,4-dihydroxyhexandiamidu

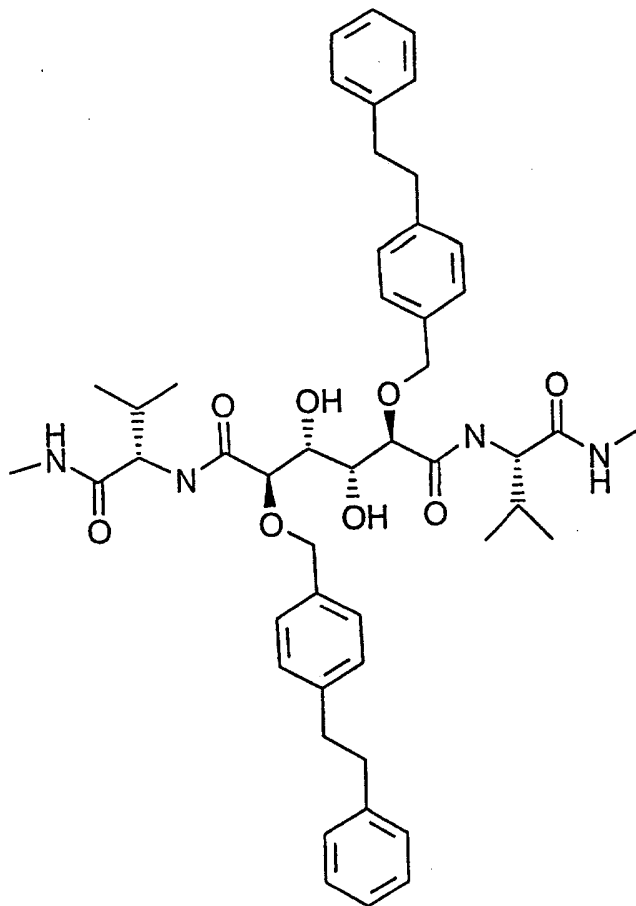
Materiál (120 mg) z předešlého stupně reaguje s TFA (5 ml) po dobu 20 minut. Po koncentrování a sušení ve vakuu se získá titulní sloučenina (96 mg).

D. Příprava titulní sloučeniny

Do materiálu z předešlého stupně v CH_2Cl_2 se přidá hydrat 1-hydroxybenzotriazolu (14 μl), 2-aminomethylpyridin (20 mg) a 1,

3-dicyklohexylkarbodiimid (35 mg). Po jedné hodině se směs přímo přečistí chromatografií na silikagelové koloně (EtOAc-MeOH 9:1) za zisku titulní sloučeniny (38 mg).

Příklad 29:

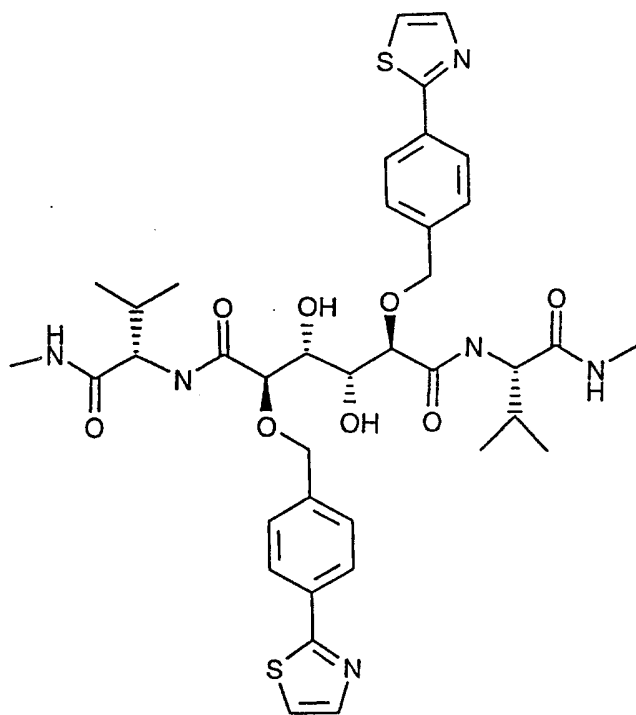


Skupiny vyplňující P1 a P1' para-bromovaného analogu sloučeniny příkladu 7 se rozšíří podle výše uvedeného vzorce. Styren (12,1 mg, 0,1165 mmol) a malé množství THF se přidají do vysušené zkumavky pod atmosférou dusíku v ledové lázni. Injekční stříkačkou se za třepání přidá 9-BBN. Směs se nechá ohřát na teplotu okolí a mísí se po dobu 4 hodin. Pod atmosférou dusíku se přidá bromovaný meziprodukt, připravený způsobem analogickým ke způsobu uvedeném v příkladu 7 (30 mg, 0,002 mmol), K_2CO_3

(21,45 mg, 0,155 mmol), a $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (2,70, 0,002 mmol) v 1 ml DMF a směs se zahřívá při 50 °C přes noc. Přidá se přibližně 50 ml chloroformu a směs se protřepe s 3 x 30 ml solanky, suší se a odpařuje se přes noc ve vakuu. Výše znázorněný materiál se přičistí chromatografií na silikagelové koloně.

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 172,5, 170,2, 142,4, 141,4, 133,6, 128,9, 128,3, 128,1, 126,0, 82,0, 73,6, 73,3, 58,3, 37,5, 28,7, 25,9, 19,7, 16,8.

Příklad 30



Tributyl-2-thiazolylylcín (72,6 mg, 0,19 mmol), $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (2,25 mg, 0,002 mmol), bromovaný analog příkladu 7 (30 mg, 0,034 mmol),

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 173,3, 172,7, 144,0, 140,4, 133,8, 129,4, 127,5, 120,4, 81,2, 72,8, 72,2, 59,3, 31,1, 26,5, 19,9, 18,1.

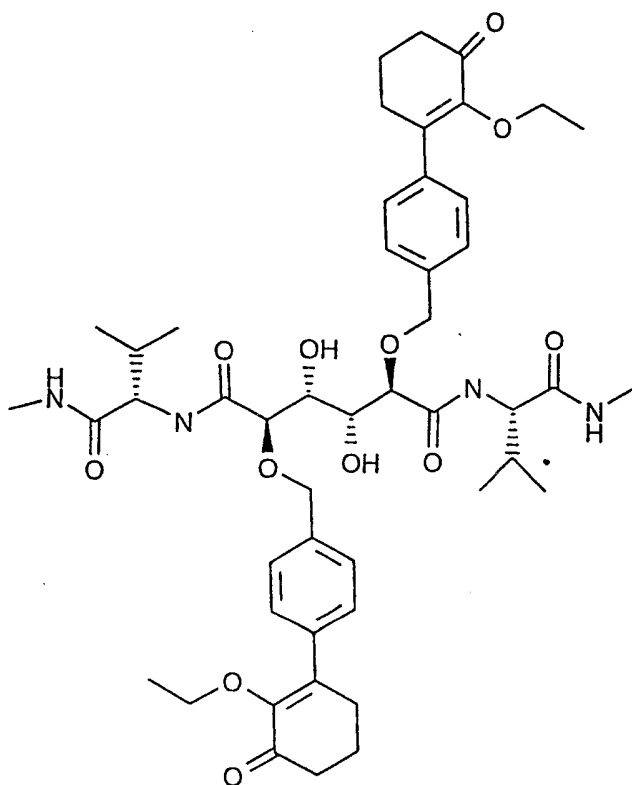
CC(C)C(=O)N[C@@H](Cc1ccc(cc1)C=CC(=O)OC)[C@H](OC(=O)N[C@@H](Cc2ccc(cc2)C=CC(=O)OC)O)[C@H](O)[C@@H](OC(=O)N[C@@H](Cc3ccc(cc3)C=CC(=O)OC)O)C(=O)N[C@@H](Cc4ccc(cc4)C=CC(=O)OC)C

Směs bromovaného analogu z příkladu 7 (38,6 mg, 0,05 mmol), methylakrylatu (21,5 mg, 0,25 mmol), diisopropylethylaminu (25,8 mg, 0,2 mmol), Pd(OAc)₂ (1,12 mg, 0,05 mmol), (o-tol)₃P (3,65 mg, 0,012 mmol) a vody (0,15 ml) v DMF (0,85 ml) se odplynuje pod

proudem dusíku během 10 minut. Reakční směs se mísí a zahřívá se při 100 °C po dobu 48 hodin. Reakční směs se nechá vychladnout a přidá se k nasycenému vodnému roztoku chloridu sodného (10 ml). Vodná vrstva se extrahuje dichlormethanem (3 x 10 ml) a kombinované organické fáze se promyjí nasyceným vodným roztokem chloridu sodného (3 x 5 ml), suší se přes MgSO_4 , filtrují se a koncentrují se za redukováného tlaku. Zbytek se přečistí na silikagelové koloně za zisku výše uvedeného materiálu (27 mg, 69%).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 171,7, 171,6, 171,5, 167,7, 14,4, 139,2, 134,3, 131,7, 129,6, 128,4, 118,0, 80,5, 77,7, 77,2, 76,7, 72,4, 71,8, 51,8, 49,7, 49,4, 49,1, 48,8, 48,5, 29,8, 25,9, 19,4, 17,3.

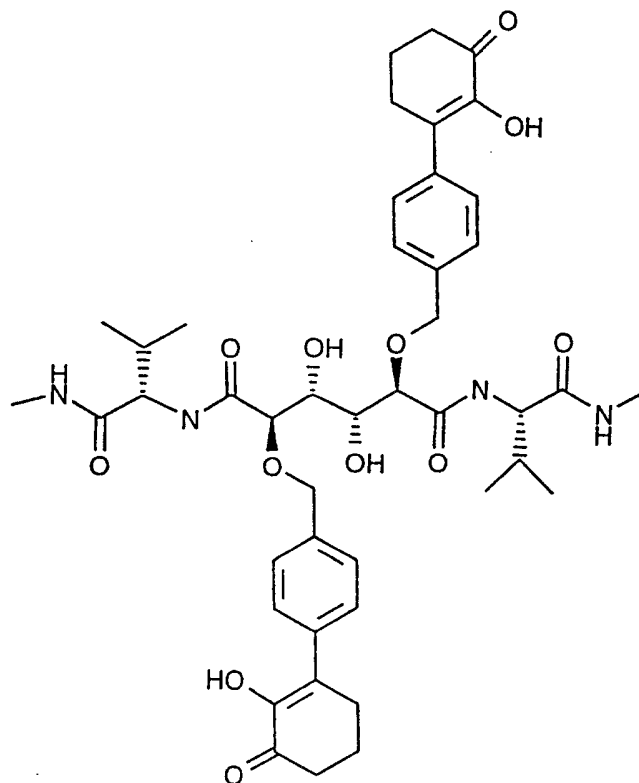
Příklad 32



Při opakování reakčních podmínek příkladu 31, za použití 2-ethoxy-3-keto-1-cyklohexandienu, se získá směs sloučenin, které se separují 7% MeOH v dichlormethanu (preparativní deska) za zisku 66 mg surové sloučeniny uvedené výše.

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 171,5, 137,3, 137,0, 128,5, 128,2, 128,0, 127,4, 80,5, 77,5, 77,2, 77,0, 76,5, 72,4, 71,8, 67,9, 58,0, 50,0, 49,7, 49,3, 49,0, 48,7, 48,4, 48,1, 38,7, 30,6, 29,5, 25,6, 22,3, 19,3, 17,1, 15,1.

Příklad 33



Do roztoku sloučeniny z příkladu 32 (18 mg, 0,02 mmol) v CH_2Cl_2 se v průběhu 5 minut po kapkách přidá 1-N-bor-tribromid (0,1 ml) při -78°C . Reakční směs se mísí při této teplotě po dobu 30 minut a potom se nechá po dobu 2 hodin v chladničce při

-12 °C. Reakční směs se přidá do nasyceného vodného roztoku NaCl (5 ml), extrahuje se dichlormethanem (3 x 5 ml) a kombinované organické extrakty se promyjí nasyceným vodným roztokem NaCl (2 x 5 ml), suší se přes MgSO_4 , filtrují se a koncentrují se za redukováného tlaku. Zbytek se přečistí na silikagelové koloně za zisku surového materiálu výše uvedeného vzorce (9,8 mg, 58%).

^{13}C -NMR (CDCl_3) δ 171,5, 136,5, 128,4, 127,9, 127,6, 80,3, 77,5, 76,5, 72,4, 71,8, 58,0, 49,9, 49,6, 49,3, 48,6, 48,3, 48,0, 35,7, 29,5, 28,6, 25,7, 22,4, 19,3, 17,1.

Biologický příklad 1

Representativní sloučeniny se testují na ovlivnění aktivity HIV proteasy ve spektrofotometrickém enzymatickém testu za použití chromogenního substrátu His-Lys-Ala-Arg-Val-Leu-p-nitro-Phe-Glu-Ala-Nle-Ser-amidu a přečištěné HIV proteasy. Rychlost štěpení je nepřetržitě sledována zaznamenáváním změny v absorbanci při 300 nm. IC_{50} představuje takovou koncentraci sloučeniny, která inhibuje aktivitu enzymu o 50%, jak je stanoveno z křivky dávka-odpověď. Nicméně, sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou tak mimořádně aktivní, že lepší srovnání mezi sloučeninami umožňují uvedené afinitní konstanty (K_1).

Sloučeniny se také testují na ovlivnění aktivity HIV proteasy v buněčné kultuře. MT4 buňky kultivované v RPMI 1640 buněčném kultivačním mediu obsahujícím 10% fetální telecí sérum jsou infikovány 10 TCID HIV-1 na 2×10^5 buněk a provede se kultivace po dobu 6 dnů. Přidá se XTT a množství XTT-formazanu produkované v následujících 6 hodinách představuje počet přežívajících buněk. Výsledky jsou vyjádřeny v ED_{50} , což je koncentrace sloučeniny podle předkládaného vynálezu v $\mu\text{g/ml}$, která potlačuje virovou

replikaci na 50%.

Antivirové aktivity příkladných sloučenin podle předkládaného vynálezu jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1

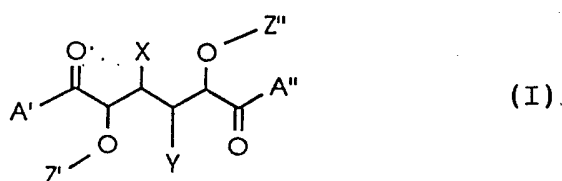
	IC ₅₀ μ M (K ₁ μ M)	ED ₅₀ μ g/ml
Příklad 1	0,015	0,5
Příklad 3	0,004	0,5
Příklad 4	(0,009)	1
Příklad 7	(0,0023)	5
Příklad 8	(0,0034)	6
Příklad 9	(0,0035)	0,4
Příklad 10	(0,0016)	0,05
Příklad 11	0,0012	0,2
Příklad 12	(0,00013)	0,04
Příklad 13	(0,00007)	0,2
Příklad 14	(0,00067)	0,04
Příklad 15	(0,0012)	0,03
Příklad 16	(0,0023)	1
Příklad 17	(0,002)	0,8
Příklad 18	(0,050)	0,5
Příklad 19	(0,0005)	0,8
Příklad 20	(0,0001)	0,9
Příklad 21	(0,00038)	0,1
Příklad 22	(0,00061)	0,4
Příklad 23	(0,0019)	2
Příklad 24	(0,0014)	0,4
Příklad 25	(0,00017)	0,02
Příklad 26	(0,00097)	0,8

Tabulka 1 (pokračování)

	$IC_{50} \mu M (K_1 \mu M)$	$ED_{50} \mu g/ml$
Příklad 27	(0,0014)	0,8
Příklad 28	ND	0,2
Příklad 31	(0,00009)	0,3
Příklad 32	(0,0003)	0,2
Příklad 33	(0,0005)	0,2

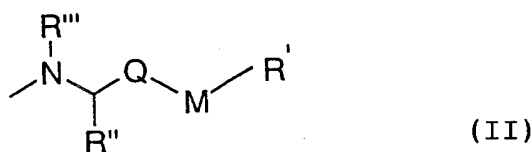
Patentové nároky

1. Sloučenina vzorce I:



kde

A a A' jsou nezávisle stejné nebo různé skupiny vzorce II:



kde

R' je H, CH₃, C(CH₃)₂, -OR^a, -N(R^a)₂, -N(R^a)OR^a nebo -DP;

R''' je H, CH₃; R^a je H, C₁-C₃alkyl;

D je vazba, C₁₋₃alkylen, -C(=O)-, -S(O)- nebo -S(O)₂-;

P je popřípadě substituovaný, mono- nebo bicyklický karbo- nebo heterocyklus;

R'' je H, jakýkoliv vedlejší řetězec vyskytující se v přirozených aminokyselinách, karboxacetamid nebo skupina (CH₂)_nDP;

M je vazba nebo -C(=O)N(R''')-;

Q buď není přítomen, nebo je vazba, nebo je -CH(OH)- nebo -CH₂-;

nebo tvoří R'' spolu s Q, M a R' popřípadě substituovaný 5- nebo 6- členný karbo- nebo heterocyklus, který je popřípadě fúzován s dalším 5- nebo 6-členným cyklickým uhlovodíkem nebo heterocyklem;

s podmínkou, že R' je -OR^a, -N(CH₃)₂, -N(R^a)OR^a nebo -DP, pokud je M vazba a Q není přítomen;

X je H, OH, OCH₃;

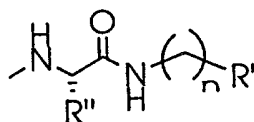
Y je H, OH, OCH₃, ale X a Y nejsou oba H;

Z' a Z'' jsou nezávisle -(CH₂)_mP, kde P je stejný, jak je definován výše;

n a m jsou nezávisle 0, 1 nebo 2;

a její farmaceuticky přijatelné soli a prekurzory léčiva.

2. Sloučenina podle nároku 1, kde A' a/nebo A'' jsou skupiny vzorce IIa:



(IIa)

kde

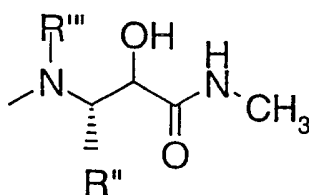
n je 0, 1 nebo 2;

R' je methyl nebo methyloxy; a

R'' je vodík, methyl, ethyl, isopropyl, cykloalkyl jako je cyklopropyl, cyklobutyl nebo cyklohexyl, cykloalkenyl, benzyl, karboxacetamid nebo 4-imidazolylmethyl nebo vedlejší řetězec vyskytující se v přirozených aminokyselinách.

3. Sloučenina podle nároku 2, kde n je 0 a R' je methyl.

4. Sloučenina podle nároku 1, kde A' a/nebo A'' jsou skupiny vzorce IIb:



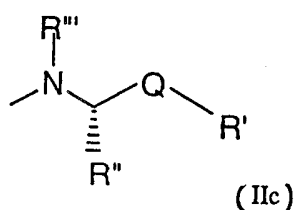
(IIb)

kde

R'' je stejný, jak je definován v nároku 2; a

R''' je vodík nebo methyl.

5. Sloučenina podle nároku 1, kde A' a/nebo A'' jsou skupiny vzorce IIc:



kde

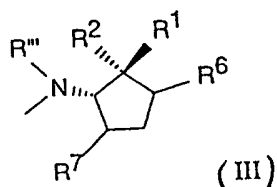
Q je vazba, methylen nebo $-C(OH)-$;

R' je popřípadě substituovaný karbo- nebo heterocyklus; a

R'' a R''' jsou stejné, jak jsou definovány v nároku 2.

6. Sloučenina podle jakéhokoli z nároků 3, 4 nebo 5, kde R'' je vedlejší řetězec leucinu, isoleucinu, asparaginu, histidinu nebo prolinu, a nejlépe valinu.

7. Sloučenina podle nároku 1, kde A' a/nebo A'' jsou skupiny vzorce III:



kde

R''' je H nebo CH_3 ;

R^1 je H, NR^4R^4 , $C(=O)R^3$, CR^3R^4 nebo monocyklický, popřípadě

substituovaný karbo- nebo heterocyklus;

R^2 je OH nebo je dohromady s $R^1 = O$, nebo pokud je $R^1 = NR^4R^4$, pak může R^2 být H;

R^3 je H, halogen, C_1 - C_3 alkyl, OR^5 , NR^4R^4 ;

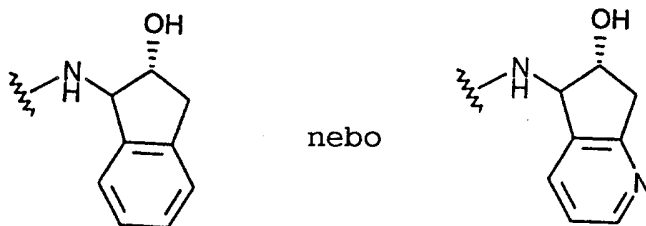
R^4 je H, C_1 - C_3 alkyl;

R^5 je H nebo farmaceuticky přijatelný ester;

R^6 je OH, NH_2 , karbamoyl nebo karboxylová skupina;

R^7 je vodík, C_1 - C_4 alkyl s přímým nebo s rozvětveným řetězcem, nebo tvoří spolu se sousedními atomy uhlíku fúzovaný fenyl nebo pyrimidin.

8. Sloučenina podle nároku 8, kde skupina vzorce III má strukturu:



9. Sloučenina podle nároku 1, kde jsou A' a A'' stejné.

10. Sloučenina podle nároku 1, kde Z' a/nebo Z'' je benzyl nesubstituovaný nebo substituovaný jedním až třemi substituenty vybranými ze skupiny zahrnující halogen, methoxy, hydroxy, amino, kyano, hydroxymethyl, aminomethyl, morfolinethoxy, alkylsulfonyl, karbamoyl, benzyloxy, fenyl (sám substituovaný způsobem zde definovaným), nebo 5- až 6-členný heterocyklus obsahující jeden nebo dva heteroatomy, jako thiofen, pyrimidin, N-morfolin, N-piperidin, N-piperazin, N'-methyl-N-piperazin, N-pyrrolidon, N-pyrrolidin a podobně, který je popřípadě substituovaný způsobem, který je zde definován.

11. Sloučenina podle nároku 10, kde Z' a/nebo Z'' je benzyl, 2-fluorbenzyl, 2-methylbenzyl, 2,4-difluorbenzyl, 4-fluorbenzyl, 4-brombenzyl, 4-fenylbenzyl, 4-thiofenylbenzyl, 4-(4'-nitrofenyl)benzyl, 4-thienylbenzyl, 4-thiazolylbenzyl nebo 4-(pyridyl)benzyl.

12. Sloučenina podle nároku 1, kde Y je H a/nebo X je OH.

13. Sloučenina podle nároku 1, která má konfiguraci 2R,3R,4R,5R.

14. Farmaceutický prostředek v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje sloučeninu podle jakéhokoliv z předcházejících nároků a farmaceuticky přijatelný nosič nebo ředidlo.

15. Způsob pro inhibici replikace HIV v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje podání účinného množství sloučeniny podle jakéhokoliv z nároků 1 až 13 subjektu, který je postižen uvedeným onemocněním.

16. Způsob přípravy sloučenin vzorce I, kde X, Y, Z' a Z'' jsou stejné, jak je definováno v nároku 1 a A' a A'' jsou nezávislé skupina vzorce II nebo běžná skupina vyplňující P-2/P-2' proteasy,

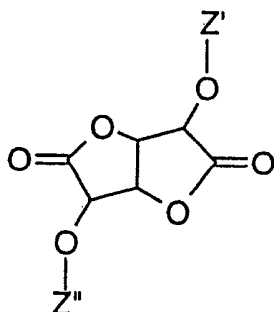
v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje:

i) O-alkylaci L-mannaro-1,4:6,3-di-laktonu za vzniku Z' a Z'' skupin,

ii) otevření laktonu pomocí stejných nebo odlišných primárních nebo sekundárních aminů za vzniku příslušných A' a A'' skupin; a

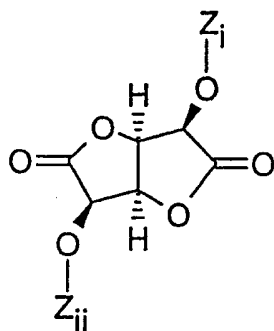
iii) popřípadě konversi C-3 a C-4 na vhodné X a Y'' skupiny.

17. Sloučenina vzorce IV



kde Z' a Z'' jsou stejné, jak jsou definovány v nároku 1.

18. Sloučenina podle nároku 17 mající následující stereochemické uspořádání:



19. Sloučenina podle nároku 17, kde Z' a/nebo Z'' jsou každý nezávisle benzyl, 2-fluorbenzyl, 2-methylbenzyl, 2, 4-difluorbenzyl, 4-fluorbenzyl, 4-brombenzyl, 4-fenylbenzyl, 4-thiofenylbenzyl, 4-(4'-nitrofenyl)benzyl, 4-thienylbenzyl, 4-thiazolylbenzyl nebo 4-(pyridyl)benzyl.

20. Sloučenina podle nároku 17, kde jsou Z' a Z'' stejné.