

PATENTOVÝ SPIS

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLUVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2001-4526**
(22) Přihlášeno: **09.06.2000**
(30) Právo přednosti: **23.06.1999 DE 19928424**
12.02.2000 DE 10006297
(40) Zveřejněno: **13.03.2002**
(Věstník č. 3/2002)
(47) Uděleno: **26.09.2011**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **02.11.2011**
(Věstník č. 44/2011)
(86) PCT číslo: **PCT/EP2000/005340**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2001/000610**

(11) Číslo dokumentu:

302 775

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

C07D 235/04 (2006-01)
C07D 401/04 (2006-01)
C07D 401/12 (2006-01)
C07D 401/14 (2006-01)
C07D 405/04 (2006-01)
C07D 405/12 (2006-01)
C07D 405/14 (2006-01)
C07D 409/12 (2006-01)
C07D 409/14 (2006-01)
C07D 413/12 (2006-01)
C07D 413/14 (2006-01)
A61K 31/4184 (2006-01)
A61K 31/4409 (2006-01)
A61K 31/4439 (2006-01)
A61K 31/4709 (2006-01)
A61K 31/4245 (2006-01)
A61K 31/381 (2006-01)
A61P 9/10 (2006-01)
A61P 11/06 (2006-01)
A61P 19/02 (2006-01)
A61P 25/28 (2006-01)
A61P 35/00 (2006-01)

(56) Relevantní dokumenty:

DE 26 41 060.

(Xue Chu-Biao, et al.: Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 1996, 6 (3), str. 339-344; Göker H., et al.: IL Farmaco 1998, 53, str. 415-420; Denny W.A., et al.: Journal of Medicinal Chemistry 1990, 33, str. 814-819; Göker H., et al.: IL Farmaco 1996, 51 (1), str. 53-58.

(73) Majitel patentu:

Sanofi - Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt am Main, DE

(72) Původce:

Ritzeler Olaf, Frankfurt am Main, DE
Stilz Hans Ulrich, Frankfurt, DE
Neises Bernhard, Offenburg, DE
Bock William Jerome Jr., Tucson, AZ, US
Walser Armin, Tucson, AZ, US
Flynn Gary A., Tucson, AZ, US

(74) Zástupce:

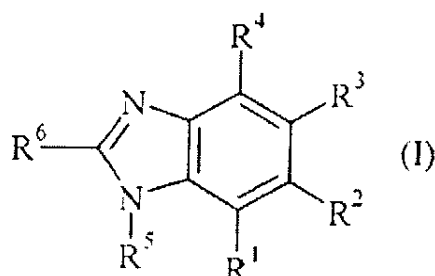
Ing. Jan Kubát, Přístavní 24, Praha 7, 17000

(54) Název vynálezu:

Substituovaný benzimidazol

(57) Anotace:

Řešení popisuje benzimidazolové sloučeniny vzorce I, které se používají pro profylaxi a léčení nemocí, na jejichž průběh má vliv zvýšená aktivita NF κ B, např. astma, revmatická artritida, osteoartritida, Alzheimerova choroba, rakovinné onemocnění, srdeční infarkt, atd.



CZ 302775 B6

Substituovaný benzimidazol

Oblast techniky

Vynález se týká nových substituovaných benzimidazolů, způsobů jejich výroby a využití těchto sloučenin jako léčiv.

Dosavadní stav techniky

V přihlášce WO 94/12478 byly mimo jiné popsány benzimidazolové deriváty, které inhibují agregaci krevních destiček. $\text{NF-}\kappa\text{B}$ je heterodimerní transkripční faktor, který může aktivovat geny, které mimo jiné kódují proinflammatorní cytokiny jako jsou IL-1, IL-2, $\text{TNF-}\alpha$ nebo IL-6. $\text{NF-}\kappa\text{B}$ se nachází v buněčném cytosolu, kde je komplexován s jeho přírodně se vyskytujícím inhibi-
torem $\text{I}\kappa\text{B}$. Stimulace buněk, například pomocí cytokinů, vede k fosforylaci a konečné proteo-
lytické výstavbě $\text{I}\kappa\text{B}$. Tento proteolytický rozklad vede k aktivaci $\text{NF-}\kappa\text{B}$, který nakonec migruje
do buněčného jádra a tam mnohonásobně aktivuje proinflammatorické geny.

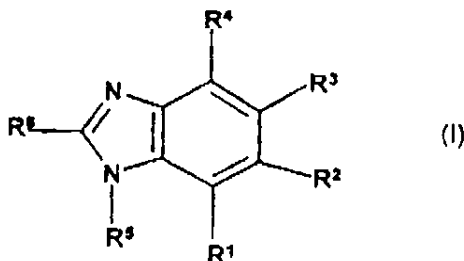
Při onemocněních jako jsou revmatická artritida (při zánětech), osteoartritida, astma, srdeční infarkt, Alzheimerova nemoc nebo arteroskleróza je $\text{NF-}\kappa\text{B}$ aktivován více než za normálního stavu. $\text{NF-}\kappa\text{B}$ je také využíván při rakovinové terapii, kde se nasazuje pro zesílení léčebných účinků cytostatik. Bylo prokázáno, že léčiva jako jsou glukokortikoidy, salicylát nebo soli zlata, které se nasazují při revmatické terapii, zasahují inhibičně v různých etapách do $\text{NF-}\kappa\text{B}$ aktivova-
ných signálových cest nebo interferují přímo při transkripci genů.

Prvním krokem jmenované signálové kaskády je rozklad $\text{I}\kappa\text{B}$. Tato fosforylace je regulována pomocí specifické $\text{I}\kappa\text{B}$ kinázy. Až dosud nejsou známy žádné inhibitory, které by specificky inhibovaly $\text{I}\kappa\text{B}$ -kinázu.

Během snahy o přípravu aktivních sloučenin pro léčení revmatické artritidy (při zánětech), osteoartritidy, astmatu, srdečního infarktu, Alzheimerovy nemoci, rakovinového onemocnění (zesilování cytotoxické terapie) nebo atherosklerózy bylo nalezeno, že benzimidazoly podle tohoto vynálezu silně a specificky inhibují $\text{I}\kappa\text{B}$ kinázu.

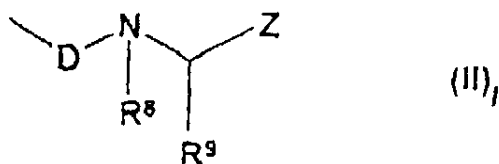
Podstata vynálezu

Předmětem vynálezu je substituovaný benzimidazol vzorce I



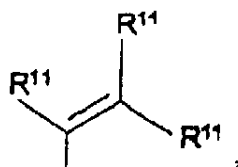
a/nebo stereoizomerní forma sloučeniny vzorce I a/nebo fyziologicky přijatelná sůl sloučeniny vzorce I, přičemž ve vzorci I

R^3 znamená radikál vzorce II



ve kterém

- 5 D znamená $-C(O)-$,
- R^8 znamená vodík nebo (C_1-C_4) -alkyl,
- 10 R^9 1. charakteristický radikál nativní α -aminokyseliny zvolené ze souboru sestávajícího z valinu, leucinu, methioninu, a histidinu,
2. (C_1-C_6) -alkyl, ve kterém je alkyl přímý a mono-substituován
- 15 2.1 arylem, kde aryl je aromatický uhlíkatý radikál mající 6 až 14 uhlíkových atomů v kruhu a zvolený ze souboru sestávajícího z fenylu, 1-naftylu a 2-naftylu, přičemž aryl je nesubstituován nebo substituován jedním, dvěma nebo třemi stejnými nebo odlišnými radikály ze souboru sestávajícího z (C_1-C_8) -alkylu, (C_1-C_8) -alkoxy, halogenu, nitro, amino, trifluormethylu, hydroxylu, kyano, hydroxykarbonylu, aminokarbonylu, fenylu fenoxi,
- 20 2.2 heteroarylem majícím 5 až 14 kruhových členů, kde heteroaryl je radikál zvolený ze souboru sestávajícího z pyrrolu, thiofenu, imidazolu, benzothiofenu, benzimidazolu, 1,3,4-oxadiazolu, pyridinu,
- 25 pyrimidinu, indolu a chinolinu, přičemž heteroaryl je nesubstituován nebo mono-substituován halogenem,
- 2.3 $-OR^{11}$,
- 2.4 $-CN$,
- 30 2.5 $-S(O)_x-R^{11}$, kde x znamená nulu, 1 nebo 2,
- 2.6 $-N(R^{11})_2$,
- 2.7 (C_3-C_6) -cykloalkylem,
- 2.8 radikálem vzorce



ve kterém

R^{11} znamená

- a) atom vodíku,
- b) (C_1-C_6) -alkyl, kde alkyl je nesubstituován nebo mono-substituován

1. arylem, kde aryl má výše definovaný význam a je nesubstituován,
2. $-N-(C_1-C_6)_n$ -alkylem, kde n znamená celé číslo 1 nebo 2 a alkyl je nesubstituován nebo mono-substituován halogenem,
3. $-O-(C_1-C_6)$ -alkylem,
- c) aryl, kde aryl má výše uvedený význam a je nesubstituován nebo substituován výše uvedeným způsobem,
- d) heteroaryl, kterým je morfolin nebo imidazol

Z znamená

1. 1,3,4-oxadiazol, kde 1,3,4-oxadiazol je nesubstituován nebo mono-substituován $-NH-C(O)-(C_1-C_4)$ -alkylem, $-NH-C(O)-NH-(C_1-C_4)$ -alkylem,
2. (C_1-C_6) -alkyl, kde alkyl je přímý a nesubstituován nebo mono-substituován $-OH$, nebo
3. $-C(O)-R^{10}$, kde
- R^{10} znamená
1. $-OR^{11}$,
 2. $-N(R^{11})_2$,

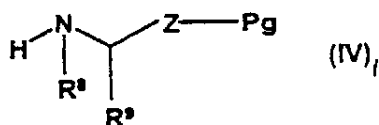
přičemž každý z ostatních substituentů R^1 , R^2 a R^4 znamenají atom vodíku,

R^5 znamená atom vodíku,

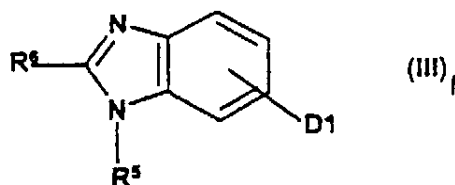
R^6 znamená pyridinyl, který je nesubstituován nebo substituován $-NH-(C_1-C_5)$ -alkylem, NH -fenylem, $-NH-(C_3-C_6)$ -cykloalkylem.

Sloučeniny obecného vzorce I a/nebo stereoizomerní formy sloučeniny obecného vzorce I a/nebo fyziologicky přijatelné soli sloučenin obecného vzorce I mohou být připraveny tak, že

a) sloučenina obecného vzorce IV,

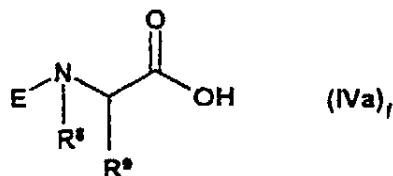


kde Pg je vhodná chránicí skupina (např. methylester), amidová skupina nebo hydroxyskupina a Z, R^8 a R^9 jsou definovány stejně jako u sloučeniny obecného vzorce II se nechá reagovat s chloridem kyseliny nebo aktivovaným esterem sloučeniny obecného vzorce III

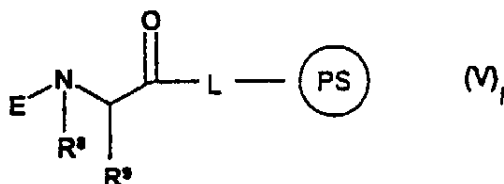


kde D1 označuje COOH nebo sulfonylhalogenovou skupinu a R^5 a R^6 jsou definovány stejně jako ve sloučenině vzorce I, v přítomnosti báze nebo případně v roztoku bezvodého rozpouštědla a po odštěpení chránicí skupiny se převede na sloučeninu I, nebo

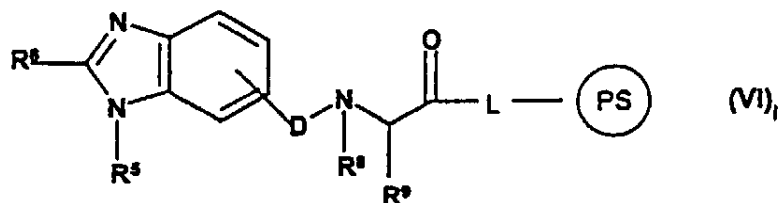
- 5 b) sloučenina obecného vzorce IVa



- 10 kde R^8 a R^9 jsou definovány stejně jako ve vzorci II a E označuje N-aminochránicí skupinu, se připojí přes její karboxylovou skupinu a spacer L na polymerní pryskyřici obecného vzorce PS, čímž vznikne sloučenina obecného vzorce V,



- 15 která se po selektivním odštěpení chránicí skupiny E nechá reagovat se sloučeninou vzorce III, kde R^5 a R^6 jsou definovány stejně jako ve vzorci I, v přítomnosti báze nebo popřípadě v bezvodých rozpouštědlech za vzniku sloučeniny vzorce VI,

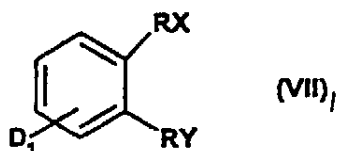


20

a sloučenina vzorce VI se po odštěpení od nosiče převede na sloučeninu vzorce I, nebo

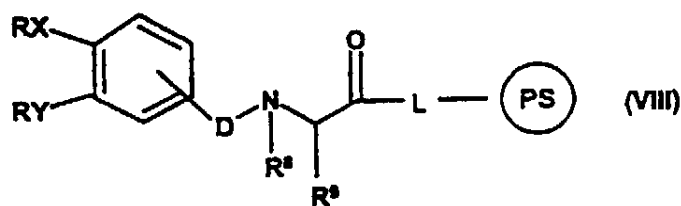
- c) se sloučenina vzorce V po selektivním odštěpení chránicí skupiny E nechá reagovat se sloučeninou vzorce VII,

25



kde D1 je -COOH nebo sulfonylhalogenová skupina a RX je halogen a RY je zbytek -NO₂ nebo -NHE a E je chránicí skupina, za vzniku sloučeniny vzorce VIII

30

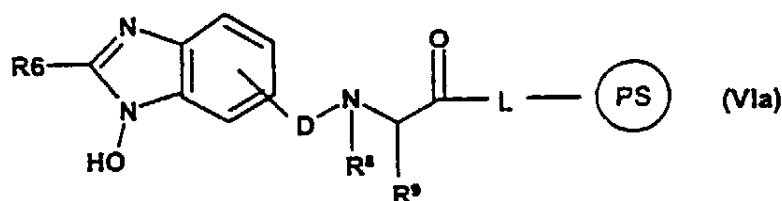


a na závěr se sloučenina vzorce VIII nechá reagovat se sloučeninou vzorce IX

5



kde R^6 je stejné jako v definici sloučeniny vzorce I, za vzniku meziprojektu obecného vzorce VIa,



10

a poté se meziprojekt vzorce VIa buď převede po odštěpení od nosiče na sloučeninu vzorce I nebo se např. působením tributylfosfinu redukuje na sloučeninu VI a po odštěpení od nosiče se převede na sloučeninu vzorce I, nebo

15

d) se sloučenina vzorce I převede na fyziologicky přijatelnou sůl.

Podle varianty provedení a) se kyselé funkce sloučeniny vzorce IVa opatří chránicí skupinou Pg, přičemž tato selektivní derivatizace karboxylových kyselin se provádí pomocí metod popsanych v Houben-Weyl „Methoden der Org. Chemie“, díl 15/1. Podle varianty způsobu výroby b) se aminofunkce výchozích sloučenin vzorce IVa opatří chránicí skupinou E, přičemž tyto selektivní derivatizace aminoskupiny se provádí podle metod popsanych v Houben-Weyl „Methoden der Org. Chemie“, díl 15/1.

Jako vhodné chránicí skupiny Pg jsou zejména použitelné chránicí skupiny karboxylové funkce, např. chránicí skupiny alkylesterového typu, jako třeba methyl-, ethyl-, terc-butyl-, isopopyl-, benzyl-, fluorenylmethyl-, allyl-, arylesterového typu, jako třeba fenyl-, amidového typu jako třeba amid- nebo benzhydrlamin. Jako vhodné chránicí skupiny E se používají především N-chránicí skupiny používané v peptidové chemii, například chránicí skupiny urethanového typu, jako třeba benzyloxykarbonyl (Z), terc-butoxykarbonyl (Boc), 9-fluorenylmethoxykarbonyl (Fmoc) a allyloxykarbonyl (Aloc) nebo typu amidu kyselin, obzvláště formyl, acetyl nebo trifluoracetyl nebo alkylového typu jako třeba benzyl.

Jako obzvláště vhodná se také osvědčila (trimethylsilyl)ethoxykarbonylová (Teoc) skupina (P. Kocienski, Protecting Groups, Thieme Verlag 1994).

Jako výchozí sloučeniny k přípravě benzimidazolových derivátů vzorce III slouží především 2,3- a 3,4-diaminobenzoová kyselina a aryl- nebo heteroarylaldehyd, které se spolu nechají reagovat v přítomnosti nitrobenzenu jako rozpouštědla při teplotě 145 °C. Dále byly jmenované kyseliny nechány reagovat s methyl- nebo ethylimidátem, získaným Pinnerovou reakcí z odpovídajících arylnitrilů nebo heteroarylnitrilů.

Ke kondenzaci sloučenin vzorce IV se sloučeninami vzorce III se s výhodou používají dobře známé kaplovací metody z oboru peptidové chemie (viz např. Houben-Weyl, Methoden der Orga-

nischen Chemie, díl 15/1 a 15/2, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1974). Jako kondenzační činidlo nebo kaplovací činidlo přicházejí v úvahu sloučeniny jako jsou karbonyldiimidazol, karbodiimidy jako třeba dicyklohexylkarbodiimid nebo diisopropylkarbodiimid (DIC), O-((kyano(ethoxykarbonyl)methylen)amino)-N,N,N',N'-tetramethyluronium-tetrafluorborát (TOTU) nebo anhydrid propanfosfonové kyseliny (PPA).

Kondenzace mohou být provedeny za standardních podmínek. Při kondenzacích je nezbytné pravidlo, že přítomná nereagující aminoskupina musí být ochráněna reversibilní chránicí skupinou. Totéž platí o karboxylových skupinách, které se nezúčastňují na reakci, jež se převádí na alkyl-estery mající 1 až 6 uhlíkových atomů, benzyloster nebo terc-butylester. Chránění aminokyseliny můžeme ušetřit, když použijeme aminoskupinu ve formě předstupně jako je nitroskupina nebo kyanoskupina a poté se po kondenzaci hydrogenací vytvoří aminoskupina. Po kondenzaci se existující chránicí skupiny odštěpí odpovídajícím způsobem. Například NO₂ skupiny (guanidinové chránicí skupiny u aminokyselin), benzyloxykarbonylové skupiny a benzylové skupiny v benzylesterech mohou být odhydrogenovány. Chránicí skupiny terc-butylového typu se odštěpí kyselé, zatímco 9-fluorenylmethyloxykarbonylový zbytek může být odstraněn sekundární aminy.

Polymerní nosič PS znázorněný ve vzorcích V a VI je příčně zesíťovaná polystyrenová pryskyřice se spojovacím řetězcem označeným jako L. Tento spojovací řetězec nese vhodnou funkční skupinu, například amin, pryskyřice je pak známa například jako Rinkova-amidová pryskyřice, nebo nese hydroxyskupinu, což je Wangova pryskyřice nebo Kaiserova oximová pryskyřice. Alternativně mohou být použity další polymerní nosiče jako je sklo, bavlna nebo celulóza s různými spojovacími řetězci L.

Spojovací řetězec L je připojen kovalentně na polymerní nosič a dovoluje reversibilní, amidické nebo esterové spojení se sloučeninou vzorce IVa, které během dalších přeměn na vázané sloučenině vzorce IVa zůstává stabilní; avšak za silně kyselých reakčních podmínek, např. mícháním s kyselinou trifluoroctovou, se skupina nacházející se na spojovacím článku opět odštěpí.

Odštěpení požadované sloučeniny obecného vzorce I od spojovacího řetězce může být provedeno v různých stupních reakčního schématu.

Příklady provedení vynálezu

A. Obecný postup připojování chráněných aminokyselin vzorce IVa k pevnému nosiči postupem b):

Syntéza byla prováděna v reaktorech s reakčním objemem 15 ml. Každý reaktor byl naplněn s 0,179 g Rink-Amid-AM pryskyřice (Fmoc-Rink-Amid AM/Nova-Biochem; zatížení 0,56 mmol/g, to jest 0,1 mmol/reaktor). Kvůli odštěpení Fmoc-chránicí skupiny od pryskyřice byl do každého reaktoru nadávkován 30% piperidin/DMF roztok a směs byla míchána 45 minut. Na závěr byla směs zfiltrována a pryskyřice byla promyta třikrát s dimethylformamidem (DMF).

Ke spojování chráněných aminokyselin na předem připravenou pryskyřici bylo přidáno 0,5 molární roztok odpovídající Fmoc-aminokyseliny (0,3 mmol v DMF), roztok HOBt (0,33 mmol v DMF) a roztok DIC (0,33 mmol v DMF) a směs byla míchána 16 h při teplotě 35 °C. Na závěr byla pryskyřice několikanásobně promyta s DMF.

K přezkoušení kaplingu byl odebrán jeden kužilek pryskyřice a byl podroben KAISER testu, ve všech případech byl test negativní.

Odštěpení Fmoc-chránicí skupiny bylo provedeno podle výše uvedeného postupu pomocí 30% roztoku piperidin/DMF.

Pro kapling benzimidazolových karboxylových kyselin byl nadávkován 0,1 molární roztok odpovídající 4- nebo 5-substituované kyseliny (0,4 mmol v DMF), 0,5 molární roztok DIPEA (0,6 mmol v DMF) a směs byla 16 hod míchána při teplotě 40 °C. Na závěr byla pryskyřice pro-
 myta několikanásobně pomocí DMF.

Kvůli kontrole reakce byl odebrán jeden kužilek pryskyřice a byl podroben KAISER testu.

K odštěpení požadované látky od pevného nosiče byla pryskyřice několikanásobně promyta dichlormethanem. Poté byl přidán štěpící roztok (50% dichlormethan a 50% směs z 95% TFA, 2% H₂O a 3% triisopropylsilanu) a směs byla míchána 1 h při teplotě místnosti. Směs byla zfiltrována a filtrát byl odpařen do sucha. Zbytek byl převeden do diethyletheru a zfiltrován.

Pevný zbytek obsahuje požadovaný produkt většinou ve vysoké čistotě nebo může být čištěn například pomocí preparativní vysokotlaké kapalinové chromatografie na reverzní fázi (Eluční činidlo: A:H₂O/0,1% TFA, B: acetonitril/0,1% TFA). Lyofilizace získaných frakcí poskytla požadovaný produkt.

Příprava fyziologicky přijatelných solí ze sloučenin obecného vzorce I popřípadě z jejich stereo-
 izomerů se provádí známým způsobem. Karboxylové kyseliny tvoří stabilní alkalické soli, soli alkalických zemin popř. substituované amoniové soli reakcí s bazickými činidly jako jsou hydroxidy, uhličitany, hydrogenuhličitany, alkoholáty popř. amoniak nebo organické báze, například trimethyl- nebo triethylamin, ethanolamin nebo triethanolamin nebo bazické aminokyseliny jako jsou Lysin, ornithin nebo arginin. Pokud sloučeniny obecného vzorce I obsahují bazické skupiny, mohou poskytovat se silnými kyselinami stabilní adiční soli kyselin. Zde přicházejí v úvahu anorganické popř. organické kyseliny jako jsou chlorovodík, bromovodík, kyselina sírová, kyselina fosforečná, kyselina methansulfonová, kyselina benzensulfonová, kyselina p-toluen-sulfonová, kyselina 4-brombenzensulfonová, kyselina cyklohexylamidomethansulfonová, kyselina tri-fluormethylsulfonová, kyselina octová, kyselina šťavelová, kyselina vinná, kyselina jantarová nebo kyselina trifluorooctová.

Vynález popisuje také léčiva, vyznačující se tím, že jako aktivní látku obsahují sloučeninu obecného vzorce I a/nebo fyziologicky přijatelnou sůl sloučeniny obecného vzorce I a/nebo popřípadě stereoizomerní formu sloučeniny obecného vzorce I, společně s farmaceuticky vhodným a fyziologicky přijatelným nosičem, přídatnou látkou a/nebo další aktivní a pomocnou látkou.

Na základě farmakologických vlastností se sloučeniny podle tohoto vynálezu hodí pro profylaxi a terapii takových onemocnění, na jejichž průběh má vliv zvýšená aktivita I_kB kinázy. K těm patří například astma, revmatická artritida (při zápalu), osteoartritida, Alzheimerova nemoc, rakovinné onemocnění (potenciování cytotoxických látek), srdeční infarkt, srdeční nedostatečnost, akutní koronární syndrom (nestabilní angína pectoris), septický šok, akutní a chronické nervové selhání, mrtvice nebo aterosklerosa.

Léčiva podle tohoto vynálezu je obecně možné podávat orálně nebo parenterálně. Rektální, inhalační nebo transdermální podávání je také možné.

Vynález se také zabývá způsobem výroby léčiv, vyznačujícím se tím, že se vytvoří vhodná dávková forma tak, že se spojí alespoň jedna sloučenina obecného vzorce I společně a farmaceuticky vhodným a fyziologicky přijatelným nosičem a popřípadě s další vhodnou aktivní látkou, přídatnou látkou nebo pomocnou látkou.

Vhodné pevné nebo galenické lékové formy představují např. granule, prášky, dražé, tabletové (mikro)kapsle, čípky, sirupy, šťávy, suspenze, emulze, kapky nebo injektovatelné roztoky, stejně jako preparáty s prodlouženým uvolňováním aktivní látky, při jejichž přípravě se používají obvyklé pomocné látky jako jsou nosiče, rozrušovací činidla, pojiva, povlakotvorné látky, bobt-

nací činidla, klouzky nebo mazadla, chuťové látky, sladidla a rozpouštědla. Jako hojně používané pomocné látky lze jmenovat uhličitán hořečnatý, oxid titaničitý, laktosu, mannitol a další cukry, talek, želatinu, škrob, celulózu a její deriváty, živočišné a rostlinné oleje jako jsou rybí tuk, slunečnicový olej, podzemnicový olej nebo sezamový olej, polyethylenglykol a rozpouštědla jako jsou sterilní voda a jednoduché nebo vícenásobné alkoholy jako je glycerin.

S výhodou se farmaceutické preparáty připravují a podávají v takových dávkových formách, kde každá jednotka obsahuje jako aktivní složku známé množství sloučeniny vzorce I podle tohoto vynálezu. U tuhých dávkových forem jako jsou tablety, kapsle, dražé nebo čípky může být tento obsah až 1000 mg, s výhodou od 50 do 300 mg a u injektovatelných roztoků v ampulové formě až 300 mg, s výhodou 10 mg až 100 mg.

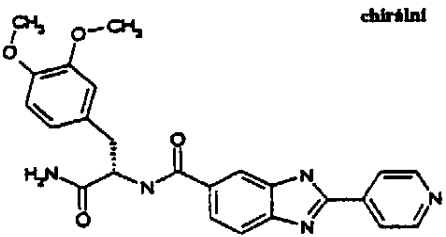
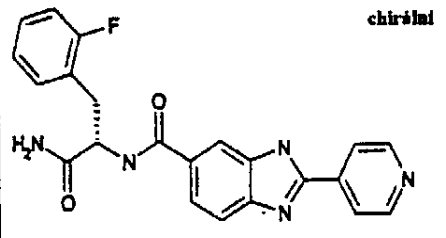
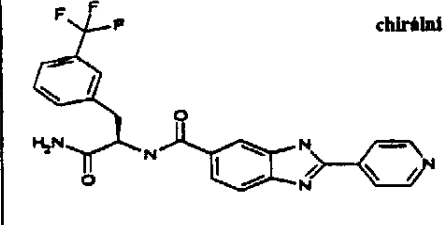
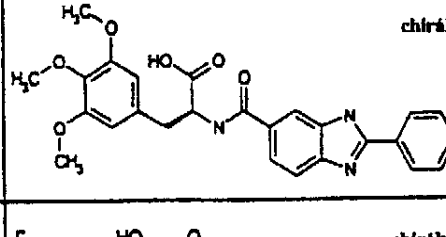
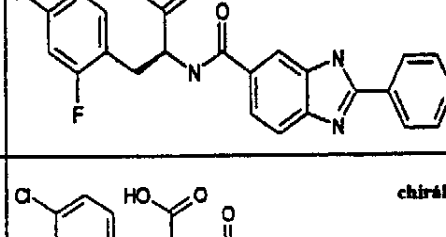
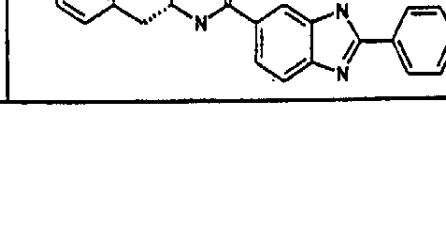
Při léčení dospělých, 70 kg těžkých pacientů, se indikuje podle účinnosti sloučeniny vzorce I podle tohoto vynálezu, denní dávka mezi 20 mg a 1000 mg aktivní látky, s výhodou 100 mg až 500 mg. Podle okolností mohou být podávány vyšší nebo nižší denní dávky. Podávání denní dávky může být prováděno pomocí jedné dávkové formy nebo pomocí několika menších dávek několikrát denně v odpovídajících intervalech.

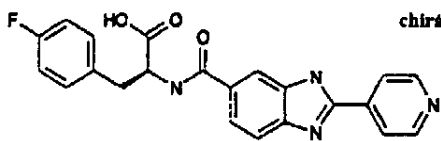
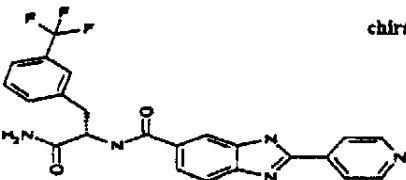
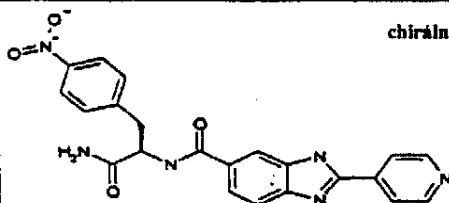
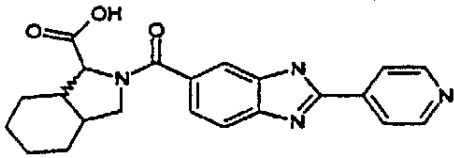
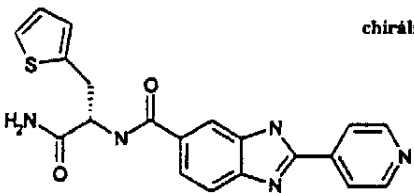
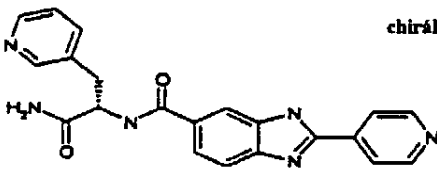
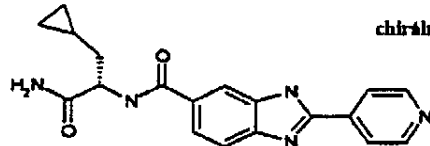
Koncové produkty byly určovány pomocí hmotově–spektroskopických metod (FAB, ESI–MS). Teplotní údaje jsou uvedeny ve stupních Celsia, RT označuje pokojovou teplotu (22 až 26 °C). Použité zkratky jsou buď vysvětleny nebo odpovídají obvyklým konvencím.

Příklad obecného postupu provedení podle varianty b) HPLC (RP 18, UV 210 nm): gradient 0 až 15 min, B = 5 až 75% (A = 100% H₂O/0,1% trifluoroctová kyselina, B = 100% acetonitril/0,1% trifluoroctová kyselina).

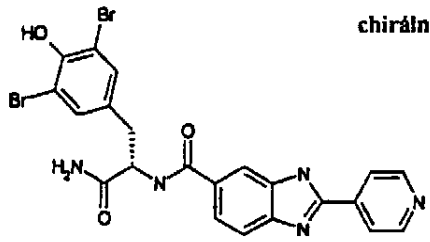
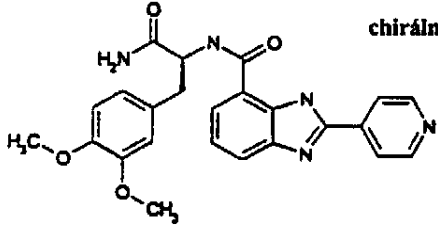
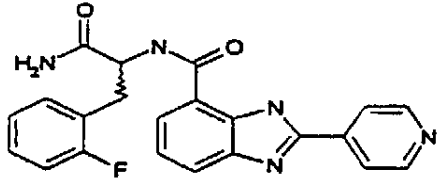
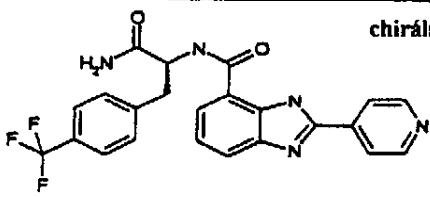
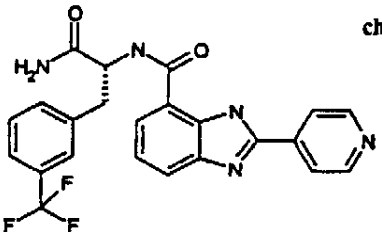
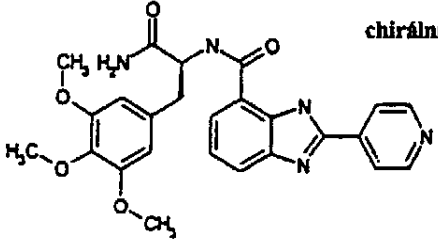
V tabulce 1 jsou uvedeny příklady sloučenin připravených analogicky podle obecného postupu provedení varianty b).

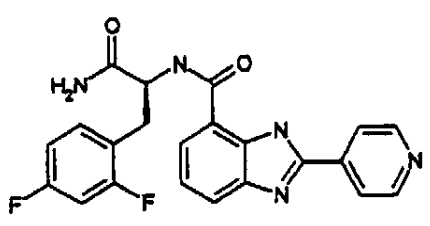
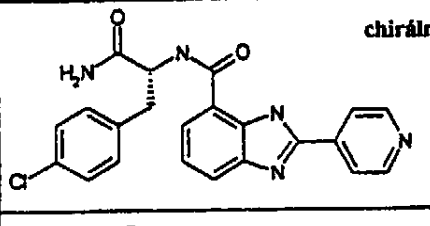
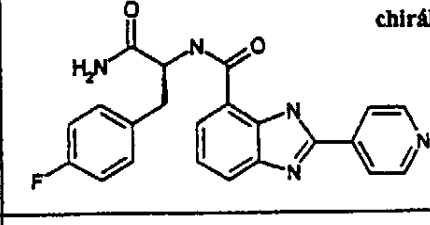
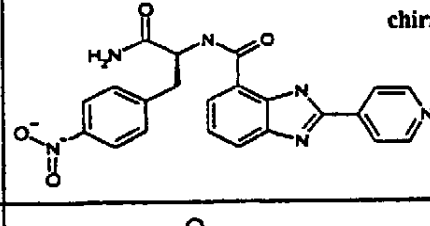
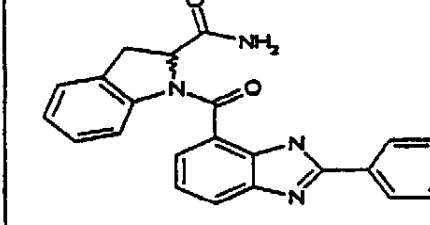
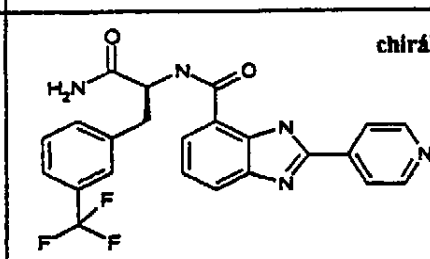
TABULKA 1

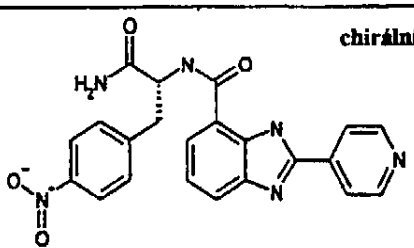
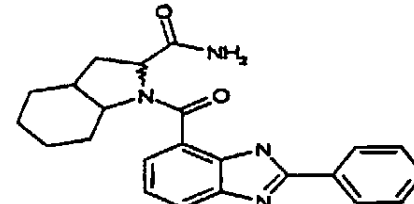
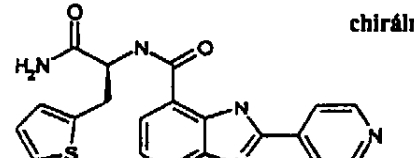
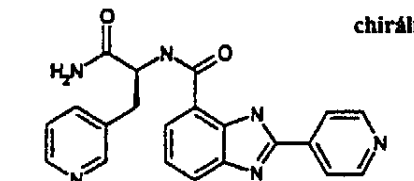
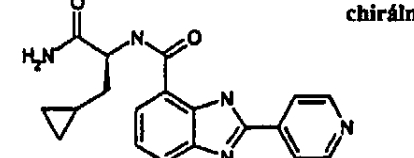
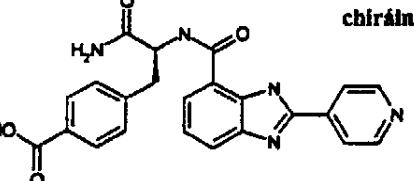
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
1	 chirální	$C_{24}H_{23}N_5O_4$	446,12	b)
2	 chirální	$C_{22}H_{18}FN_5O_2$	403,89	b)
3	 chirální	$C_{23}H_{18}F_3N_5O_2$	453,90	b)
4	 chirální	$C_{25}H_{24}N_4O_6$	476,1	b)
5	 chirální	$C_{22}H_{16}F_2N_4O_3$	422,03	b)
6	 chirální	$C_{22}H_{17}ClN_4O_3$	421,88 419,94	b)

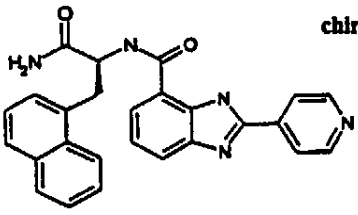
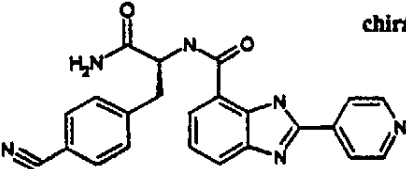
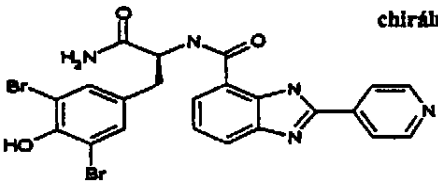
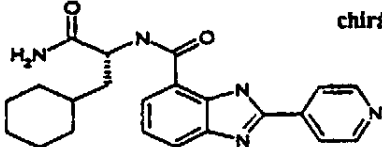
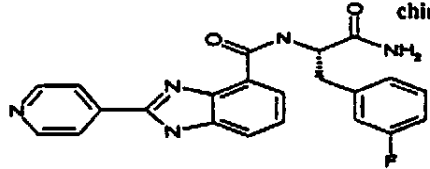
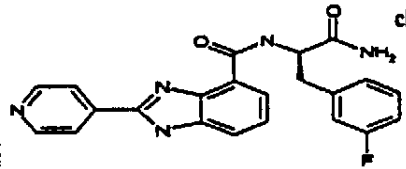
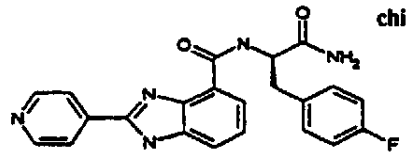
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
7	 chirální	$C_{22}H_{17}FN_4O_3$	403,87	b)
8	 chirální	$C_{23}H_{15}F_3N_5O_2$	453,91	b)
9	 chirální	$C_{22}H_{18}N_6O_4$	430,84	b)
10		$C_{22}H_{22}N_4O_3$	389,87	b)
11	 chirální	$C_{20}H_{17}N_5O_2S$	391,79	b)
12	 chirální	$C_{21}H_{18}N_6O_2$	387,22	b)
13	 chirální	$C_{19}H_{19}N_5O_2$	349,79	b)

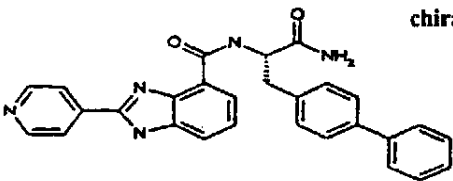
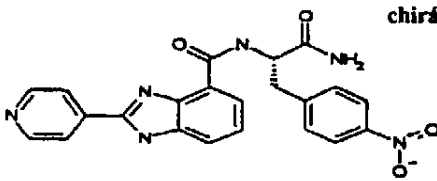
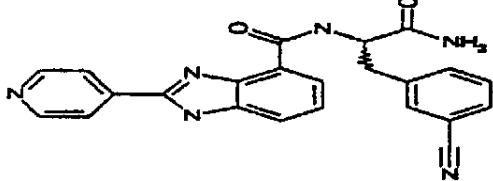
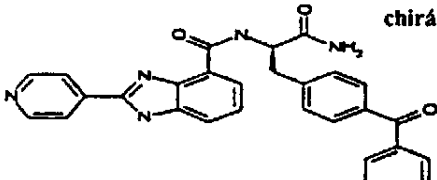
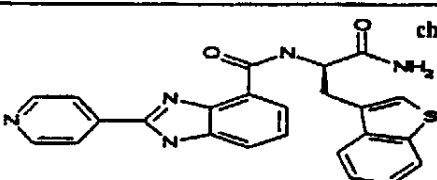
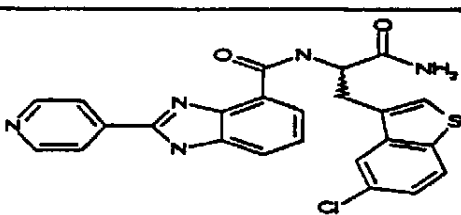
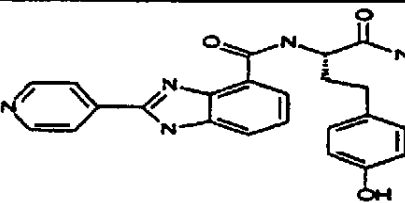
Přídav	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
14	<chem>NC(=O)[C@H](Cc1ccc(cc1)C(=O)O)N(C(=O)c2ccc3nc(cc3c2)c4cccnc4)</chem> chirální	$C_{23} H_{19} N_5 O_4$	430,04	b)
15	<chem>NC(=O)[C@H](Cc1ccc2ccccc2c1)N(C(=O)c3ccc4nc(cc4c3)c5cccnc5)</chem> chirální	$C_{26} H_{21} N_5 O_2$	435,89	b)
16	<chem>N#Cc1ccc(cc1)[C@H](C(=O)N)N(C(=O)c2ccc3nc(cc3c2)c4cccnc4)</chem> chirální	$C_{23} H_{18} N_6 O_2$	410,4352	b)
18	<chem>NC(=O)[C@H](Cc1ccccc1)N(C(=O)c2ccc3nc(cc3c2)c4cccnc4)</chem> chirální	$C_{22} H_{25} N_5 O_2$	392,18	b)
19	<chem>NC(=O)N1Cc2ccccc2C1N(C(=O)c3ccc4nc(cc4c3)c5cccnc5)</chem>	$C_{22} H_{17} N_5 O_2$	383,86	b)
20	<chem>NC(=O)[C@H](Cc1ccc2nc3ccccc3cc2c1)N(C(=O)c4ccc5nc(cc5c4)c6cccnc6)</chem> chirální	$C_{25} H_{20} N_6 O_2$	437,10	b)

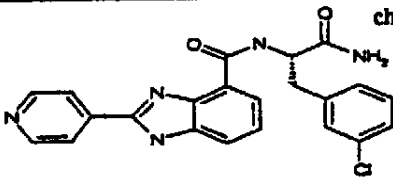
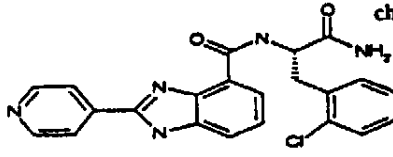
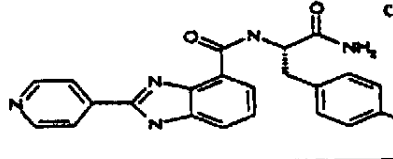
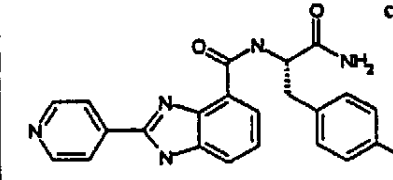
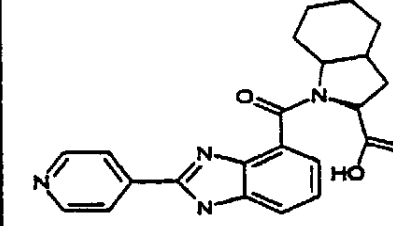
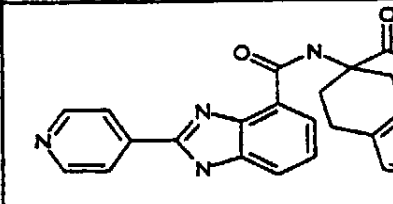
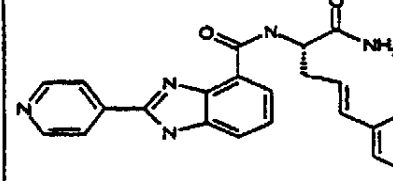
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	pozn.
21	 chirální	$C_{22}H_{17}Br_2N_5O_3$	559,94 561,82	b)
22	 chirální	$C_{24}H_{23}N_5O_4$	446,12	b)
23		$C_{22}H_{18}FN_5O_2$	403,96	b)
24	 chirální	$C_{23}H_{18}F_3N_5O_2$	454,08	b)
25	 chirální	$C_{23}H_{18}F_3N_5O_2$	453,99	b)
26	 chirální	$C_{25}H_{25}N_5O_5$	476,17	b)

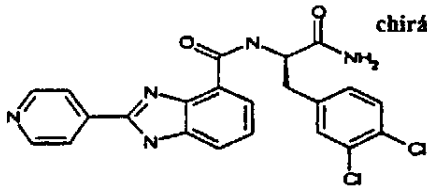
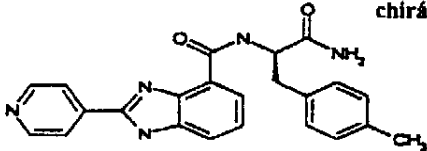
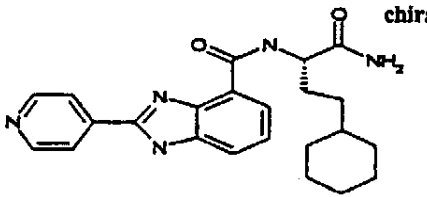
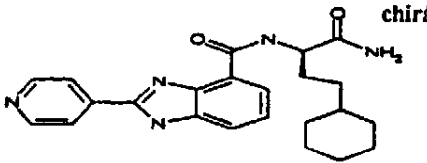
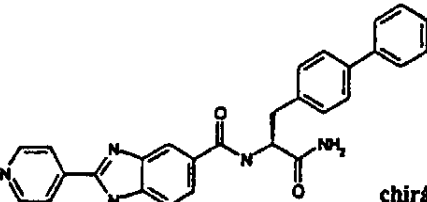
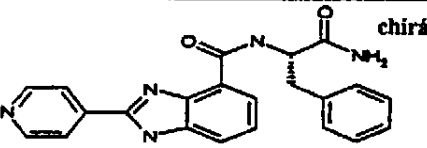
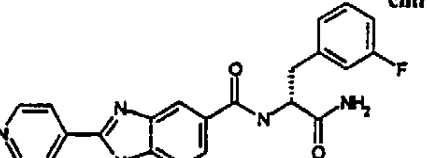
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
27	chirální 	$C_{22}H_{17}F_2N_5O_2$	421,31	b)
28	chirální 	$C_{22}H_{18}ClN_5O_2$	419,94	b)
29	chirální 	$C_{22}H_{18}FN_5O_2$	403,80	b)
30	chirální 	$C_{22}H_{18}N_6O_4$	431,07	b)
31		$C_{22}H_{17}N_5O_2$	383,74	b)
32	chirální 	$C_{23}H_{18}F_3N_5O_2$	453,97	b)

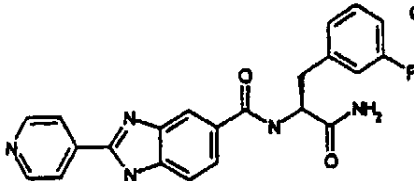
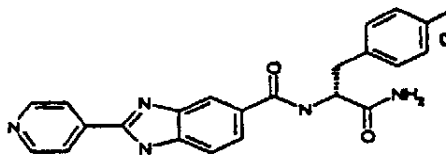
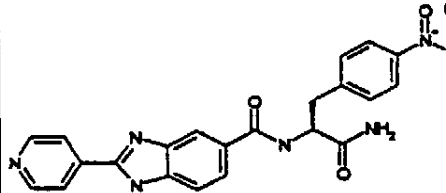
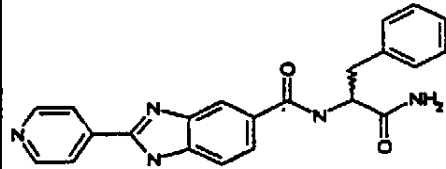
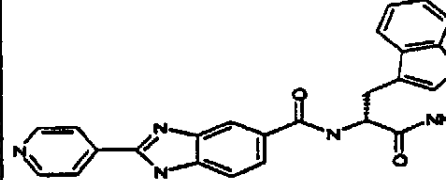
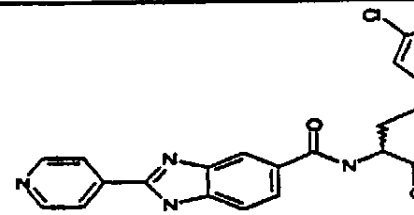
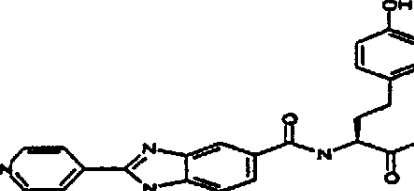
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
33	 chirální	$C_{22}H_{18}N_6O_4$	430,83	b)
34		$C_{22}H_{23}N_5O_2$	389,95	b)
35	 chirální	$C_{20}H_{17}N_5O_2S$	392,20	b)
36	 chirální	$C_{21}H_{18}N_6O_2$	387,04	b)
37	 chirální	$C_{19}H_{19}N_5O_2$	349,98	b)
38	 chirální	$C_{23}H_{19}N_5O_4$	429,74	b)

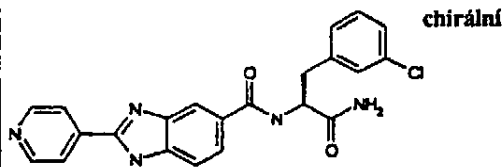
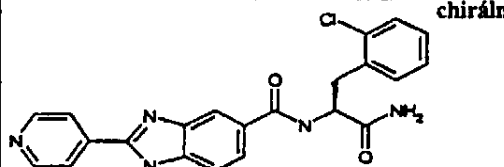
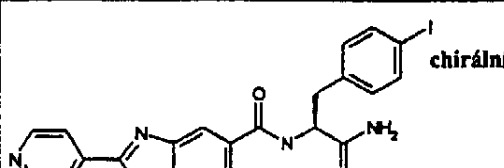
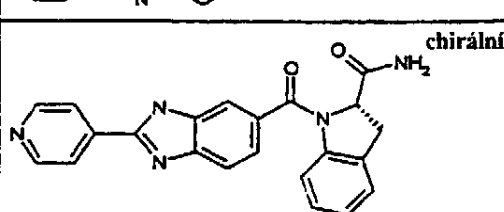
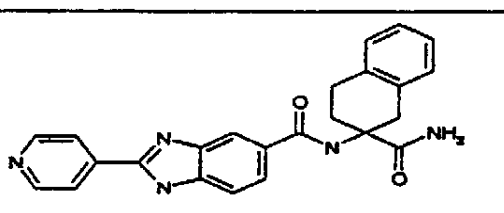
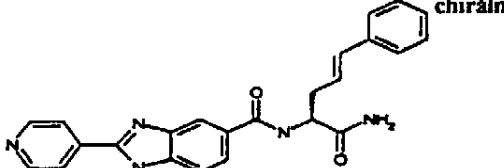
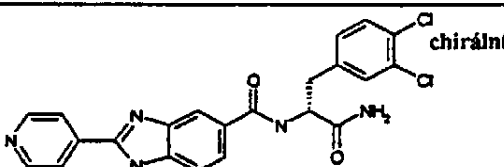
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
39	 chirální	$C_{26} H_{21} N_5 O_2$	435,90	b)
40	 chirální	$C_{23} H_{18} N_6 O_2$	410,44	b)
41	 chirální	$C_{22} H_{17} Br_2 N_5 O_3$	559,99 561,85	b)
42	 chirální	$C_{22} H_{25} N_5 O_2$	391,83	b)
43	 chirální	$C_{22} H_{18} F N_5 O_2$	404,17	b)
44	 chirální	$C_{22} H_{18} F N_5 O_2$	404,08	b)
45	 chirální	$C_{22} H_{18} F N_5 O_2$	403,88	b)

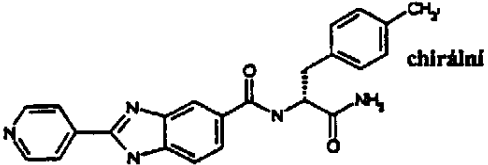
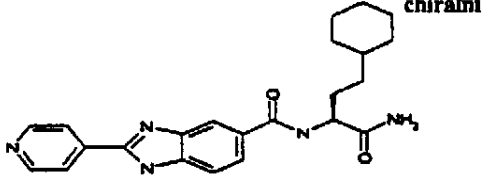
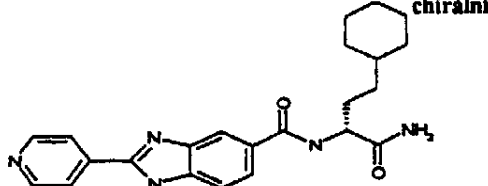
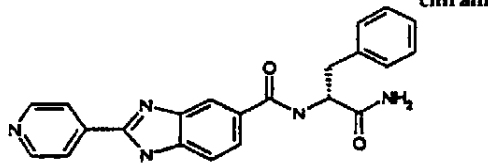
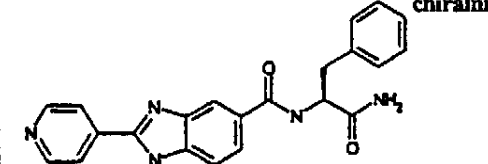
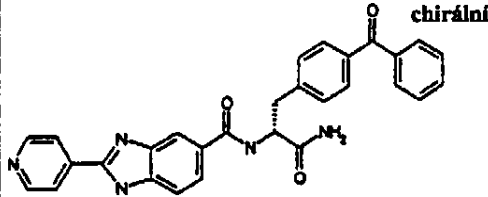
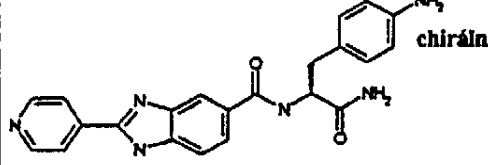
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	pozn.
46	 chirální	$C_{28}H_{23}N_5O_2$	462,18	b)
47	 chirální	$C_{22}H_{18}N_6O_4$	431,03	b)
48		$C_{23}H_{18}N_6O_2$	411,1	b)
49	 chirální	$C_{29}H_{23}N_5O_3$	489,93	b)
50	 chirální	$C_{24}H_{19}N_5O_2S$	442,1	b)
51		$C_{24}H_{18}ClN_5O_2S$	475,98	b)
52	 chirální	$C_{23}H_{21}N_5O_3$	416,27	b)

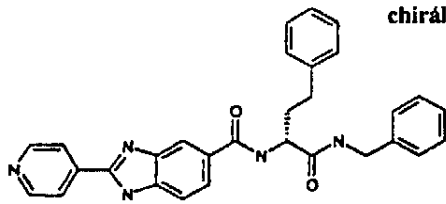
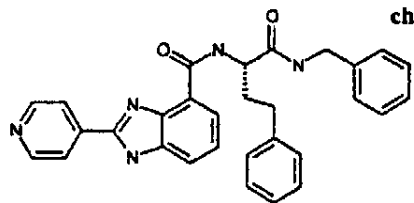
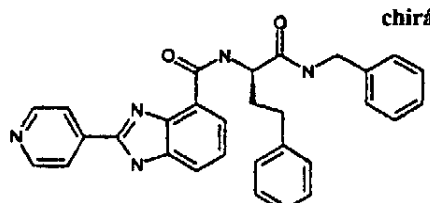
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
53	 chirální	$C_{22} H_{18} Cl N_5 O_2$	421,88 419,84	b)
54	 chirální	$C_{22} H_{18} Cl N_5 O_2$	421,91	b)
55	 chirální	$C_{22} H_{20} N_6 O_2$	400,94	b)
56	 chirální	$C_{22} H_{18} I N_5 O_2$	510,72	b)
57	 chirální	$C_{22} H_{22} N_4 O_3$	389,85	b)
58		$C_{24} H_{20} N_4 O_3$	411,88 413,14	b)
59	 chirální	$C_{24} H_{21} N_5 O_2$	412,01	b)

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
60	 chirální	$C_{22} H_{17} Cl_2 N_5 O_2$	456,02 454,13	b)
61	 chirální	$C_{23} H_{21} N_5 O_2$	400,14	b)
62	 chirální	$C_{23} H_{27} N_5 O_2$	406,21	b)
63	 chirální	$C_{23} H_{27} N_5 O_2$	406,12	b)
64	 chirální	$C_{28} H_{23} N_5 O_2$	462,21	b)
65	 chirální	$C_{22} H_{19} N_5 O_2$	385,67	b)
66	 chirální	$C_{22} H_{18} F N_5 O_2$	403,92	b)

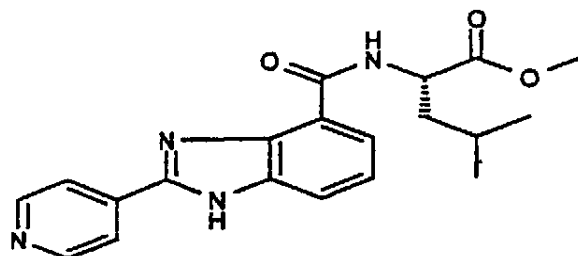
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
67	 chirální	$C_{22} H_{18} F N_5 O_2$	404,02	b)
68	 chirální	$C_{22} H_{16} F_2 N_5 O_2$	404	b)
69	 chirální	$C_{22} H_{16} N_6 O_4$	430,96	b)
70	 chirální	$C_{23} H_{18} N_6 O_2$	411,04	b)
71	 chirální	$C_{24} H_{19} N_5 O_2 S$	441,81	b)
72	 chirální	$C_{24} H_{18} Cl N_5 O_2$ S	477,96 475,97	b)
73	 chirální	$C_{23} H_{21} N_5 O_3$	416,13	b)

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
74		$C_{22}H_{18}ClN_5O_2$	419,98 421,90	b)
75		$C_{22}H_{18}ClN_5O_2$	420,12	b)
76		$C_{22}H_{18}IN_5O_2$	512,06	b)
77		$C_{22}H_{17}N_5O_2$	384,1	b)
78		$C_{24}H_{21}N_5O_2$	412,1	b)
79		$C_{24}H_{21}N_5O_2$	412,07	b)
80		$C_{22}H_{17}Cl_2N_5O_2$	456,05 453,89	b)

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
81	 chirální	$C_{23} H_{21} N_5 O_2$	399,95	b)
82	 chirální	$C_{23} H_{27} N_5 O_2$	406,04	b)
83	 chirální	$C_{23} H_{27} N_5 O_2$	405,87	b)
84	 chirální	$C_{22} H_{19} N_5 O_2$	385,78	b)
85	 chirální	$C_{22} H_{19} N_5 O_2$	385,78	b)
86	 chirální	$C_{29} H_{23} N_5 O_3$	490,1	b)
87	 chirální	$C_{22} H_{20} N_6 O_2$	400,44	b)

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
88	 chirální	$C_{30} H_{27} N_5 O_2$	490,3	b)
89	 chirální	$C_{30} H_{27} N_5 O_2$	490,27	b)
90	 chirální	$C_{30} H_{27} N_5 O_2$	490,22	b)

Příklad 91 (2-(Pyrid-4-yl)-1H-benzoimidazol-4-karbonyl)-(L)-leucin-methylester (1)



Amonná sůl 3-nitroftalamidové kyseliny (1a)

- 10 Anhydrid 3-nitroftalové kyseliny (100 g, 518 mmol) byl při teplotě místnosti rychle smíchán se 170 ml koncentrovaného roztoku hydroxidu amonného a směs byla míchána 1 h při teplotě místnosti. Sraženina byla zfiltrována a sušena v exsikátoru. Výtěžek: 95,6 g (88 %).

2-Amino-3-nitrobenzoová kyselina (1b)

- 15 Amonná sůl 3-nitroftalamidové kyseliny (1a) (22 g, 105,2 mmol) byla smíchána se 165 ml roztoku natrium-hypochloritu. Po 5 minutách byl přidán roztok 8,8 g hydroxidu sodného ve 22 ml vody a směs byla zahřívána 1 h na teplotu 70 °C. Suspenze byla za míchání nalita do 500 ml vody. Vzniklý čirý roztok byl okyselen pomocí koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Sraženina byla odfiltrována a sušena v exsikátoru. Výtěžek: 9,68 g (51 %).
- 20

2,3-Diaminobenzenová kyselina (1c)

2-Amino-3-nitrobenzoová kyselina (1b) (14 g, 76,9 mmol) byla rozpuštěna v 500 ml methanolu a směs byla hydrogenována pomocí Pd/C a vodíku. Po 4 h byla směs zfiltrována od katalyzátoru a byla odpařena. Byla získána tuhá látka tmavě hnědé barvy. Výtěžek: 11,67 g (99 %).

(2-Pyridyl-4-yl)-1H-benzimidazol-4-karboxylová kyselina (1d)

2,3-Diaminobenzoová kyselina (1c) (700 mg, 4,6 mmol) a 0,47 ml (4,95 mmol) 4-pyridyl-aldehydu byly rozpuštěny ve 40 ml nitrobenzenu a byly zahřívány 2 h na teplotu 145 °C. Poté byla směs ochlazená a sraženina byla zfiltrována. Sraženina byla poté promyta octanem ethylným a sušena v exsikátoru.

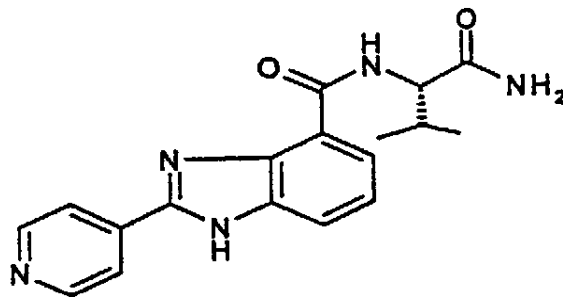
Výtěžek: 800 mg (73 %).

((2-Pyridyl-4-yl)-1H-benzimidazol-4-karbonyl)-(L)-leucinmethylester (1).

120 mg (0,5 mmol) ((2-pyridyl-4-yl)-1H-benzimidazol-4-karboxylové kyseliny (1d) a 84 mg (0,5 mmol) H-(L)-leucinmethylesteru bylo rozpuštěno v 5 ml DMF. Pak bylo přidáno 164 mg (0,5 mmol) TOTU (O-[(kyano(ethoxykarbonyl)methyliden)amino-1,1,3,3-tetramethyl]uronium-tetrafluorborát) a 0,086 ml diisopropylethylaminu a směs byla 3 h míchána při teplotě místnosti. Sraženina byla zfiltrována a filtrát byl odpařen. Zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu, promyt s vodou, organická fáze byla sušena nad bezvodým síranem sodným a byla odpařena. Výtěžek: 180 mg (98%). $(M+H)^+ = 367,1$ (Cl^-).

Příklad 92

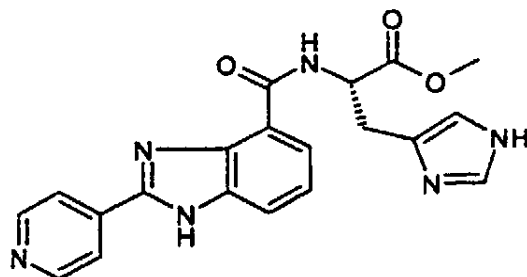
((2-Pyridyl-4-yl)-1H-benzimidazol-4-karbonyl)-(L)-valinamid



120 mg (0,5 mmol) ((2-pyridyl-4-yl)-1H-benzimidazol-4-karboxylové kyseliny (1d) a 76,4 mg (0,05 mol) H-(L)-valinamidu bylo rozpuštěno v 5 ml DMF. Pak bylo přidáno 164 mg (0,5 mmol) TOTU (O-[(kyano(ethoxykarbonyl)methyliden)amino-1,1,3,3-tetramethyl]uronium-tetrafluorborát) a 0,086 ml diisopropylethylaminu a směs byla míchána 3 h při teplotě místnosti. Sraženina byla zfiltrována a filtrát byl odpařen. Zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu a byl promyt nasyceným roztokem chloridu sodného, organická fáze byla sušena bezvodým síranem sodným a odpařena. Výtěžek: 168 mg (99 %). $(M+H)^+ = 338,2$ (Cl^-).

Příklad 93

((2-Pyridyl-4-yl)-1H-benzimidazol-4-karbonyl)-(S)-histidinmethylester (3)

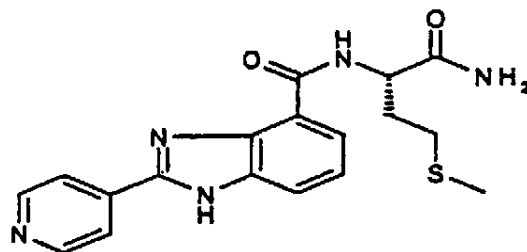


((2-Pyridyl-4-yl)-1H-benzimidazol-4-karbonyl)-(L)-histidin(Trt)-methylester (3a).

- 120 mg (0,5 mmol) (2-pyridyl-4-yl)-1H-benzimidazol-4-karboxylové kyseliny (1d) a 242 mg (0,5 mol) H-(L)-histidin(Trt)-methylesteru bylo rozpuštěno v 5 ml DMF. Pak bylo přidáno 164 mg TOTU a 0,172 ml diisopropylethylaminu a směs byla míchána 3 h při teplotě místnosti. Čirý roztok byl odpařen. Zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu, promyt vodou, organická fáze byla sušena nad bezvodým síranem sodným a odpařena. Výtěžek: 380 mg surového produktu. (M+H)⁺ = 633,3 (ES⁺).

Příklad 94

- ((2-Pyridyl-4-yl)-1H-benzimidazol-4-karbonyl)-(L)-methioninamid (4)

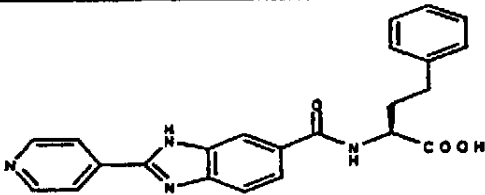
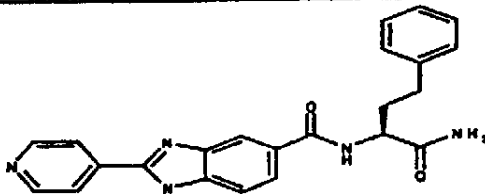
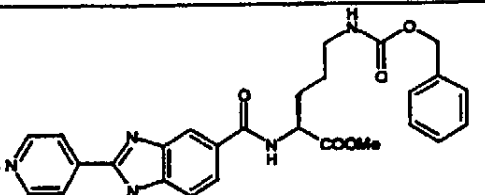
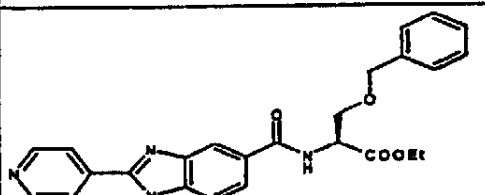
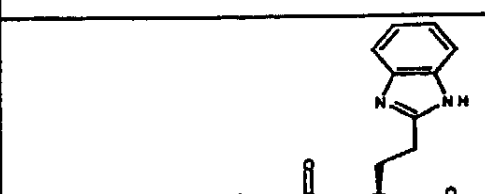
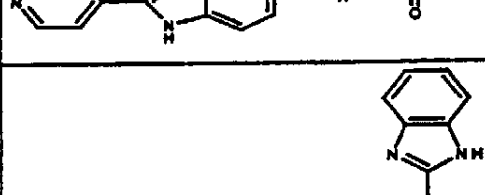


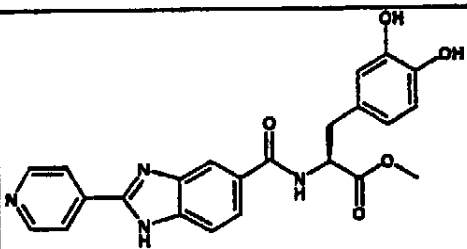
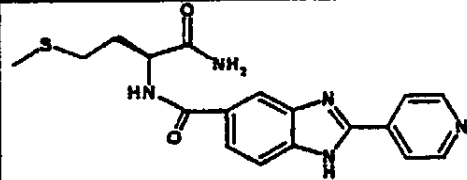
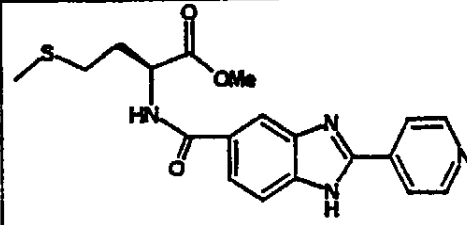
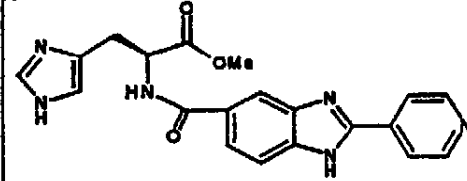
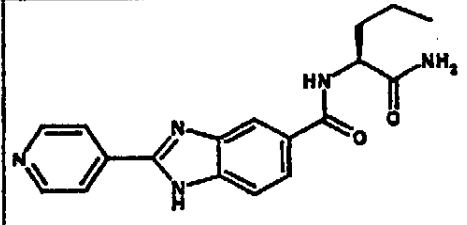
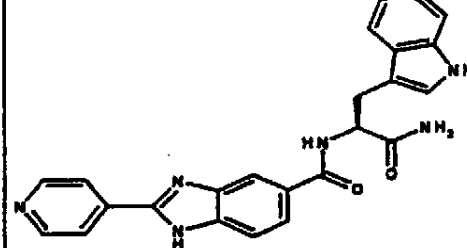
- 120 mg (0,5 mmol) (2-pyridyl-4-yl)-1H-benzimidazol-4-karboxylové kyseliny (1d) a 74,2 mg (0,5 mol) H-(L)-methioninamidu bylo rozpuštěno v 5 ml DMF. Pak bylo přidáno 164 mg TOTU a 0,086 ml diisopropylethylaminu a směs byla míchána 3 h při teplotě místnosti. Čirý roztok byl odpařen. Zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu, promyt nasyceným roztokem chloridu sodného, organická fáze byla sušena nad bezvodým síranem sodným a odpařena. Výtěžek: 149 mg (81 %). (M+H)⁺ = 370,2 (ES⁺).

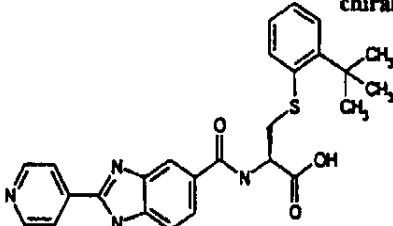
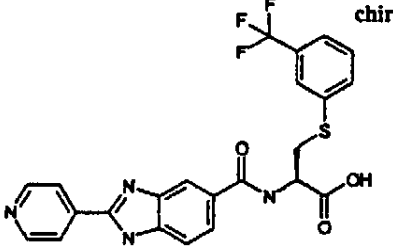
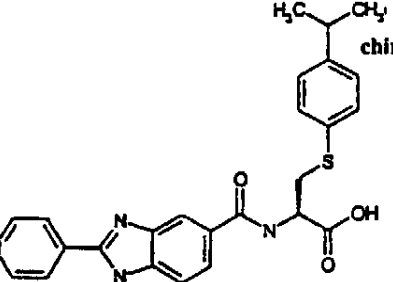
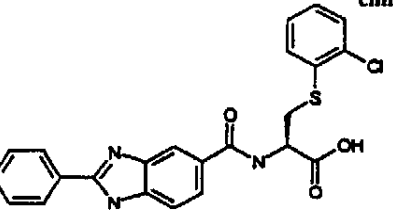
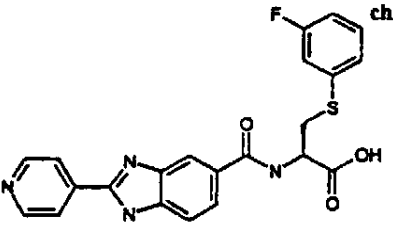
Příklady uvedené v následující Tabulce 2 byly připraveny analogicky k příkladům 91 až 94.

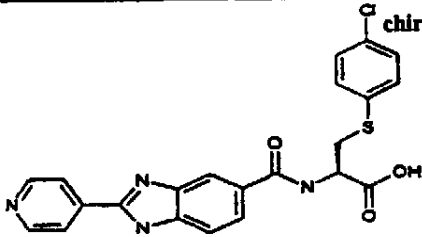
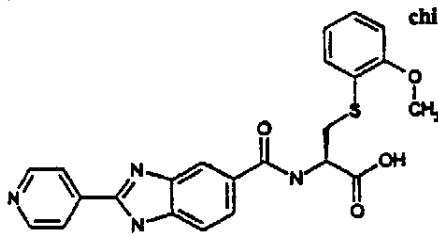
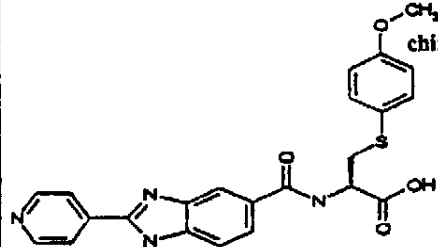
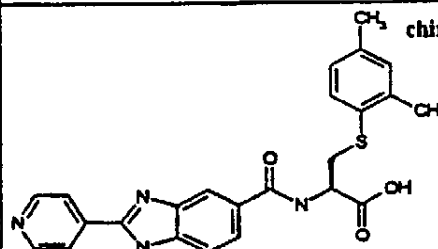
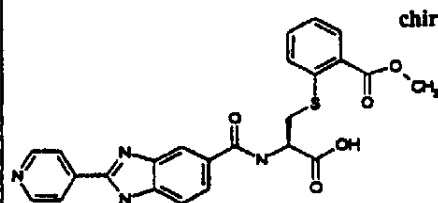
Tabulka 2

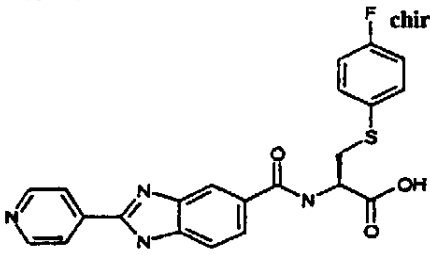
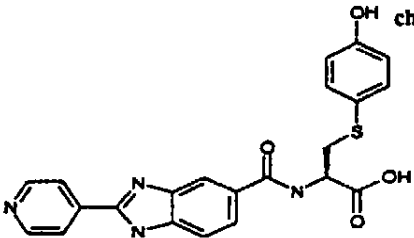
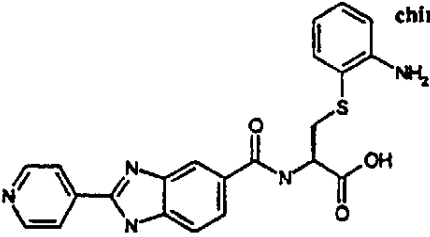
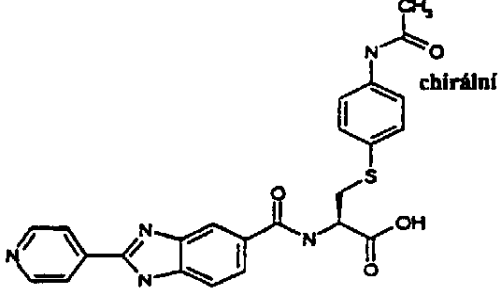
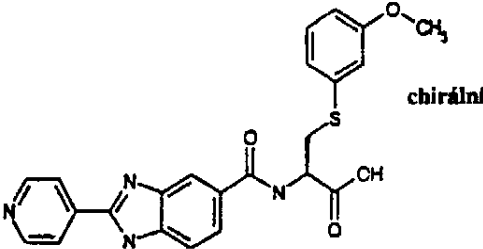
Přidat	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
95		M.W. = 366,42 C ₂₀ H ₂₂ N ₄ O ₃	367,1	varianta postupu přípravy a)
96		M.W. = 351,41 C ₁₉ H ₂₁ N ₅ O ₂	352,2	a)
97		M.W. = 337,38 C ₁₈ H ₁₉ N ₅ O ₂	338,2	a)
98		M.W. = 451,49 C ₂₆ H ₂₁ N ₅ O ₃	452,2	a)
99		M.W. = 436,48 C ₂₅ H ₂₀ N ₅ O ₂	437,2	a)
100		M.W. = 466,52 C ₂₇ H ₂₃ N ₅ O ₃	466,2	a)

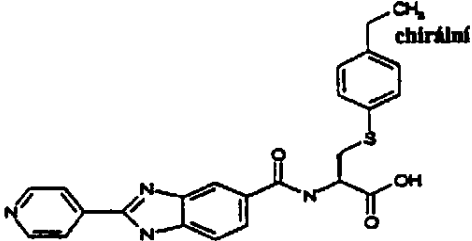
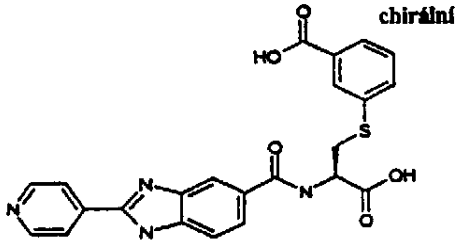
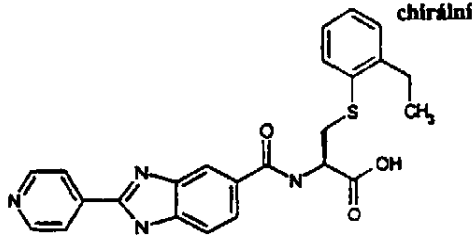
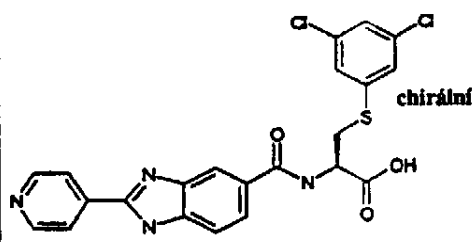
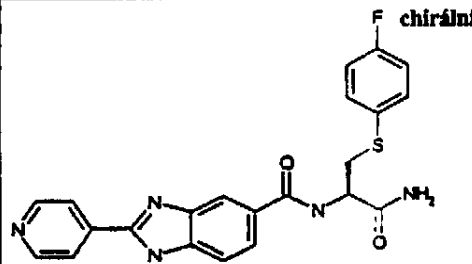
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
101		M.W. = 400,44 C ₂₃ H ₂₀ N ₄ O ₃	401,2	a)
102		M.W. = 399,46 C ₂₃ H ₂₁ N ₅ O ₂	400,2	a)
103		M.W. = 501,55 C ₂₇ H ₂₇ N ₅ O ₅	502,3	a)
104		M.W. = 444,49 C ₂₅ H ₂₄ N ₄ O ₄	445,3	a)
105		M.W. = 454,49 C ₂₅ H ₂₂ N ₆ O ₃	455,1	a)
106		M.W. = 439,48 C ₂₄ H ₂₁ N ₇ O ₂	440,2	a)

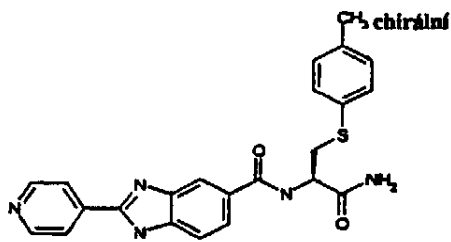
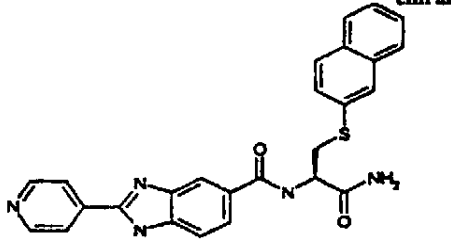
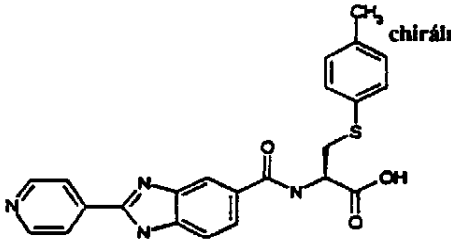
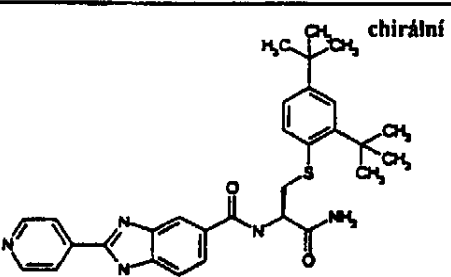
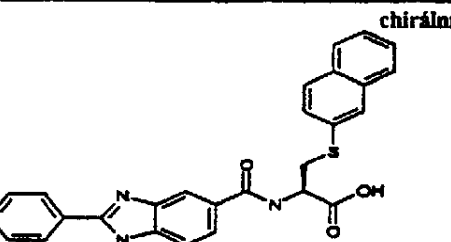
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
107		M.W. = 432,44 C ₂₃ H ₂₀ N ₄ O ₅	433,2	a)
108		M.W. = 369,45 C ₁₈ H ₁₉ N ₅ O ₂ S	370,1	a)
109		M.W. = 384,46 C ₁₉ H ₂₀ N ₄ O ₃ S	385,1	a)
110		M.W. = 390,40 C ₂₀ H ₁₈ N ₆ O ₃	391,1	a)
111		M.W. = 337,38 C ₁₈ H ₁₉ N ₅ O ₂	338,2	a)
112		M.W. = 424,47 C ₂₄ H ₂₀ N ₆ O ₂	425,2	a)

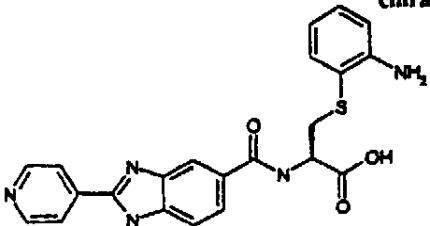
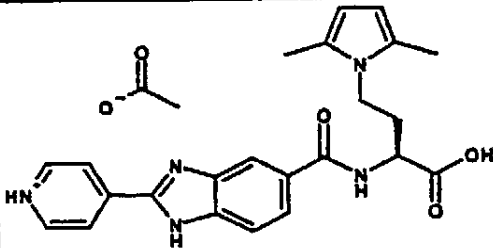
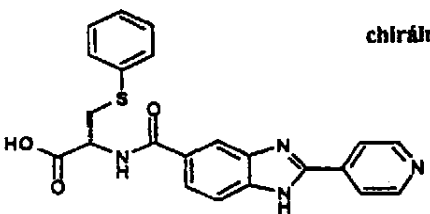
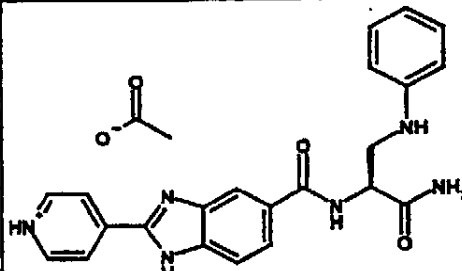
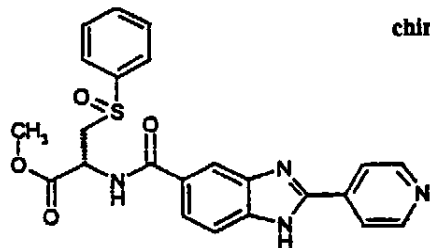
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
113		M.W. = 474,59 $C_{26} H_{26} N_4 O_3 S$	476	a)
114		M.W. = 486,48 $C_{27} H_{17} F_3 N_4 O_3 S$	487	a)
115		M.W. = 460,56 $C_{25} H_{24} N_4 O_3 S$	462	a)
116		M.W. = 452,92 $C_{22} H_{17} Cl N_4 O_3 S$	454	a)
117		M.W. = 436,47 $C_{22} H_{17} F N_4 O_3 S$	437	a)

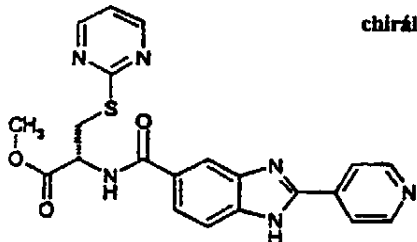
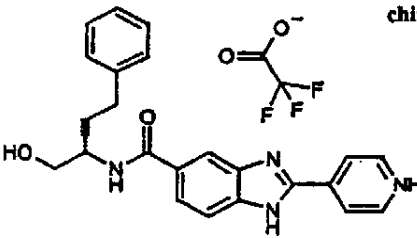
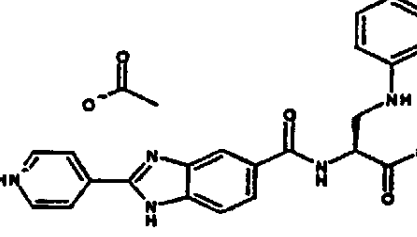
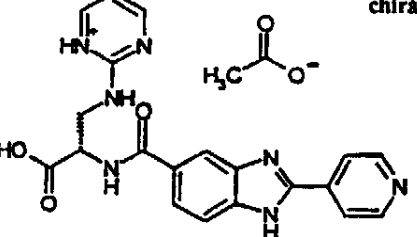
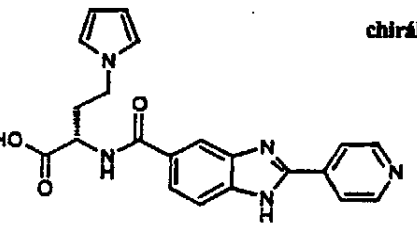
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
118		M.W. = 452,92 $C_{22} H_{17} Cl N_4 O_3 S$	454	a)
119		M.W. = 448,50 $C_{23} H_{20} N_4 O_4 S$	449	a)
120		M.W. = 448,50 $C_{23} H_{20} N_4 O_4 S$	449	a)
121		M.W. = 446,53 $C_{24} H_{22} N_4 O_3 S$	447	a)
122		M.W. = 476,51 $C_{24} H_{20} N_4 O_5 S$	477	a)

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
123		M.W. = 436,47 $C_{22}H_{17}FN_4O_3S$	437	a)
124		M.W. = 434,48 $C_{22}H_{18}N_4O_4S$	435	a)
125		M.W. = 433,49 $C_{22}H_{19}N_5O_3S$	434	a)
126		M.W. = 475,53 $C_{24}H_{21}N_5O_4S$	476	a)
127		M.W. = 448,50 $C_{23}H_{20}N_4O_4S$	449	a)

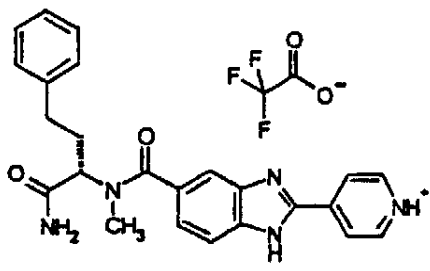
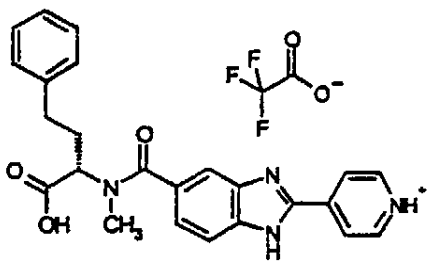
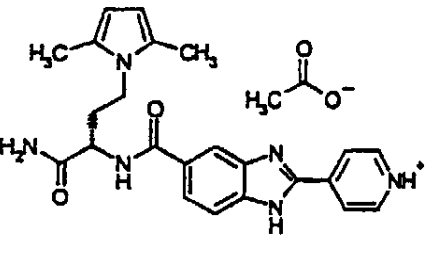
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
128		M.W. = 446,53 $C_{24} H_{22} N_4 O_3 S$	447	a)
129		M.W. = 462,49 $C_{23} H_{18} N_4 O_5 S$	463	a)
130		M.W. = 446,53 $C_{24} H_{22} N_4 O_3 S$	447	a)
131		M.W. = 487,37 $C_{22} H_{16} Cl_2 N_4 O_3 S$	488	a)
132		M.W. = 435,48 $C_{22} H_{16} F N_5 O_2 S$	436	a)

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
133		M.W. = 431,52 C ₂₃ H ₂₁ N ₅ O ₂ S	432	a)
134		M.W. = 467,55 C ₂₈ H ₂₁ N ₅ O ₂ S	468	a)
135		M.W. = 432,50 C ₂₃ H ₂₀ N ₄ O ₃ S	433	a)
136		M.W. = 529,71 C ₃₀ H ₃₅ N ₅ O ₂ S	531	a)
137		M.W. = 468,54 C ₂₈ H ₂₀ N ₄ O ₃ S	469	a)

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
138	chirální 	M.W. = 433,49 C₂₂ H₁₉ N₅ O₃ S	434	a)
139		M.W. = 417,47 C₂₃ H₂₃ N₅ O₃	418,3	a)
140	chirální 	M.W. = 418,48 C₂₂ H₁₈ N₄ O₃ S	419,2	a)
141		M.W. = 400,44 C₂₂ H₂₀ N₅ O₂	401,2	a)
142	chirální 	M.W. = 448,50 C₂₃ H₂₀ N₄ O₄ S	449,3	a)

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
143	chirální 	M.W. = 434,48 C₂₁ H₁₈ N₆ O₃ S	435,5	a)
144	chirální 	M.W. = 386,46 C₂₃ H₂₂ N₄ O₂	387,2	a)
145		M.W. = 401,43 C₂₂ H₁₉ N₅ O₃	402,2	a)
146	chirální 	M.W. = 403,40 C₂₀ H₁₇ N₇ O₃	404,2	a)
147	chirální 	M.W. = 389,42 C₂₁ H₁₉ N₅ O₃	390,2	a)

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
148	chirální	M.W. = 349,35 C₁₈ H₁₅ N₃ O₃	350,3	a)
149	chirální	M.W. = 436,49 C₂₂ H₂₀ N₄ O₄ S	437,0	a)
150	chirální	M.W. = 402,41 C₂₂ H₁₈ N₄ O₄	403,0	a)
151	chirální	M.W. = 401,43 C₂₂ H₁₉ N₅ O₃	402,0	a)
152		M.W. = 370,46 C₂₃ H₂₂ N₄ O	371,2	a)

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
153		M.W. = 413,48 C ₂₄ H ₂₃ N ₅ O ₂	414	a)
154		M.W. = 414,47 C ₂₄ H ₂₂ N ₄ O ₃	415,2	a)
155		M.W. = 416,49 C ₂₃ H ₂₄ N ₆ O ₂	417,3	a)

Příklad 156

5

Následující sloučeniny byly připraveny pomocí varianty přípravy a):

a) Příprava 2-fluorisonikotinové kyseliny

- 10 5,00 g (45 mmol) 2-fluor-4-methylpyridinu a 1,00 g (17 mmol) KOH bylo vloženo do 50 ml pyridinu a bylo zahříváno k refluxu. Pak bylo při této teplotě během 30 minut po částech přidáno 20,00 g (127 mmol) manganistanu draselného a směs byla zahřívána k refluxu další 1,5 hod. Nakonec byla směs ochlazená v ledové lázni, bylo přilito 100 ml vody a směs byla okyselena na
- 15 pH 1 pomocí koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Po přidání 100 ml ethylacetátu byl nerozpuštěný zbytek odfiltrován a vodná fáze byla dvakrát extrahována se 100 ml ethylacetátu. Spojené ethylacetátové fáze byly sušeny nad síranem hořečnatým byly odpařeny za sníženého tlaku. Bylo získáno 2,70 g 2-fluorisonikotinové kyseliny. Výtěžek: 42 %.

b) Příprava (2-fluorpyridin-4-yl)methanolu

20

- 12,60 g (89 mmol) 2-fluorisonikotinové kyseliny bylo uvedeno společně se 13,3 ml (95 mmol) triethylaminu do 300 ml toluenu a bylo přidáno 9,08 ml (95 mmol) ethylchlormravenčanu a směs byla 1 h míchána při teplotě 20 °C až 23 °C. Poté byl odfiltrován triethylamonium chlorid a toluenová fáze byla odpařena za sníženého tlaku. Zbytek byl dán do 200 ml absolutního tlaku
- 25 THF a byl ochlazen na -78 °C. Při této teplotě byla přikapána suspenze lithiualuminium hydridu (3,55 g, 95 mmol) v THF a směs byla míchána dalších 30 minut. Poté byla reakční směs pone-

chána zahřát na teplotu místnosti a byla nalita do 1 l studené vody. Směs byla extrahována 4x 300 ml ethylacetátu, ethylacetátové extrakty byly sušeny nad síranem hořečnatým a byly odpařeny. Surový produkt byl čištěn střednětlakou chromatografií (CH_2Cl_2 :MeOH 9:1) za vzniku 5,10 g (40 mmol) požadovaného produktu. Výtěžek: 45 %.

5

c) Příprava 2-fluorpyridin-4-karbaldehydu

K roztoku 4,6 ml (54 mmol) oxalylchloridu a 7,6 ml (106 mmol) dimethylsulfoxidu (DMSO) ve 450 ml dichlormethanu byl při -78°C přikapán roztok 5 g (39 mmol) (2-fluorpyridin-4-yl)-methanolu v dichlormethanu a směs byla poté míchána 15 minut. Na závěr bylo přidáno 24 ml (180 mmol) triethylaminu a reakční směs byla pomalu zahřata na teplotu místnosti. Směs byla vylita do 500 ml vody a byla promyta 10% citronovou kyselinou (200 ml) a 10% roztokem uhlíčitanu sodného. Dichlormethanové vrstvy byly sušeny nad síranem hořečnatým a poté odpařeny do sucha za sníženého tlaku. Výtěžek: 4,60 g (37 mmol) 94 %.

15

d) Příprava 2-(2-fluorpyridin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-karboxylové kyseliny

2,00 g (15 mmol) 2-fluorpyridin-4-karbaldehydu bylo suspendováno společně s 2,40 g (15 mmol) 3,4-diaminobenzoové kyseliny ve 100 ml nitrobenzenu a směs byla 3 h zahřívána na 145°C . Pak byla reakční směs ochlazená na 0°C a pomalu vzniklé krystaly byly odfiltrovány. Bylo získáno 2,53 g (9,8 mmol) požadovaného benzimidazolu. Výtěžek 62 %.

20

e) Příprava 2-(2-methylaminopyridin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-karboxylové kyseliny:

100 mg (0,38 mmol) 2-(2-fluorpyridin-4-yl)-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny bylo rozpuštěno v 5 ml methanolu. Poté byl roztok sycen plynným methylaminem a reakční směs byla zahřívána 10 h pod tlakem v autoklávu na teplotu 120°C . Středně-tlaková chromatografie (CH_2Cl_2 :MeOH = 2:1) poskytla 56 mg (0,21 mmol) substitučního produktu. Výtěžek 55 %.

25

f) Příprava 2-(S)-{[2-(2-methylaminopyridin-4-yl)-1H-benzoimidazol-5-karbonyl]amino}-4-pyrrol-1-yl-máselné kyseliny-trifluoracetátu:

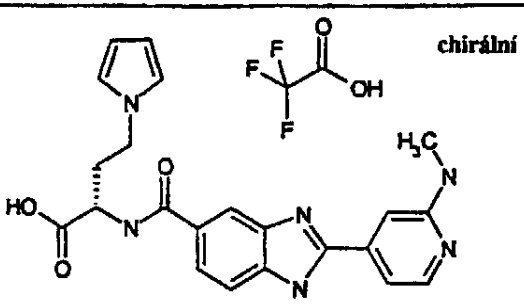
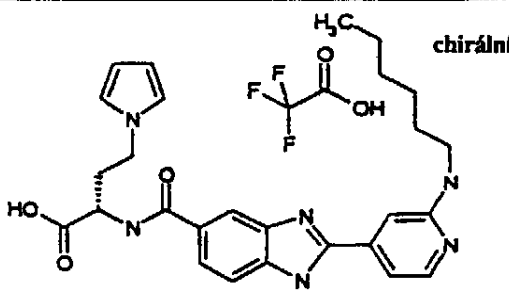
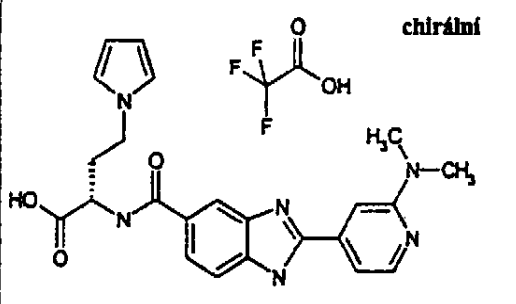
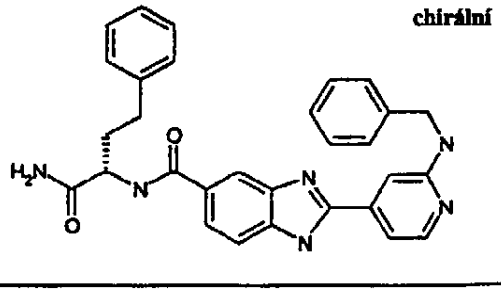
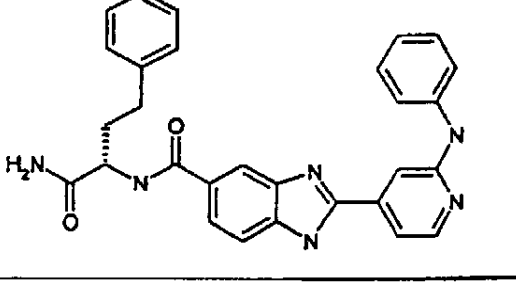
50 mg (0,186 mmol) 2-(2-fluorpyridin-4-yl)-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny bylo rozpuštěno ve 3 ml DMF a bylo ochlazené na 0°C . Pak bylo přidáno 100 μl (0,58 mmol) diisopropylethylaminu a 64 mg (0,195 mmol) TOTU. Poté bylo přidáno 33 g (0,196 mmol) 2-(S)-amino-4-pyrrol-1-yl-máselné kyseliny a směs byla ponechána zahřát na teplotu místnosti. Směs pak byla míchána 18 hodin a byla vylita do 20 ml 10% roztoku hydrogenuhličitanu sodného a byla třikrát extrahována s n-butanolem (50 ml). Po odpaření butanolu byl zbytek čištěn pomocí preparativní HPLC (acetonitril, 0,1% trifluoroctová kyselina). Bylo získáno 40 mg (0,075 mmol) skaplovaného produktu. Výtěžek 42 %.

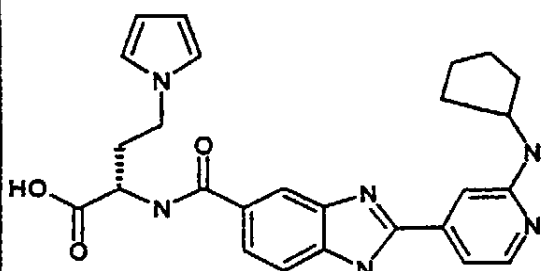
35

40

V následující Tabulce 3 jsou uvedeny příklady sloučenin připravených analogicky:

Tabulka 3

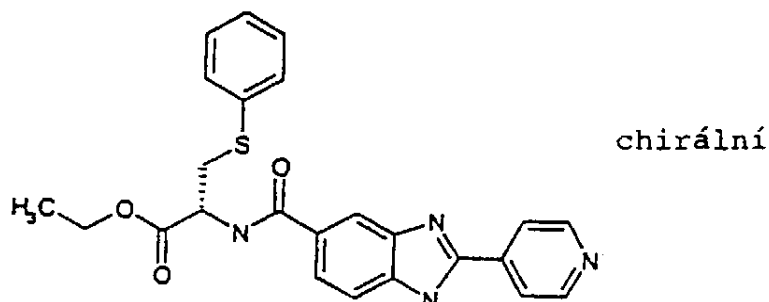
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
157	 chirální	$C_{24}H_{23}F_3N_6O_5$	419,2	a)
158	 chirální	$C_{29}H_{33}F_3N_6O_5$	489,3	a)
159	 chirální	$C_{25}H_{25}F_3N_6O_5$	433,0	a)
160	 chirální	$C_{30}H_{28}N_6O_2$	505,2	a)
161	 chirální	$C_{29}H_{26}N_6O_2$	491,2	a)

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
162		$C_{28}H_{28}N_6O_3$	473,3	a)

5

Příklad 163

Následující sloučenina byla připravena postupem podle varianty a):



10

a) Příprava 2-(S)-amino-3-fenylsulfanylpropionové kyseliny

K 1,00g (5 mmol) 2-(S)-amino-3-(fenylsulfanylpropionové kyseliny rozpuštěné v 10 ml methanolu bylo při teplotě -10°C přikapáno 1,7 ml (23 mmol) thionylchloridu. Teplota reakčního roztoku se pak ponechá vystoupit na teplotu místnosti a přidá se 5 ml dimethylformamidu. Poté se reakční roztok zahřívá 23 h na teplotu 70°C a po ochlazení na -10°C se znovu přidá 1 ml (13,5 mmol) thionylchloridu. Reakční směs se potom míchá ještě 14 h při teplotě 70°C . Po odpaření kapalně fáze se zbytek vyjme vodou a zalkalizuje se koncentrovaným vodným roztokem amoniaku a třikrát se extrahuje vždy 75 ml ethylacetátu. Po vysušení síranem hořečnatým a odpaření se získá produkt ve formě oleje, který se poté bez dalšího čištění použije ke kopulaci se složkou karboxylové kyseliny. Výtěžek: 830 mg (3,7 mmol), tj. 74 % teorie.

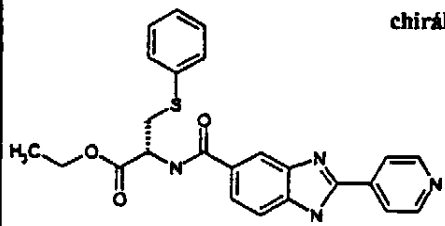
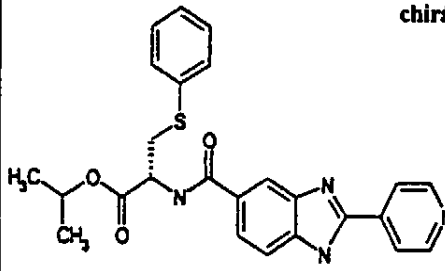
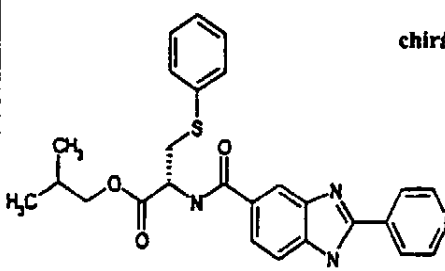
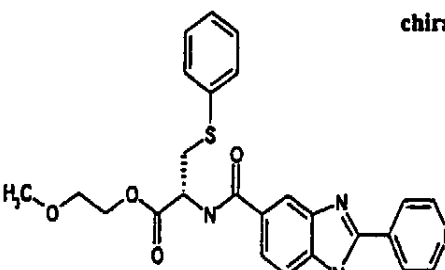
20

b) Příprava ethylesteru 3-fenylsulfanyl-2-(S)-/(2-pyridin-4-yl-1H-benzoimidazol-5-karbonyl)amino/propionové kyseliny

25

Standardní TOTU kopulace se 188 mg (0,83 mmol) ethylesteru 2-(S)-amino-3-fenylsulfanylpropionové kyseliny a 200 mg (0,83 mmol) 2-pyridin-4-yl-1H-benzoimidazol-5-karboxylové kyseliny skýtá žádaný produkt. Výtěžek 43 % (160 mg, 0,36 mmol). Sloučeniny uvedené v následující Tabulce 4 byly připraveny analogicky:

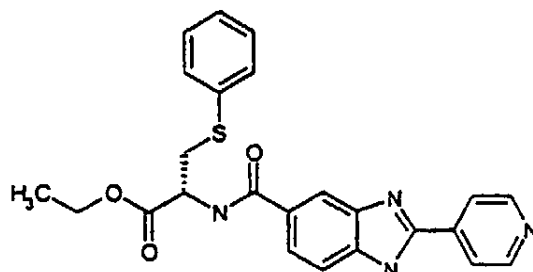
30

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
164	 chirální	$C_{24}H_{22}N_4O_3S$	447,1	a)
165	 chirální	$C_{25}H_{24}N_4O_3S$	461,3	a)
166	 chirální	$C_{26}H_{26}N_4O_3S$	475,2	a)
167	 chirální	$C_{25}H_{24}N_4O_4S$	477,3	a)

Příklad 168

Následující sloučenina byla připravena způsobem přípravy a):

5



chirální

10

a) Příprava [1-(2-morfolin-4-yl-ethylkarbamoyl)-2-fenylsulfanylethyl]amidu 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny

15

100 mg (0,24 mmol) 3-Fenylsulfanyl-2-[(2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karbonyl)-amino]propionové kyseliny bylo rozpuštěno v 10 ml DMF. Pak bylo při 0 °C přidáno 68 µl (0,39 mmol) diisopropylethylaminu a 248 mg (0,48 mmol) benzotriazol-1-yloxytripyrrolidin-fosfonium hexafluorofosfátu. Pak byla reakční směs nechána zahřát na teplotu místnosti a byla míchána 24 h. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vysokém vakuu při teplotě místnosti a zbytek byl čištěn pomocí středně-tlakové chromatografie (CH₂Cl₂:MeOH = 8:2). Výtěžek 73 mg (0,1376 mmol), 57 %.

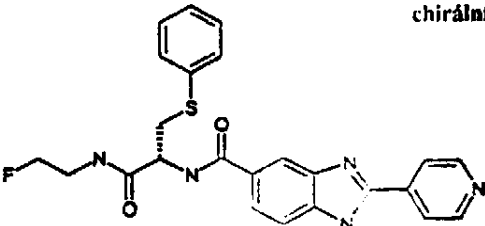
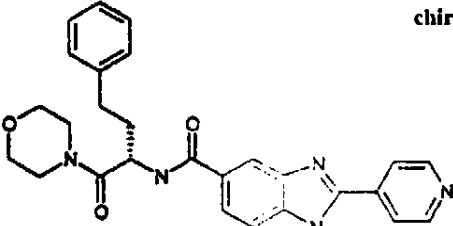
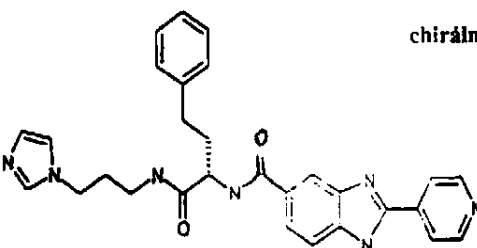
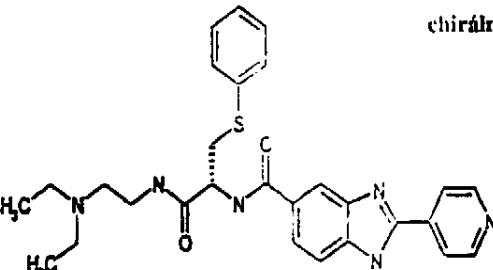
20

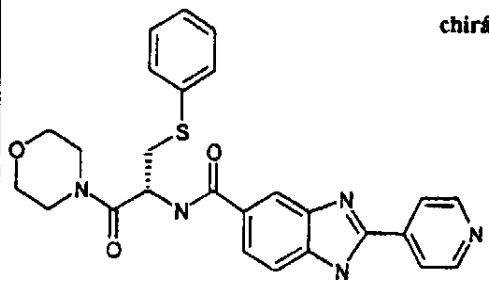
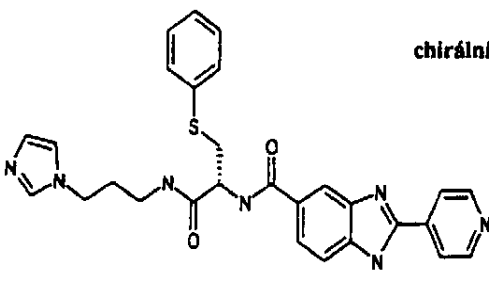
Sloučeniny uvedené v následující Tabulce 5 byly připraveny analogicky.

Tabulka 5

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
169		C ₂₈ H ₃₀ N ₆ O ₃ S	531,2	a)

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	pozn.
170	chirální	$C_{28}H_{27}N_5O_2S$	474,2	a)
171	chirální	$C_{29}H_{34}N_5O_2S$	531,2	a)
172	chirální	$C_{28}H_{31}N_5O_3S$	518,2	a)
173	chirální	$C_{30}H_{27}N_5O_2S$	522,7	a)

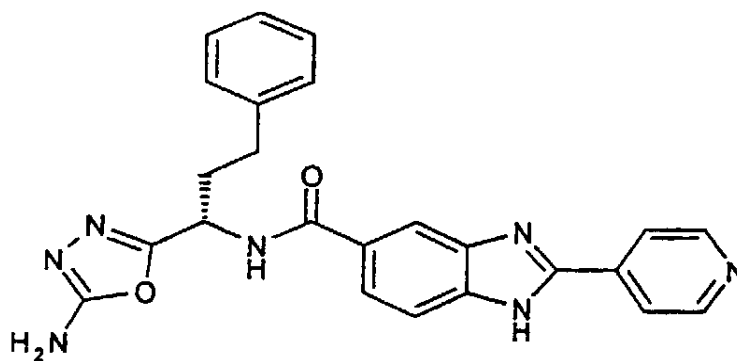
Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
174	chirální 	$C_{24}H_{22}FN_5O_2S$	464,1	a)
175	chirální 	$C_{27}H_{27}N_5O_3$	470,2	a)
176	chirální 	$C_{29}H_{29}N_7O_2$	508,2	a)
177	chirální 	$C_{29}H_{32}N_6O_2S$	517,3	a)

Příklad	Struktura	Sumární vzorec	MS (M+ H)	Pozn.
178	chirální 	C ₂₆ H ₂₅ N ₅ O ₃ S	488,2	a)
179	chirální 	C ₂₈ H ₂₇ N ₇ O ₂ S	526,2	a)

Příklad 180

5

Následující sloučenina byla připravena postupem a):



10 a) Příprava Z-homofenylalaninhydrazidu

5 g (16 mmol) Z-homofenylalaninu bylo rozpuštěno při teplotě místnosti ve 100 ml methyl-terc-butyletheru, bylo přidáno 3,3 g (16 mmol) N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu a 50 mg dimethylaminopyridinu a směs byla 2 h míchána při teplotě místnosti. Na závěr byla reakční směs
 15 zfiltrována přes skládaný filtr a filtrát byl promyt 1M hydrogensíranem draselným, nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a vodou. Organická fáze byla sušena nad síranem hořečnatým zfiltrována a odpařena za sníženého tlaku. Zbytek byl rozpuštěn ve 20 ml suchého ethanolu, bylo přidáno 0,78 ml (16 mmol) hydrazinhydrátu a směs byla míchána 2 h při teplotě místnosti. Průběh reakce byl sledován pomocí tenkovrstvé chromatografie (DC) a po ukončení reakce byla
 20 směs odpařena za sníženého tlaku. Zbytek byl krystalizován ze směsi ethylacetát/n-heptan = 1:1 za vzniku Z-homofenylalaninhydrazidu, který byl použit do další reakce.

b) Příprava benzylesteru [1-(5-amino-[1,3,4]-oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]karbamové kyseliny:

0,66 g Z-homofenylalaninhydrazidu bylo suspendováno při teplotě místnosti v 10 ml vody, bylo
 5 přidáno 200 mg hydrogenuhličitanu draselného a poté byl přikapán roztok bromkyanu (5M roztok v acetonitrilu). Směs byla míchána 3 h při teplotě místnosti a poté byla několikanásobně extrahována s ethylacetátem. Spojené organické fáze byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného, sušeny nad bezvodým síranem hořečnatým, zfiltrovány a odpařeny za sníženého tlaku. Zbytek byl míchán s methyl(terc-butyl)etherem, odsát a sušen za sníženého tlaku. Takto
 10 získaný benzylester [1-(5-amino-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]karbamové kyseliny byl použit bez dalšího čištění v následujícím kroku.

c) Příprava 5-(1-Amino-3-fenylpropyl)-[1,3,4]oxadiazol-2-ylaminu:

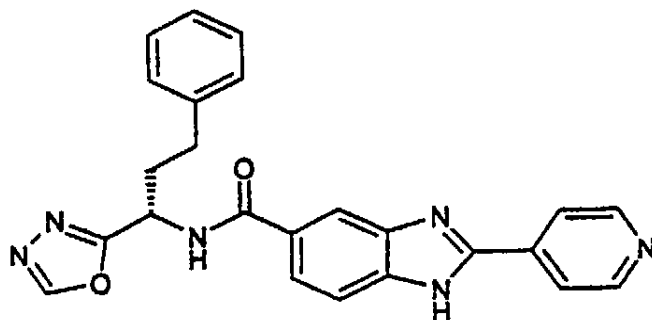
0,33 g benzylesteru [1-(5-amino-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]karbamové kyseliny
 15 bylo rozpuštěno při teplotě místnosti v 50 ml suchého methanolu, pak byl pod argonovou atmosférou přidán hydrogenační katalyzátor (10% palladium na uhlí) a směs byla hydrogenována 3 hod. za teploty místnosti. Reakční směs byla zfiltrována přes cellit, filtrát byl odpařen za sníženého tlaku a zbytek byl sušen ve vysokém vakuu. Byl získán 5-(1-amino-3-fenylpropyl)-
 20 [1,3,4]oxadiazol-2-ylaminu, který byl použit v dalším kroku bez následného čištění.

d) Příprava [1-(5-amino-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]amidu 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny:

0,18 g 5-(1-amino-3-fenylpropyl)-[1,3,4]oxadiazol-2-ylaminu bylo rozpuštěno za teploty místnosti
 25 v 10 ml suchého dimethylformamidu, bylo přidáno 200 mg 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny, 270 mg TOTU a 0,12 ml diisopropylethylaminu a směs byla míchána 4 h při teplotě místnosti. Reakční směs byla odpařena, zbytek byl dán do ethylacetátu a postupně promyt vodou, nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vodou a nasyceným
 30 roztokem chloridu sodného. Organické fáze byly sušeny nad síranem hořečnatým, zfiltrovány a odpařeny. Zbytek byl míchán s methyl(terc-butyl)etherem, zfiltrován a sušen ve vysokém vakuu. Byl získán [1-(5-amino-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]amidu 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny, který tál za rozkladu při 160 °C.

Příklad 181

Následující sloučenina byla připravena postupem a):



a) Z-Homofenylalaninhydrazid byl připraven podle postupu v příkladu 180.

b) Příprava benzylesteru (1-[1,3,4]oxadiazol-2-yl-3-fenylpropyl)karbamové kyseliny

1 g Z-homofenylalaninhydrazidu byl za teploty místnosti suspendován společně s 8 ml ortho-mravenčanu ethylnatého a byl 4 h zahříván k varu. Ochlazená reakční směs byla zpracována s methyl(terc-butyl)etherem, sraženina byla zfiltrována a filtrát byl odpařen za sníženého tlaku. Zbytek byl čištěn chromatograficky na silikagelu s využitím ethylacetát/n-heptan 1/1 za vzniku benzylesteru (1-[1,3,4]oxadiazol-2-yl-3-fenylpropyl)karbamové kyseliny, který byl použit do dalšího kroku.

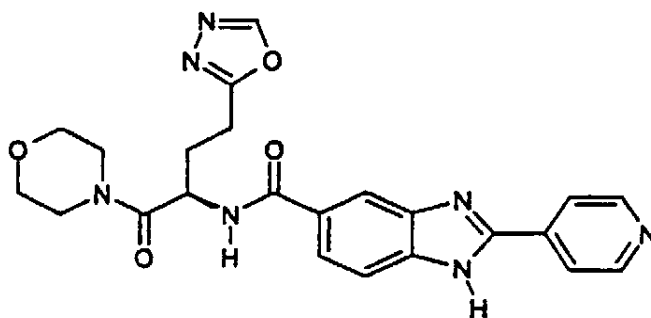
c) Příprava 1-[1,3,4]oxadiazol-2-yl-3-fenylpropylaminu byla provedena analogicky k přípravě 5-(1-amino-3-fenylpropyl)-[1,3,4]oxadiazol-2-ylaminu jak bylo popsáno v příkladu 180.

d) Příprava 1-[1,3,4]oxadiazol-2-yl-3-fenylpropyl)amidu 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny:

220 mg 1-[1,3,4]oxadiazol-2-yl-3-fenylpropylaminu bylo při pokojové teplotě rozpuštěno v 10 ml suchého dimethylformamidu, pak bylo přidáno 260 mg 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny, 350 mg TOTU a 0,15 ml diisopropylethylaminu a směs byla 4 h míchána při teplotě místnosti. Reakční směs byla odpařena, zbytek byl dán do ethylacetátu a byl postupně promyt vodou, nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vodou a nasyceným roztokem chloridu sodného. Organická fáze byla sušena nad síranem hořečnatým, zfiltrována a odpařena. Zbytek byl chromatografován se směsí dichlormethan/methanol 8/1 na silikagelu za vzniku (1-[1,3,4]oxadiazol-2-yl-3-fenylpropyl)amidu 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny, který taje za rozkladu při 103 °C.

Příklad 182

Následující sloučenina byla připravena podle postupu a):



a) Příprava L-N-benzoyloxykarbonyl-4-([1,3,4]oxadiazol-2-yl)-2-aminobutanové kyseliny

1 g γ -hydrazidu Z-glutaminové kyseliny byl společně se 30 mg p-toluensulfonové kyseliny suspendován ve 20 ml orthomravenčanu triethylnatého a byl míchán při teplotě místnosti. Suspenze se vyčeřila po 30 min, takto vzniklý roztok byl zfiltrován a naředěn se 100 ml vody. Po přidání 20 ml 2M kyseliny chlorovodíkové byla směs pětkrát extrahována s ethylacetátem a spojené organické fáze byly sušeny nad síranem sodným. Filtrací byl získán roztok, který odpařením za sníženého tlaku poskytl vazkou průsvitnou hmotu.

b) Příprava morfolidu L-N-benzyloxykarbonyl-4-([1,3,4]oxadiazol-2-yl)-2-aminobutanové kyseliny

300 mg L-N-benzyloxykarbonyl-4-([1,3,4]oxadiazol-2-yl)-2-aminobutanové kyseliny a 200 mg EDC-hydrochloridu bylo rozpuštěno ve 20 ml dichlormethanu a poté bylo přidáno 2 ml morfolinu. Po dvoudenním míchání při teplotě místnosti byl roztok 3x promyt nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, 3x promyt roztokem kyseliny citronové a jednou promyt nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného. Organická fáze byla sušena síranem sodným a po filtraci byla odpařena za sníženého tlaku. Byl získán žlutavý průhledný zbytek.

c) Příprava morfolidu L-4-([1,3,4]oxadiazol-2-yl)-2-aminobutanové kyseliny

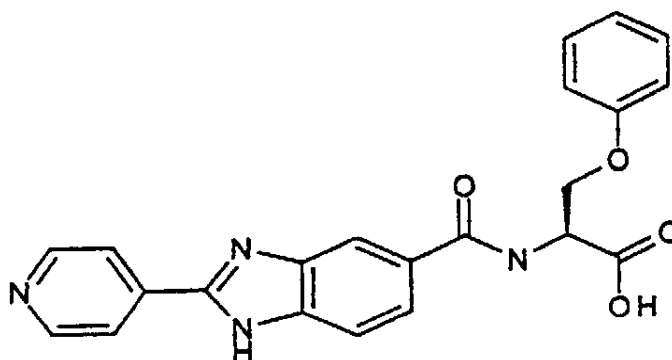
70 mg morfolidu L-N-benzyloxykarbonyl-4-([1,3,4]oxadiazol-2-yl)-2-aminobutanové kyseliny bylo rozpuštěno ve 20 ml methanolu a bylo přidáno 5% palladium na aktivním uhlí (na špičku špachtle) a suspenze byla míchána pod vodíkovou atmosférou. Po třech hodinách byl katalyzátor zfiltrován přes celit a filtrát byl po filtraci přes 0,45 µm filtr odpařen za sníženého tlaku.

d) Příprava [1-(morfolin-4-karbonyl)-3-[1,3,4]oxadiazol-2-ylpropyl]amidu 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny

43 mg 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny, 75 mg HATU a 51 mg diisopropylethylaminu bylo rozpuštěno v 1 ml N,N-dimethylformamidu a směs byla míchána 10 min a bylo přidáno 40 mg morfolidu L-4-([1,3,4]oxadiazol-2-yl)-2-aminobutanové kyseliny ve 0,4 ml N,N-dimethylformamidu. Po 7 h míchání při teplotě místnosti bylo přidáno 200 mg aminomethylpolystyrenu (1,37 mmol/g) a 20 ml N,N-dimethylformamidu. Po 1 h byla směs zfiltrována a N,N-dimethylformamid byl oddestilován za sníženého tlaku. Zbytek byl rozmíchán se studeným acetonitrilem. Nerozpuštěný zbytek byl rozdrcen a acetonitrilový roztok byl podroben gradientové filtraci přes RP18-silikagel se směsí voda/acetonitril. Byla izolována sklovitá žlutavá pevná látka.

Příklad 183

Příprava hydrogenacetátu 3-fenoxy-2-[(2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karbonyl)amino]-propionové kyseliny



a) 2-Pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylová kyselina (dále nazývaná sloučeninou I)

15,2 g (0,1 mol) 3,4-diaminobenzenové kyseliny bylo suspendováno v 1 l nitrobenzenu a bylo přidáno 11,2 g (0,104 mol) pyridin-4-aldehydu. Směs pak byla zahřívána za silného míchání na teplotu 145 °C až 155 °C po dobu 8 h. Po ochlazení roztoku byla vzniklá sraženina odsáta a velmi dobře promyta s ethylacetátem a dichlormethanem. Kvůli čištění byl surový produkt

zahříván k varu ve směsi 300 ml methanolu, 100 ml dichlormethanu a 10 ml DMF. Po ochlazení byl nerozpuštěný produkt zfiltrován a promyt dichlormethanem. Získaný materiál byl dán do 200 ml DMSO a zahříván až ke vzniku homogenního roztoku, poté ochlazen na 50 °C a bylo přidáno 200 ml methanolu. Produkt vykrytalizoval po přibližně 30 minutách při teplotě místnosti. Sraženina byla zfiltrována a promyta dobře methanolem. Výtěžek: 19,4 g.

b) Hydrochlorid (S) 2-amino-3-fenylpropionové kyseliny (M.w. 217,6)

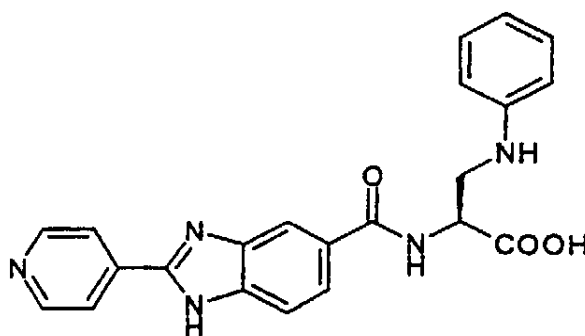
2,8 g Trt-Ser-OMe (Bachem), 0,75 g fenolu a 2,25 g trifenylofosfinu bylo rozpuštěno v 60 ml absolutního THF a při 0 °C bylo během 30 minut přikapáno 1,49 g diethylesteru azodikarboxylové kyseliny. Reakční směs byla 30 min míchána při 0 °C, pak byla zahřáta na teplotu místnosti (asi 1 h). Ke zpracování bylo rozpouštědlo odstraněno za sníženého tlaku a surový produkt byl čištěn chromatograficky na silikagelu (heptan:EE = 1,5:1). Takto získaný methylester kyseliny (S)-2-tritylamino-3-fenoxypionové vykrytalizoval pomalu ve formě dlouhých jehlic a chránicí skupina byla odštěpena zahříváním s 5M HCl pod refluxem po dobu 5 hod. Reakční roztok byl pod vakuem opakovaně odpařen s toluenem dosucha a zbytek byl krystalizován z malého množství terc-butanolu.

Reakční krok c)

239 mg 2-pyridin-4-yl-1H-benzoimidazol-5-karboxylové kyseliny z kroku a) bylo suspendováno v 10 ml DMF a poté bylo přidáno 328 mg TOTU a 0,17 ml ethyldiisopropylaminu. Směs byla míchána 45 minut při teplotě místnosti a ke vzniklému čirému roztoku bylo přidáno 217,6 mg hydrochloridu (S)-2-amino-3-fenoxypionové kyseliny z kroku b) a 0,34 ml ethyldiisopropylaminu. Po 4 h míchání byla směs odpařena za sníženého tlaku a titulní sloučenina byla izolována pomocí flash chromatografie na silikagelu (DCM:MeOH:AcOH:voda = 70:10:1:1). Získaná titulní sloučenina vykazovala molekulovou hmotnost 402,41, molekulová hmotnost 402; Sumární vzorec $C_{22}H_{18}N_4O_4$.

Příklad 184

Hydrogenacetát 3-fenylamino-2-[(2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karbonyl)amino]-propionové kyseliny



a) L-2-Amino-3-fenylaminopropionová kyselina

2,74 g trifenylofosfinu bylo rozpuštěno po zahřátí ve 30 ml acetonu a s vyloučením vzdušné vlhkosti byl roztok ochlazen na -35 °C až -45 °C (kvůli tomu byl trifenylofosfin jemně namlet) a pak bylo při této teplotě přikapáno 1,82 ml diethylesteru azodikarboxylové kyseliny. Směs byla míchána 15 min při teplotě -35 °C. K této směsi byl přikapán roztok 2,5 g N-benzoyloxy-karbonyl-L-serinu v 5 ml acetonitrilu a 2 ml THF, přičemž teplota nepřesáhla -35 °C. Pak byla směs míchána 1 h při teplotě +35 °C a poté byla teplota zvýšena na teplotu místnosti. Reakční roztok byl odpařen za sníženého tlaku a surový produkt byl čištěn pomocí středně tlakové chro-

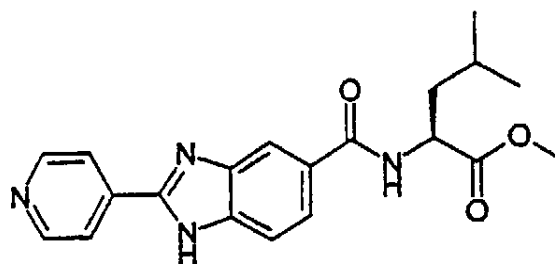
matografie na silikagelu. (DCM/AcCN:20/1). Po odstranění rozpouštědla bylo získáno 1,4 g čistého N-benzyloxykarbonyl-L-serin- β -laktonu (viz také Org. Synth. 1991 (70) 1) ve formě jemných jehliček. Tento lakton (1,2 g) byl rozpuštěn v 10 ml acetonitrilu a byl zahříván s 0,51 g anilinu pod refluxem. Po odstranění rozpouštědla byl produkt izolován pomocí chromatografie na silikagelu (DCM/MeOH/AcOH = 100/5/1). Bylo získáno 1,1 g (68 %) L-benzyloxykarbonyl-amino-3-fenylaminopropionové kyseliny.

K odstranění chránicí skupiny byl tento Z-chráněný derivát rozpuštěn v methanolu, pod inertním plynem bylo přidáno 80 mg katalyzátoru (10%Pd-C) a poté byl zaváděn vodík až do úplného odstěpení Z-chránicí skupiny. Po odfiltrování katalyzátoru a odpaření filtrátu bylo získáno 0,58 g L-2-amino-3-fenylaminopropionové kyseliny (92 %) ve formě žlutavých jemných jehliček.

Reakční krok b)

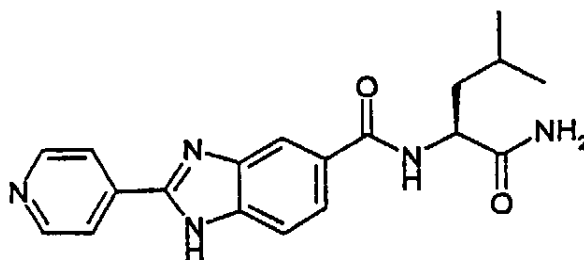
239 mg 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny získané v příkladu 183 bylo suspendováno v 10 ml DMF a poté bylo přidáno 328 mg TOTU a 0,17 ml ethyldiisopropylaminu. Směs byla míchána 45 min při teplotě a místnosti a ke vzniklému čirému roztoku byl přidán roztok 180,2 mg (S) 2-amino-3-fenylaminopropionové kyseliny a 0,34 ml ethyldiisopropylaminu. Po 4 hod. byla směs odpařena za sníženého tlaku a titulní sloučenina byla izolována pomocí flash chromatografie na silikagelu (DCM:MeOH:AcOH:voda = 70:10:1:1). Vzniklá titulní sloučenina vykazovala m. hm. 401,43. Sumární vzorec $C_{22}H_{19}N_5O_3$.

Příklad 185



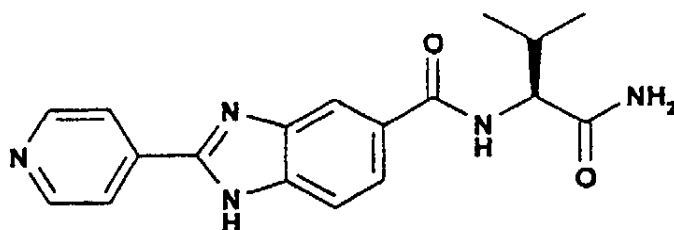
239,2 mg (1 mmol) sloučeniny 1 připravené jako v příkladu 183 bylo rozpuštěno v 8 ml DMF, poté bylo přidáno 182,7 mg (1 mmol) H-Leu-OMe.HCl, 328 mg (1 mmol) TOTU a 0,34 ml (2 mmol) ethyldiisopropylaminu. Po 6 hod. míchání při teplotě místnosti bylo rozpouštědlo odstraněno za sníženého tlaku, zbytek byl dán do ethyletheru a směs byla promyta třikrát vodou a nasyceným roztokem chloridu sodného. Organická fáze byla sušena a odpařena za sníženého tlaku a do sucha. Zbytek byl čištěn pomocí flash chromatografie na silikagelu (DCM/MeOH: 15/1). Výtěžek: asi 200 mg.

Příklad 186



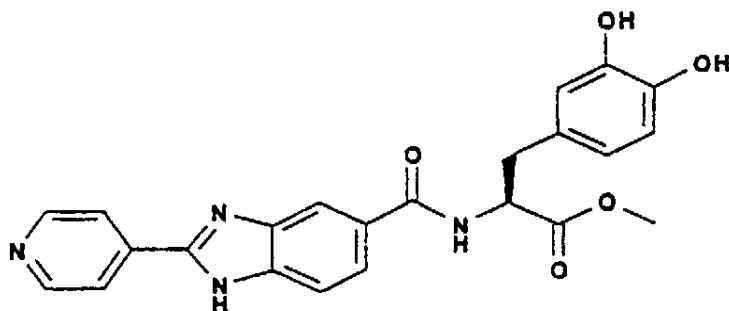
239,2 mg (1 mmol) sloučeniny I připravené jako v příkladu 183 bylo rozpuštěno v 8 ml DMF, poté bylo přidáno 166,6 mg (1 mmol) H-Leu-OMe.HCl, 328 mg (1 mmol) TOTU a 0,34 ml (2 mmol) ethyldiisopropylaminu. Po 6 hod. míchání při teplotě místnosti bylo rozpouštědlo odstraněno za sníženého tlaku, zbytek byl dán do ethyletheru a směs byla promyta vodou. Vodná fáze byla promyta dvakrát promyta nasyceným roztokem chloridu sodného a EE/THF = 1/1. Spojené organické fáze byly promyty jednou nasyceným roztokem chloridu sodného, sušeny a odpařeny za sníženého tlaku do sucha. Surový produkt byl povařen s DC/EE = 1:1, zfiltrován a pořádně promyt s DCM/ether. Výtěžek: asi 200 mg.

Příklad 187



239,2 mg (1 mmol) sloučeniny I připravené jako v příkladu 183 bylo rozpuštěno v 8 ml DMF, poté bylo přidáno 152,6 mg (1 mmol) H-Val-NH₂.HCl, 328 mg (1 mmol) TOTU a 0,34 ml (2 mmol) ethyldiisopropylaminu. Po 6 hod. míchání při teplotě místnosti bylo rozpouštědlo odstraněno za sníženého tlaku, zbytek byl dán do ethyletheru a směs byla promyta vodou. Vodná fáze byla promyta dvakrát promyta nasyceným roztokem chloridu sodného a EE/THF = 1/1. Spojené organické fáze byly promyty jednou nasyceným roztokem chloridu sodného, sušeny a odpařeny za sníženého tlaku do sucha. Zbytek byl zpracován s dichlormethanem a zfiltrován. Surový produkt byl povařen s DC/EE = 1:1, zfiltrován a pořádně promyt s DCM/ether. Výtěžek: asi 200 mg.

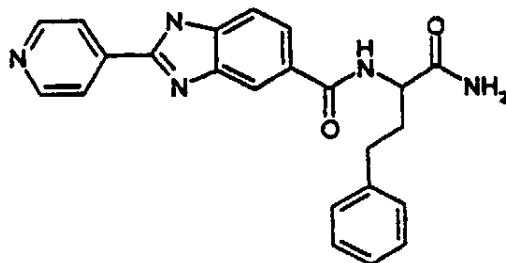
Příklad 188



239,2 mg (1 mmol) sloučeniny I připravené jako v příkladu 183 bylo rozpuštěno v 8 ml DMF, poté bylo přidáno 247,7 mg (1 mmol) H-Dopa-OMe.HCl, 328 mg (1 mmol) TOTU a 0,34 ml (2 mmol) ethyldiisopropylaminu. Po 6 hod. míchání při teplotě místnosti bylo rozpouštědlo odstraněno za sníženého tlaku, zbytek byl dán do ethyletheru a směs byla promyta třikrát vodou a nasyceným roztokem chloridu sodného. Organická fáze byla sušena a odpařena za sníženého tlaku do sucha. Zbytek byl zpracován s dichlormethanem a zfiltrován. Surový produkt byl povařen s DC/EE = 1:1, zfiltrován a pořádně promyt s DCM/ether. Výtěžek: asi 200 mg.

Příklad 189

Následující sloučenina byla připravena postupem c):



2,0 g polystyrenové pryskyřice—Am RAM, 160 až 200 mikronů (0,64 mmol/g; Rapp Polymere) bylo dáno do plastové stříkačky, byla ponechána máčet 20 min v DMF a poté byla ponechána 20 minut s roztokem DMF/piperidin (1:1). Po promytí s DMF, DCM a ještě jednou s DMF byla pryskyřice uvedena do dalšího syntetického kroku.

Reakční roztok a)

K roztoku Fmoc—homoPheOH (0,71 g, 3,84 mmol) a HOBt—hydrát (0,59 g, 3,84 mmol) v DMF byl přidán DIC (0,59 ml, 3,84 mmol). Vzniklý roztok byl převeden do výše zmíněné stříkačky a směs byla třepána 16 h při teplotě místnosti. Pryskyřice byla poté promyta s DMF (10 x 15 ml), DCM (4x 15 ml) a DMF (2x 15 ml) a byla uchovávána při 4 °C. Kvůli kontrole reakce byl pro KAISER test odebrán jeden kousek pryskyřice.

Reakční krok b)

Pryskyřice byla podle výše uvedeného postupu ochráněna a promyta. K roztoku 4—fluor—3—nitrobenzoové kyseliny (0,71 g, 3,84 mmol) a HOBt hydrát (0,59 g, 3,84 mmol) v DMF (asi 15 ml) byl přidán DIC (0,59 ml, 3,84 mmol). Tento roztok byl přidán do stříkačky k připravené pryskyřici a směs byla 16 hodin třepána při teplotě místnosti. Pryskyřice byla promyta s DMF (10x 15 ml) a uchována při 45 °C. Pro kontrolu reakce byl pro KAISER test odebrán malý kousek pryskyřice.

Reakční krok c)

Roztok 4—(aminomethyl)pyridinu (1,4 ml, 12,8 mmol) v DMF (10 ml) byl přidán k připravené pryskyřici a směs byla nechána třepat 2 dny při teplotě místnosti. Pryskyřice byla promyta DMF (8 x 15 ml), DCM (4x 15 ml) a DMF (2x 15 ml). Poznámka: Dále bylo shledáno, že jednoduché zahřívání pryskyřice v DMA (dimethylacetamid namísto DMF) po dobu 16 h dává požadovaný hydroxybenzimidazol, čímž lze urychlit danou syntézu.

Reakční krok d)

Roztok pryskyřice v DMA byl naplněn do uzavíratelného skleněného reaktoru a reakční směs byla 16 h zahřívána na teplotu 125 °C za pomalého míchání. Následná cyklizace může být sledována pomocí GC/MS (po odštěpení alikvotu látky od pryskyřice). Po promytí s DMA (5x 15 ml) byla pryskyřice uvedena do reakčního kroku e).

Reakční krok e)

5 K roztoku pryskyřice (0,5 g) z reakčního kroku d) v 0,5 ml DMA byl přidán tributylfosfín (0,6 ml) a směs byla 6 h zahřívána na 150 °C za slabého míchání. Pryskyřice byla promyta DMF (20x 10 ml), MeOH (10x 10 ml) a DCM (10x 10 ml).

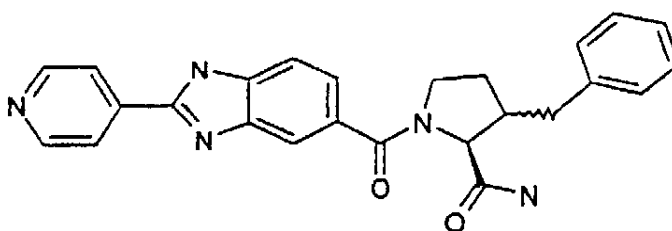
Reakční krok f)

10 Odštěpení a čištění

Pryskyřice z bodu e) byla zpracována s TFA/H₂O (95/5) 3 h při teplotě místnosti. TFA/H₂O byla odstraněna za sníženého tlaku a byla získána hnědá sklovitá látka jako surový produkt. Surový produkt byl chromatografován na silikagelu (flash–chromatografie, eluent: 95/5 DCM/2,0 M NH₃ v MeOH, potom 92/8 DCM/2,0 M NH₃ v MeOH. Požadované frakce byly sebrány a rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku. Produkt byl získán ve formě bílé tuhé látky. MS (ES, M+H⁺ = 400). ¹H NMR odpovídá výše uvedené struktuře.

20 Příklad 190

Následující sloučenina byla připravena postupem c):



25

A) Syntéza 3(R/S)–vinyl–2(S)–azido–3–fenylpropionové kyseliny

a) K roztoku ethylesteru 3–vinyl–4–fenylmáslé kyseliny (0,129 mol) ve vodném THF (120 ml/20 ml vody) byl přidán hydroxid lithný (monohydrát, 21 g, 645 mmol). Reakční směs byla míchána přes noc a poté byla zkoncentrována za sníženého tlaku. Zbytek byl rozdělen mezi AcOEt a vodný HCl (1M), fáze byly odděleny a vodná fáze byla dvakrát promyta s AcOEt. Spojené organické fáze byly promyty nasyceným roztokem chloridu sodného, sušeny nad MgSO₄, zfiltrány a odpařeny za sníženého tlaku. Bylo získáno 15,6 g (výtěžek 62 %) kyseliny, která byla použita v následujícím kroku.

35

b) K ochlazenému roztoku (–78 °C) výše získané kyseliny (1,74 g, 9,16 mmol) v bezvodém THF (10 ml) byl přidán triethylamin (1,27 ml) a po 15 min byl přidán pivaloylchlorid (1,18 ml). Směs byla 1 h míchána při 0 °C a byla ochlazená na –78 °C. V oddělené baňce byl k ochlazenému roztoku (–78 °C) S–fenyloxazolidinonu (1,64 g) v THF (36 ml) pomalu přidán roztok n–butyllithia (5,7 ml, 1,6 M v hexanu). Roztok byl míchán 1 h při –78 °C, zahřát na 0 °C a pomocí kanyly přikapán k výše získanému roztoku. Po ukončení přidavku byl roztok míchán přes noc při teplotě místnosti a roztok byl odpařen na 1/3 objemu za sníženého tlaku. Vodný roztok byl extrahován třikrát dichlormethanem, spojené organické fáze byly promyty hydroxidem sodným, sušeny nad MgSO₄, zfiltrány a odpařeny. Zbytek byl čištěn pomocí flash–chromatografie (silikagel, 5 až 20% AcOEt/hexan). Bylo získáno 2,06 g (67% výtěžek) imidu jako směs obou diastereoizomerů.

45

c) K ochlazenému roztoku (–78 °C) imidu (1,88 g, 5,61 mmol) v bezvodém THF (15 ml) byla po kapkách přidána draselná sůl 1,1,1,3,3,3–hexamethyldisilazanu (14,6 ml, 0,5M roztok v toluenu). Po 40 min byl přidán ochlazený (–78 °C) roztok trimethylsilylazidu (2,51 g) v THF. Po dalších

35 min byla přidána kyselina octová (1,46 ml) a roztok byl ponechán míchat přes noc při teplotě místnosti. Poté byla reakční směs rozdělena mezi dichlormethan a nasycený roztok chloridu sodného, organická fáze byla sušena nad MgSO_4 , zfiltrována a odpařena. Zbytek byl chromatografován na silikagelu pomocí flash-chromatografie (eluent: a) DCM/MeOH/vodný amoniak = 95/5/1; b) DCM; počáteční obsah a:b = 1:10 až do čistého DCM). Bylo získáno 2,5 g (95 % výtěžek) azidového derivátu.

b) K ochlazenému roztoku (0 °C) výše získaného azidoderivátu (2,5 g) v THF (20 ml) bylo přidáno 4 ml vody a hydroxid lithný monohydrát (558 mg) a 3 ml peroxidu vodíku (30%). Směs byla 3 h míchána při teplotě místnosti a pak bylo přidáno 19 ml 10% roztoku síranu sodného. Roztok byl odpařen za sníženého tlaku na 1/10 původního objemu, získaný zbytek byl třikrát extrahován s ethylacetátem, spojené organické fáze byly sušeny nad MgSO_4 , zfiltrovány a odpařeny dosucha za sníženého tlaku. Zbytek byl čištěn pomocí flash chromatografie na silikagelu (eluent: 1 až 5% MeOH v 1% vodném amoniaku/99% DCM). Bylo získáno 912 mg požadované kyseliny (74% výtěžek).

B) Syntéza 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karbonyl-3-R,S-benzyl-S-prolinamidu

0,4 g Polystyrenové Knorr-pryskyřice (0,61 mmol/g) bylo dáno do plastové stříkačky, bylo ponecháno 20 minut bobtnat s DMF a poté bylo 20 minut ponecháno s roztokem DMF/piperidin (1:1). Po promytí DMF, DCM a ještě jednou DMF byla pryskyřice převedena do dalšího kroku.

Reakční krok a)

K výše získané pryskyřici byl přidán roztok 3(R/S)-vinyl-2(S)-azido-3-fenylpropionová kyselina (viz též kroky a) až d); 0,28 mmol), PyBOP (0,28 mmol) a DIPEA (0,32 mmol). Vzniklá směs byla třepána 16 h při teplotě místnosti. Pryskyřice byla promyta (3x 15 ml) a DCM (4x 15 ml) a sušena ve vakuu. Pro kontrolu reakce pomocí KAISER testu byl odebrán kousek pryskyřice.

Reakční krok b)

Cyklohexen (23 mmol) byl přidán pod inertní atmosférou k 2M roztoku dicyklohexylboran/dimethylsulfid komplexu (11,6 mmol) ve vodném diethyletheru. Po jedné hodině byla získána bílá tuhá látka. Rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku a byla přidána výše získaná pryskyřice společně s 10 ml DCM. Heterogenní směs byla lehce míchána 2,5 h až do ukončení vývoje plynu. Pryskyřice byla pomyta MeOH a odpařena za sníženého tlaku. Pryskyřice byla promyta methanolem a sušena za sníženého tlaku. Poté byla pryskyřice míchána 1 h s 50/50 (obj./obj.) směsí ethanolaminu a DMF a poté byla promyta MeOH a DCM (každý třikrát), na závěr byla vysušena.

Reakční krok c)

K roztoku 4-fluor-3-nitrobenzoové kyseliny (0,69 mmol) a HOAt (0,69 mmol) v DMF (asi 5 ml) byl přidán DIC (0,69 mmol). Tento roztok byl přidán do stříkačky k výše připravené pryskyřici a směs byla 16 hodin třepána při teplotě místnosti. Pryskyřice byla promyta DMF (10x 15 ml) a vysušena za vakua. Pro kontrolu reakce byl pro KAISER test odebrán malý kousek pryskyřice.

Reakční krok d)

Roztok 4-(aminomethyl)pyridinu (4,6 mmol) v DMF (4 ml) byl přidán k výše připravené pryskyřici a směs byla třepána 32 dní při teplotě místnosti. Pryskyřice byla promyta MeOH a DCM (každý 3x 15 ml) byla vysušena.

Reakční krok e)

Roztok pryskyřice v DMA byl naplněn do uzavíratelného skleněného reaktoru a reakční směs byla 16 h zahřívána na teplotu 125 °C za pomalého míchání. Následná cyklizace může být sledována pomocí GC/MS (po odštěpení alikvotu látky od pryskyřice). Po promytí MeOH a DMA (každý 3x 15 ml) byla pryskyřice vysušena.

Reakční krok f)

K roztoku pryskyřice (0,021 mmol) z reakčního kroku e) v DMA (3,0 ml) byl přidán tributylfosfin (0,5 ml) a směs byla 5 h mírně míchána při teplotě 125 °C. Pryskyřice pak byla promyta DMF (2x 10 ml), MeOH (2x 10 ml) a DCM (3x 10 ml) a byla sušena za sníženého tlaku.

Reakční směs g)

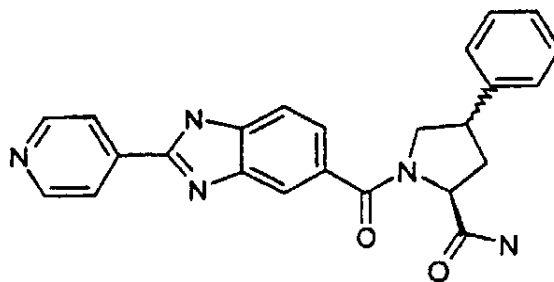
Odštěpení a čištění

Pryskyřice z bodu f) byla zpracována s TFA/H₂O (97/3) 1 h při teplotě místnosti. TFA/H₂O byla odstraněna za sníženého tlaku a byla získána hnědá sklovitá látka jako surový produkt. Surový produkt byl chromatografován na silikagelu (flash–chromatografie, eluent: 95/5 DCM/2,0M NH₃ v MeOH, potom 92/8 DCM/2,0M NH₃ v MeOH). Požadovaná frakce byly spojeny a rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku. Produkt byl získán jako bílá tuhá látka.

MS (ES, M+H⁺ = 426) ¹H NMR odpovídá výše uvedenému strukturnímu vzorci.

Příklad 191

Následující sloučenina byla připravena postupem c):



1,5 g Polystyrenové Knorr pryskyřice (0,64 mmol/g) bylo dáno do plastové stříkačky, bylo ponecháno bobtnat s DMF po dobu 20 min a poté bylo zpracováno 20 min směsí DMF/piperidin (1:1). Po promytí s DMF, DCM a ještě jednou s DMF byla pryskyřice použita v dalším reakčním kroku.

Reakční krok a)

Roztok Fmoc–3R,S–fenyl–S–prolinu (1,5 mmol), PyBOP (1,5 mmol) a DIPEA (2,1 mmol) v DCM byl přidán k pryskyřici. Vzniklá směs byla 16 h třepána při teplotě místnosti. Pryskyřice byla promyta s DCM (4x 15 ml), MeOH (2x 15 ml) a DCM a byla sušena za sníženého tlaku. Pro kontrolu reakce byl proveden KAISER test na odebraném kousičku pryskyřice.

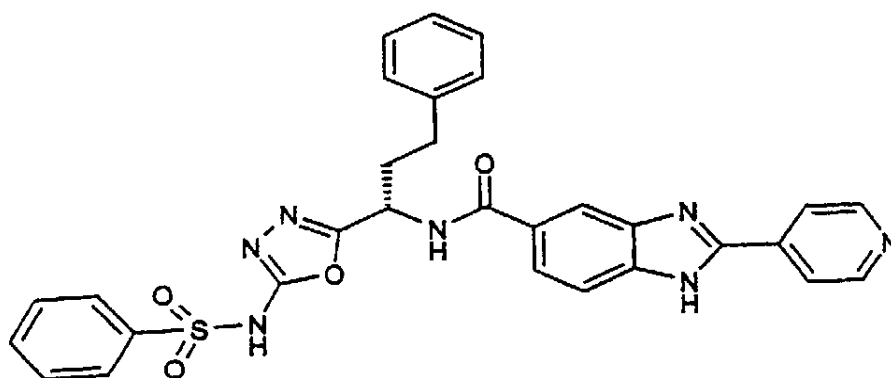
Reakční krok b)

Pryskyřice byla převedena na požadovanou sloučeninu podobně jako bylo popsáno v Příkladu 190.

MS (ES, $M+H^+ = 412$) 1H NMR odpovídá výše uvedené struktuře.

Příklad 192

Následující sloučenina byla připravena postupem a):



a) Příprava Z-homofenylalaninhydrazidu

Z-Homofenylalaninhydrazid byl připraven podle popisu v Příkladu 180a.

b) Příprava benzylesteru [1-(5-amino-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]karbamové kyseliny

Benzylester [1-(5-amino-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]karbamové kyseliny byl připraven podle popisu v Příkladu 180b.

c) Příprava benzylesteru [1-(5-benzensulfonfylamino[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]-karbamové kyseliny

0,35 g sloučeniny z příkladu 192b bylo rozpuštěno za teploty místnosti v 5 ml pyridinu, bylo přidáno 0,13 ml benzensulfonylchloridu a směs byla 4 h míchána při 80 °C. Pak bylo přidáno dalších 0,13 ml benzensulfonylchloridu a směs byla míchána další 2 h při 80 °C. Reakční směs byla odpařena ve vakuu, zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu a byl promyt dvakrát vodou a jednou nasyceným roztokem chloridu sodného, sušen nad síranem hořečnatým, zfiltrován a odpařen ve vakuu. Byl získán benzylester [1-(5-benzensulfonfylamino[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]karbamové kyseliny, který byl použit bez dalšího čištění do následné reakce.

d) Příprava N-[5-(1-amino-3-fenylpropyl)-[1,3,4]oxadiazol-2-yl]benzensulfonamidu:

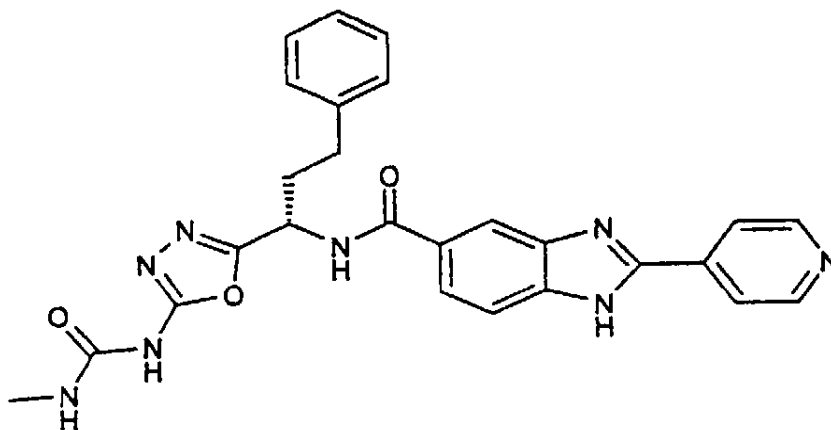
0,18 g sloučeniny 192c bylo rozpuštěno za teploty místnosti ve 30 ml suchého methanolu, pod argonem byl přidán katalyzátor Pd/Ca směs byla hydrogenována 4 h. Po filtraci, promytí zbytku s methanolem a odpaření filtrátu byl získán N-[5-(1-amino-3-fenylpropyl)-[1,3,4]oxadiazol-2-yl]benzensulfonamid, který byl použit do dalšího kroku.

e) Příprava [1-(5-benzensulfonylamino-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]amidu 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny

70 mg sloučeniny podle příkladu 192d bylo rozpuštěno při teplotě místnosti v 5 ml suchého DMF, bylo přidáno 30 μ l diisopropylaminu, 48 mg 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny a 66 mg TOTU. Po 4 h míchání při teplotě místnosti byla reakce ukončena a reakční směs byla odpařena. Zbytek byl zpracován s ethylacetátem a vodou. Rozpouštědlo bylo dekantováno, olejový zbytek byl zpracován s horkým acetonem, ochlazen a krystalický produkt byl oddělen filtrací, promyt acetonem a vysušen. Byl získán [1-(5-benzensulfonylamino-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]amid 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny, který taje při 220 °C za rozkladu.

Příklad 193

Následující sloučenina byla připravena postupem a):



a) Příprava Z-homofenylalaninhydrazidu

Z-Homofenylalaninhydrazid byl připraven podle popisu v Příkladu 180a.

b) Příprava benzylesteru [1-(5-amino-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]karbamové kyseliny

Benzylester [1-(5-amino-[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]karbamové kyseliny byl připraven podle popisu v Příkladu 180b.

c) Příprava benzylesteru {1-[5-(3-Methylureido)[1,3,4]oxadiazol-2-yl]-3-fenylpropyl}karbamové kyseliny

350 mg benzylesteru [1-(5-amino[1,3,4]oxadiazol-2-yl)-3-fenylpropyl]karbamové kyseliny bylo rozpuštěno v 5 ml suchého dimethylsulfoxidu, bylo přidáno 140 mg uhličitane draselného a 140 mg methylisokyanátu a směs byla 16 h míchána při 80 °C. Reakční směs byla ochlazená, byl přidán ethylacetát a směs byla promyta dvakrát vodou a jednou nasyceným roztokem chloridu sodného. Roztok byl pak sušen nad síranem hořečnatým, zfiltrován a odpařen ve vakuu. Byl získán benzylester {1-[5-(3-methylureido)[1,3,4]oxadiazol-2-yl]-3-fenylpropyl}karbamové kyseliny, který byl bez dalšího čištění použit v následujícím kroku (hydrogenolýza).

d) Příprava 1-[5-(1-amino-3-fenylpropyl)[1,3,4]-oxadiazol-2-yl]močoviny

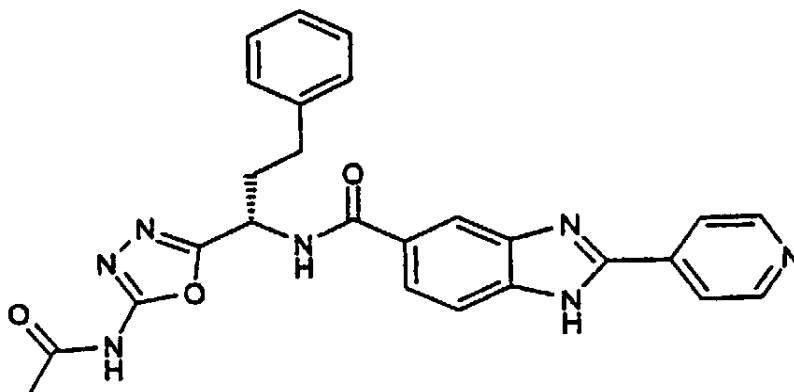
120 mg sloučeniny z předchozího kroku bylo při teplotě místnosti rozpuštěno ve 20 ml suchého methanolu, pod argonovou atmosférou byl přidán katalyzátor Pd/C a směs byla 4 h hydrogenována za teploty místnosti. Reakční směs byla zfiltrována, zbytek byl promyt methanolem a filtrát byl odpařen ve vakuu. Byla získána 1-[5-(1-amino-3-fenylpropyl)-[1,3,4]oxadiazol-2-yl]-močovina, která byla použita bez dalšího čištění v následném kroku.

e) Příprava {1-[5-(3-methylureido)-[1,3,4]oxadiazol-2-yl]-3-fenylpropyl}amidu kyseliny 3-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové

30 mg sloučeniny z předchozího kroku bylo za teploty místnosti rozpuštěno ve 3 ml suchého DMF a bylo přidáno 33 mg 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny, 20 μ l diisopropylaminu a 40 mg TOTU a směs byla míchána 4 h při teplotě místnosti. Reakční směs byla odpařena ve vakuu, zbytek byl zpracován se směsí ethylacetát/tetrahydrofuran 1/1, roztok byl promyt vodou, nasyceným roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a nasyceným roztokem chloridu sodného, sušen nad síranu hořečnatého, zfiltrován a odpařen ve vakuu. Byl získán {1-[5-(3-methylureido)-[1,3,4]oxadiazol-2-yl]-3-fenylpropyl}amid kyseliny 3-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové, který vykazoval hmotnostní spektrum $m/z = 497,3 (=MH^+)$.

Příklad 194

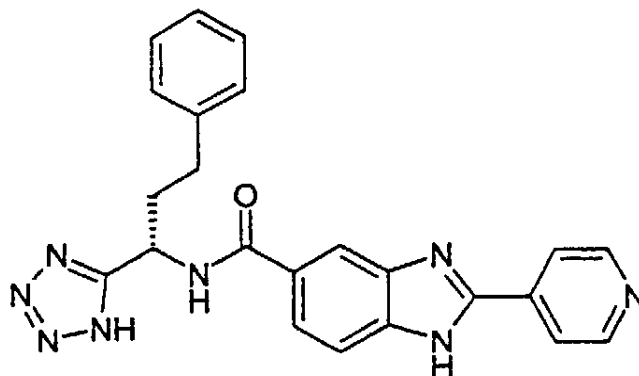
Následující sloučenina byla připravena postupem a):



[1-(5-acetylamino)-[1,3,4]oxadiazol-2-yl]-3-fenylpropylamid kyseliny 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové byl připraven v podstatě analogickým způsobem, s tou výjimkou, že byl použit acetylchlorid namísto methylisokyanátu. Sloučenina vykazuje teplotu tání 183 až 186 °C za rozkladu.

Příklad 195

Následující sloučenina byla připravena postupem a):



a) Příprava benzylesteru (1-kyano-3-fenylpropyl)karbamové kyseliny:

- 2,78 g benzylesteru (1-karbamoyl-3-fenylpropyl)karbamové kyseliny, vyrobené z L-homofenylalaninamid hydrochloridu a N-Cbz-sukcinimidu, bylo rozpuštěno ve 30 ml suchého pyridinu a bylo přidáno 6 ml acetanhydridu. Reakční směs byla míchána 24 h při teplotě 75 °C. Ochlazený roztok byl odpařen ve vakuu, bylo přidáno 100 ml ethylacetátu a roztok byl pomyt třikrát s 50 ml 5% roztoku kyseliny citronové a nasyceného roztoku chloridu sodného. Organický extrakt byl sušen nad síranem hořečnatým, zfiltrován, odpařen ve vakuu a chromatografován na silikagelu se směsí n-heptan/ethylacetát 1/1. Byl získán benzylester (1-kyano-3-fenylpropyl)karbamové kyseliny, který byl použit v následujícím kroku bez dalšího čištění.

b) Příprava benzylesteru [3-fenyl-1-(1H-tetrazol-5-yl)propyl]karbamové kyseliny:

- 0,15 g sloučeniny z příkladu 195b bylo společně s 0,115 g trimethylzinkazidu suspendováno v 5 ml suchého toluenu a byl míchán 6 h pod refluxem. Ochlazená reakční směs byla okyselena etherickým chlorovodíkem a byla ponechána stát přes noc v lednici. Druhý den byla směs odpařena ve vakuu a byla chromatografována na silikagelu s využitím směsi dichlormethan/methanol 9/1. Takto získaný benzylester [3-fenyl-1-(1H-tetrazol-5-yl)propyl]karbamové kyseliny byl použit v dalším reakčním kroku bez následného čištění.

c) Příprava 3-fenyl-1-(1H-tetrazol-5-yl)propylamin:

- 337 mg sloučeniny z příkladu 195b bylo rozpuštěno ve 2 ml acetonu, bylo přidáno 0,477 ml triethylsilanu, jedna kapka triethylaminu a špička špachtle chloridu paladnatého a směs byla míchána 3 h po refluxem. Ochlazený roztok byl zfiltrován, odpařen ve vakuu a zbytek byl sušen ve vysokém vakuu. Takto získaný 3-fenyl-1-(1H-tetrazol-5-yl)propylamin byl použit v další syntéze.

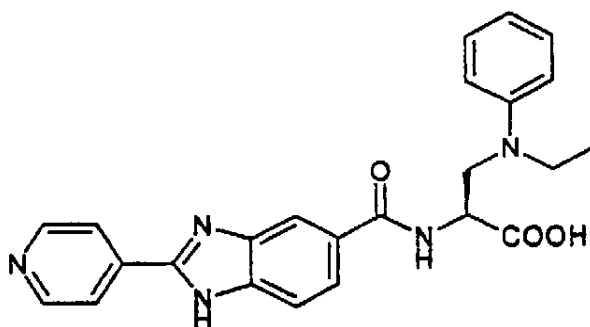
d) Příprava [3-fenyl-1-(1H-tetrazol-5-yl)propyl]amidu kyseliny 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové:

- 0,9 mmol sloučeniny z příkladu 195c bylo rozpuštěno v 5 ml suchého DMF a bylo přidáno 0,9 mmol 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny, 0,365 ml diisopropylaminu a 415 mg TOTU a směs byla míchána 20 h při teplotě místnosti a další 4 h při 50 °C. Reakční směs byla odpařena ve vakuu, zbytek byl dán do ethylacetátu, promyt vodou, nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a nasyceným roztokem chloridu sodného, sušen nad síranem hořečnatým, zfiltrován a odpařen ve vakuu. Takto získaný surový produkt byl chromatogra-

fován na silikagelu pomocí směsi dichlormethan/methanol/voda/kyselina octová 60/10/1/1. Byl získán [3-fenyl-1-(1H-tetrazol-5-yl)propyl]amid kyseliny 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové, který se rozkládal při 87 °C a který vykazoval molekulový pík $m/z = 425,2$ (MH^+).

5

Příklad 196: Trifluoracetát 3-fenylaminoethyl-2-[(2-pyridin-4-yl-1H-benzoimidazol-5-karbonyl)amino]propionové kyseliny



10

a) L-2-amino-3-fenylaminoethylpropionová kyselina

54,8g (0,209 mol) trifenylofosfinu bylo suspendováno v 600 ml acetonitrilu a s vyloučením vlhkosti byla směs ochlazena na -35 °C až -45 °C. Poté bylo při této teplotě během 50 min přikapáno 36,4 g (0,209 mol) diethylesteru azodikarboxylové kyseliny. Směs byla míchána 15 min při -35 °C. K této směsi byl přikapán roztok 50 g (0,209 mol) N-benzyloxykarbonyl-L-serinu v 500 ml acetonitrilu, tak aby přitom teplota nepřestoupila -35 °C. Směs pak byla ponechána 12 h při teplotě 5 °C a poté byla zahřáta na teplotu místnosti. Reakční roztok byl odpařen za sníženého tlaku a surový produkt byl čištěn na silikagelu pomocí středně tlakové chromatografie. (DCM/AcCN : 25/1). Po odstranění rozpouštědla bylo získáno 20,8 g (výtěžek 45 %) čistého N-benzyloxykarbonyl-L-serin-β-laktonu (viz také Org. Synth. 1991 (70), 1) ve formě jemných jehliček. Strukturní vzorec: $C_{11}H_{11}NO_4$; Mol. hm. = 221,2; MS ($M+H$) 222,1.

K 7,3 ml (57,36 mmol) N-ethylanilinu ve 250 ml acetonitrilu bylo pod argonovou atmosférou přidáno 15,5 ml (63,51 mmol) N,O-bis-(trimethylsilyl)acetamidu a směs byla míchána 3 h při 50 °C. Poté byl k roztoku při 20 °C přidán roztok výše uvedeného laktonu (10,7 g, 48,37 mmol) ve 250 ml acetonitrilu a směs byla 17 h zahřívána k refluxu. Po odstranění rozpouštědla byl zbytek zpracován s nasyceným roztokem uhličitanu sodného tak, aby hodnota pH nepřestoupila 9. Vodná suspenze byla promyta trochou diethyletheru a poté bylo pH nastaveno na hodnotu 6 až 7 pomocí koncentrované kyseliny chlorovodíkové a s $NaHPO_4^-$ bylo pH nastaveno na hodnotu 5. Vodný roztok byl několikrát extrahován s ethylacetátem. Po odpaření rozpouštědla byl získán požadovaný produkt ve výtěžku 45 % (7,4 g). Sumární vzorec: $C_{19}H_{22}N_2O_4$; Mol. hm. = 342,4; MS ($M+H$) 343,2.

K 75 ml methanolu bylo při -10 °C přikapáno 6,5 ml (89,1 mmol) thionylchloridu a směs byla míchána 30 min. Pak byla přidána L-2-aminoethyl-3-fenylaminopropionová kyselina (8,6 g, 25,12 mmol) rozpuštěná v 75 ml methanolu během 30 min při -10 °C a směs byla míchána další 3 h při teplotě místnosti. Po odpaření rozpouštědla byl zbytek rozpuštěn v ethylacetátu a byl promyt roztokem uhličitanu sodného. Po odpaření rozpouštědla a čištění pomocí flash-chromatografie (n-heptan/ethylacetát 7:3) bylo získáno 4,43 g (50% výtěžek) methylesteru L-2-aminoethyl-3-fenylaminopropionové kyseliny. Sumární vzorec: $C_{20}H_{24}N_2O_4$; Mol. hm. = 356,4; MS ($M+H$) 357,3.

K odštěpení chránicí skupiny bylo rozpuštěno 4,4 g (12,35 mmol) Z-chráněného derivátu v 500 ml methanolu. Pak bylo pod inertním plynem přidáno 100 mg katalyzátoru (10% $Pd(OH)_2$ -

C) a byl přiváděn vodík až do úplného odštěpení Z-chránicí skupiny. Po odfiltrování katalyzátoru a odpaření filtrátu bylo získáno 2,8 g L-2-aminoethyl-3-fenylaminopropionové kyseliny (kvant.). Sumární vzorec: $C_{12}H_{18}N_2O_2$; Mol. hm. = 222,3; MS (M+H) 223,1.

5 Reakční krok b)

2,4 g (10,03 mmol) 2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karboxylové kyseliny připravené podle Příkladu 183 bylo suspendováno ve 350 ml DMF a poté bylo přidáno 4,2 g (12,80 mmol) TOTU a 2,3 ml (13,52 mmol) ethyldiisopropylaminu. Směs byla míchána 20 min při teplotě místnosti a ke vzniklému čirému roztoku bylo přidáno 2,8 g (12,60 mmol) methylesteru (S)-2-aminoethyl-3-fenylaminopropionové kyseliny z bodu a). Směs byla míchána 2 h a poté byla odpařena za sníženého tlaku a methylester titulní sloučeniny byl izolován pomocí flash chromatografie na silikagelu (DCM:MeOH = 9:1). Výtěžek: 4,36 g (98 %). Sumární vzorec: $C_{25}H_{25}N_5O_3$; Mol. hm. = 443,5; MS (M+H) 444,3.

4,3 g (9,7 mmol) takto získaného methylesteru byl hydrolyzován ve 400 ml methanolu přidavkem 200 ml 1M hydroxidu sodného 2 h při teplotě místnosti. Po odpaření methanolu bylo pH získané suspenze nastaveno pomocí NaH_2PO_4 na hodnotu 5. Při tom se produkt vyloučil z roztoku. Čištění pomocí flash chromatografie na silikagelu (DCM:MeOH = 4:1) a preparativní HPLC (acetonitril/0,1%/TFA) poskytlo 2,92 g (výtěžek 70 %) trifluoracetátu 3-fenylaminoethyl-2-[(2-pyridin-4-yl-1H-benzimidazol-5-karbonyl)amino]propionové kyseliny. Sumární vzorec: $C_{24}H_{23}N_5O_3$; Mol. hm. = 429,5; MS (M+H) 430,3. Teplota tání: přibližně 258 °C (za rozkladu).

Farmakologické příklady

25 Filtr-test I_kB -kinázy

Aktivita I_kB -kinázy byla určena pomocí „Signa TECT™ Protein Kinase Assay System“ (Promega katalog 1998, str. 330; analogický k Signa TECT™ DNA-Dependent Protein Kinase předpis). Kináza byla čištěna podle Z. J. Chen (Cell 1996, vol. 84, str. 853–862) z HeLa buněčného extraktu a byla inkubována se substrátovým peptidem (Biotin-(CH_2)₆-DRHDSGLDSMKD-CONH₂) (20 μM). Reakční pufr obsahoval 50 mM HEPES, pH 7,5, 10 mM $MgCl_2$, 5 mM dithiothreitol (DTT), 10 mM β-glycerofosfát, 10 mM 4-nitrofenylfosfát, 1 μM mikrocystein-LR a 50 μM ATP (obsahující 1 mCi γ -³³P-ATP).

35 Metoda PKA, PKC, CK II

cAMP-závislé Proteinkináza A (PKA), proteinkináza C (PKC) a kaseinkináza II (CK II) byly určeny pomocí odpovídajících testovacích souprav Upstate Biotechnology podle předpisu výrobce při koncentraci ATP 50 μM. Rozdíl spočívá v tom, že byla namísto fosfocelulózového filtru použita MultiScreen destička (Millipore, Phosphocellulose MS-PH, Kat, MAPHNOB10) s odpovídajícím odsávacím systémem. Destičky nebo membrány (I_kB -kináza) byla nakonec proměřena na Wallac MicroBeta scintilačním počítači. Bylo nasazeno 100 μM testované sloučeniny.

45 Každá sloučenina byla testována v dvojitém pokusu. Od střední hodnoty (enzym se sloučeninou nebo bez ní) byl odečtena střední hodnota slepého pokusu (bez enzymu) a byla spočtena % inhibice. Výpočet IC_{50} byl proveden pomocí softwarového balíku GraFit 3.0. Následující Tabulka 6 shrnuje výsledky.

Tabulka 6: Kinázová inhibice sloučeninou o koncentraci 100 μ M nebo IC_{50} v μ M.

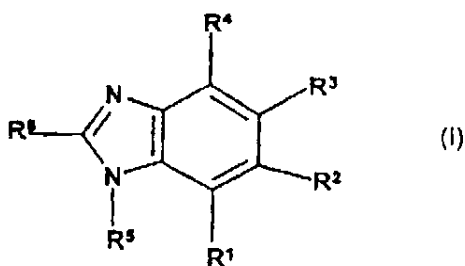
Příklad číslo:	I κ B-Kináza IC_{50}	PKA %- inhibice	PKC %- inhibice	CK II %- inhibice
5	25	0	16	19
6	72	0	46	14
7	22	0	15	10
8	4	0	9	7
11	7	0	16	0
12	42	0	16	0
14	7	0	0	0
16	9	0	11	4
20	1	36	63	70
21	34	26	31	60
35	16	n.b.	n.b.	n.b.
37	36	n.b.	n.b.	n.b.
108	1	0	13	92
113	25	24 %	7 %	17 %
180	0,43	n.b.	n.b.	n.b.
181	0,62	n.b.	n.b.	n.b.
192	0,12	n.b.	n.b.	n.b.
193	0,36	n.b.	n.b.	n.b.
196	0,07	31	40	50

5 n.b. = nebylo stanoveno

10

PATENTOVÉ NÁROKY

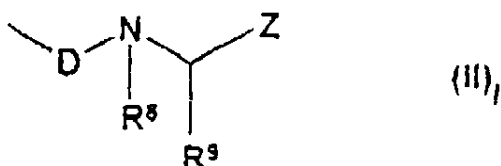
1. Substituovaný benzimidazol vzorce I



15

a/nebo stereoizomerní forma sloučeniny vzorce I a/nebo fyziologicky přijatelná sůl sloučeniny vzorce I, přičemž ve vzorci I

20 R^3 znamená radikál vzorce II



ve kterém

D znamená $-C(O)-$,

5 R^8 znamená vodík nebo (C_1-C_4) -alkyl,

R^9 1. charakteristický radikál nativní α -aminokyseliny zvolené ze souboru sestávajícího z valinu, leucinu, methioninu, a histidinu,

10 2. (C_1-C_6) -alkyl, ve kterém je alkyl přímý a mono-substituován,

2.1 aylem, kde aryl je aromatický uhlíkatý radikál mající 6 až 14 uhlíkových atomů v kruhu a zvolený ze souboru sestávajícího z fenylu, 1-naftylu a 2-naftylu, přičemž aryl je nesubstituován nebo substituován jedním, dvěma nebo třemi stejnými nebo odlišnými radikály ze souboru sestávajícího z (C_1-C_8) -alkylu, (C_1-C_8) -alkoxy, halogenu, nitro, amino, trifluormethylu, hydroxylu, kyano, hydroxykarbonylu, aminokarbonylu, fenylu fenoxu,

2.2 heteroarylem majícím 5 až 14 kruhových členů, kde heteroaryl je radikál zvolený ze souboru sestávajícího z pyrrolu, thiofenu, imidazolu, benzothiofenu, benzimidazolu, 1,3,4-oxadiazolu, pyridinu,

20 pyrimidinu, indolu a chinolinu, přičemž heteroaryl je nesubstituován nebo mono-substituován halogenem,

25 2.3 OR^{11} ,

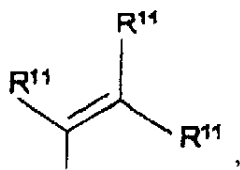
2.4 $-CN$,

2.5 $-S(O)_x-R^{11}$, kde x znamená nulu, 1 nebo 2,

2.6 $-N(R^{11})_2$,

2.7 (C_3-C_6) -cykloalkylem,

30 2.8 radikálem vzorce



ve kterém

35

R^{11} znamená

a) atom vodíku,

40

b) (C_1-C_6) -alkyl, kde alkyl je nesubstituován nebo mono-substituován

1. aylem, kde aryl má výše definovaný význam a je nesubstituován,

45

2. $-N-(C_1-C_6)_n$ -alkylem, kde n znamená celé číslo 1 nebo 2 a alkyl je nesubstituován nebo mono-substituován halogenem,

3. $-O-(C_1-C_6)$ -alkylem,

c) aryl, kde aryl má výše uvedený význam a je nesubstituován nebo substituován výše uvedeným způsobem,

5 d) heteroaryl, kterým je morfolin nebo imidazol,

Z znamená

10 1. 1,3,4-oxadiazol, kde 1,3,4-oxadiazol je nesubstituován nebo mono-substituován $\text{-NH-C(O)-(C}_1\text{-C}_4\text{)-alkylem}$, $\text{-NH-C(O)-NH-(C}_1\text{-C}_4\text{)-alkylem}$,

2. $\text{-(C}_1\text{-C}_6\text{)-alkyl}$, kde alkyl je přímý a nesubstituován nebo mono-substituován -OH ,
nebo

15 3. -C(O)-R^{10} , kde

R^{10} znamená 1. -OR^{11} ,
2. $\text{-N(R}^{11}\text{)}_2$,

20 přičemž každý z ostatních substituentů R^1 , R^2 a R^4 znamenají atom vodíku,

R^5 znamená atom vodíku,

25 R^6 znamená pyridinyl, který je nesubstituován nebo substituován $\text{-NH-(C}_1\text{-C}_6\text{)-alkylem}$, NH-fenylem , $\text{-NH-(C}_3\text{-C}_6\text{)-cykloalkylem}$.

30

Konec dokumentu
