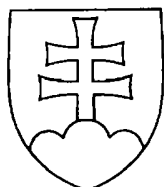


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) **SK**



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA

(11), (21) Číslo dokumentu:

1419-2002

- (22) Dátum podania prihlášky: **3. 4. 2001**
 (31) Číslo prioritnej prihlášky: **60/194 607**
 (32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **5. 4. 2000**
 (33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **US**
 (40) Dátum zverejnenia prihlášky: **4. 3. 2003**
 Vestník ÚPV SR č.: **3/2003**
 (62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
 (86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/US01/10869**
 (87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO01/77113**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁷ :

**C07K 7/06,
C07K 14/18,
C07K 5/062,
C07K 5/065,
C07K 5/087,
C07K 5/107,
A61K 38/05,
A61K 38/06,
A61K 38/07,
A61K 38/08,
A61P 31/14**

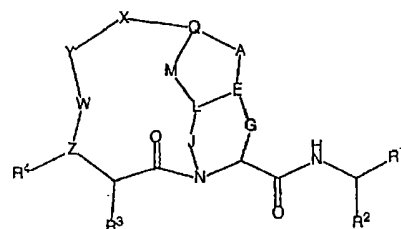
(71) Prihlasovateľ: **SCHERING CORPORATION, Kenilworth, NJ, US;**

(72) Pôvodca: **Chen Kevin X., Iselin, NJ, US;
 Arasappan Ashok, Bridgewater, NJ, US;
 Venkatraman Srikanth, Woodbridge, NJ, US;
 Parekh Tejal N., Woodbridge, NJ, US;
 Gu Haining, Shanghai, CN;
 Njoroge George F., Union, NJ, US;
 Girijavallabhan Viyyoor M., Parsippany, NJ, US;
 Ganguly Ashit, Upper Montclair, NJ, US;
 Saksena Anil, Upper Montclair, NJ, US;
 Jao Edwin, Warren, NJ, US;
 Yao Nanhua H., Irvine, CA, US;
 Prongay Andrew J., Stewartsville, NJ, US;
 Madison Vincent S., Mountain Lakes, NJ, US;
 Vibulbhan Bancha, Kenilworth, NJ, US;**

(74) Zástupca: **Majlingová Marta, Ing., Bratislava, SK;**

(54) Názov **Makrocyclické zlúčeniny, farmaceutický prostriedok s ich obsahom a ich použitie**

(57) Anotácia:
 Zlúčeniny všeobecného vzorca (I), ktoré majú inhibičnú účinnosť k HCV proteáze, spôsoby ich prípravy, farmaceutické prostriedky s ich obsahom, a ich použitie na liečenie porúch spojených s HCV proteázou.



(I)

Makrocyclické zlúčeniny, farmaceutický prostriedok s ich obsahom a ich použitie

Oblasť techniky

Vynález sa týka nových inhibítorov proteázy vírusu hepatitídy C ("HCV"), farmaceutických prostriedkov, ktoré obsahujú jeden alebo viaceré takéto inhibítory, spôsobov prípravy takýchto inhibítorov a spôsobov použitia takýchto inhibítorov na liečenie hepatitídy C a príbuzných porúch. Tento vynález konkrétne opisuje nové, makrocyclické zlúčeniny ako inhibítory HCV NS3/NS4a serín-proteázy.

Doterajší stav techniky

Vírus hepatitídy C (HCV) je (+)-orientovaný jednoprameňový RNA vírus, ktorý sa považuje za hlavnú príčinu non-A, non-B hepatitídy (NANBH), zvlášť pri NANBH spojennej s krvou (BB-NANBH) (pozri medzinárodná patentová prihláška č. WO 89/04669 a európska patentová prihláška č. EP 381216). NANBH sa má rozlišovať od iných typov vírusmi vyvolaných chorôb pečene, ako napríklad vírusovej hepatitídy A (HAV), vírusovej hepatitídy B (HBV), vírusovej delta hepatitídy (HDV), cytomegalovírusu (CMV) a vírusu Epsteina-Barrovej (EBV), ako aj od iných foriem chorôb pečene, ako je napríklad alkoholizmus a primárna biliárna (žlčová) cirhóza.

Nedávno bola zistená, klonovaná a exprimovaná (pozri napríklad U.S. Patent č. 5,712,145) HCV proteáza potrebná na vývoj polypeptidov pri vírusovej replikácii. Tento približne 3000 aminokyselinový polyproteín obsahuje od zakončenia aminoskupinou po zakončenie karboxyskupinou nukleokapsidový proteín (C), obálkové proteíny (E1 a E2) a viaceré neštruktúrne proteíny (NS1, 2, 3, 4a, 5a a 5b). NS3 je približne 68 kDa proteín, kódovaný pomocou približne 1893 nukleotidov HCV genómu a má dve odlišné domény: (a) serín-proteázovú doménu pozostávajúcu z približne 200 N-koncových aminokyselín; a (b) RNA-závislú ATP-ázovú doménu na C-zakončení proteínu. NS3 proteáza sa považuje za člena chymotrypsínovej rodiny vzhľadom na podobnosti proteínovej sekvencie, celkovú trojrozmernú štruktúru a mechanizmus katalýzy. Inými chymotrypsínu podobnými

enzýmami sú elastáza, faktor Xa, trombín, trypsín, plazmín, urokináza, tPA a PSA. HCV NS3 serín-proteáza je zodpovedná za proteolýzu polypeptidov (polyproteínov) na NS3/NS4a, NS4a/NS4b, NS4b/NS5a a NS5a/NS5b spojeniach a je teda zodpovedná za generovanie štyroch vírusových proteínov počas vírusovej replikácie. To urobilo z HCV NS3 serín-proteázy atraktívny cieľ antivírusovej chemo-terapie.

Zistilo sa, že NS4a proteín, približne 6 kDa polypeptid, je ko-faktorom na činnosť serín-proteázy NS3. Autoštiepenie NS3/NS4a spojenia pomocou NS3/NS4a serín-proteázy nastáva intramolekulárne (t.j. *cis*), kým iné štiepne miesta reagujú intermolekulárne (t.j. *trans*).

Analýza prirodzených štiepných miest HCV proteázy odhalila prítomnosť cysteínu na P1 a serínu na P1' a že tieto zvyšky sa prísne zachovávajú v NS4a/NS4b, NS4b/NS5a a NS5a/NS5b spojeniach. NS3/NS4a spojenie obsahuje treonín na P1 a serín na P1'. Cys → Thr substitúcia na NS3/NS4a je postulovaná ako podmienka skôr *cis* než *trans* pôsobenia na tomto spojení. Pozri napríklad, Pizzi a spol. (1994) Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 91: 888 - 892, Failla a spol. (1996) Folding & Design 1: 35 - 42. NS3/NS4a štiepne miesto je tiež tolerantnejšie k mutagenéze než iné miesta. Pozri napríklad, Kollykhalov a spol. (1994) J. Virol. 68: 7525 - 7533. Tiež sa zistilo, že na účinné štiepenie sú požadované kyselinové zvyšky v oblasti smerom k štiepnemu miestu. Pozri napríklad Komoda a spol. (1994) J. Virol. 68: 7351 - 7357.

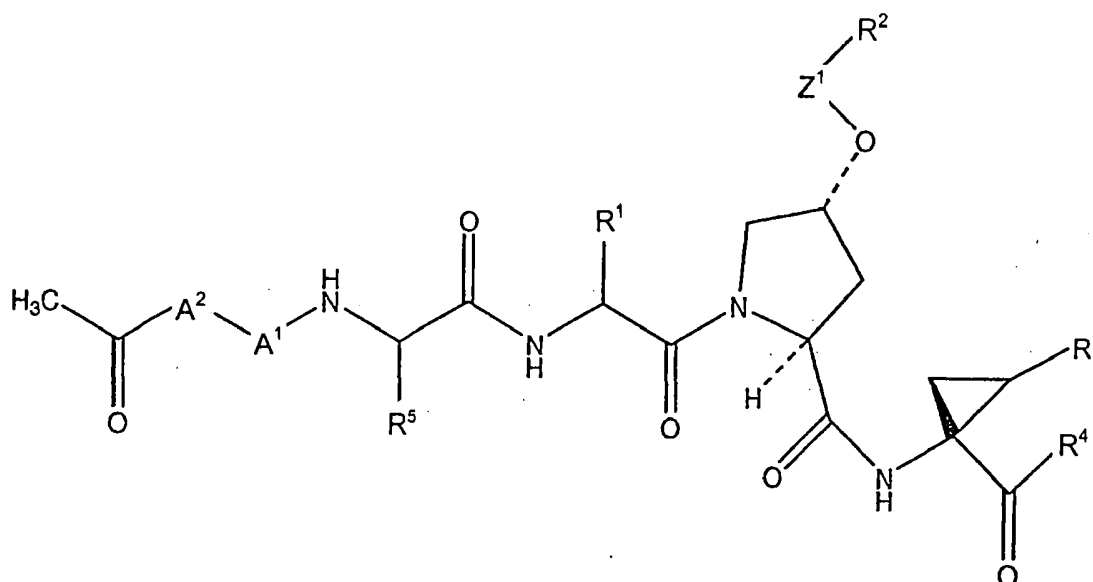
Inhibítory HCV proteázy, ktoré boli doteraz opísané, zahŕňujú antioxidanty (pozri medzinárodná patentová prihláška č. WO 98/14181), určité peptidy a peptidové analógy (pozri medzinárodná patentová prihláška č. WO 98/17679, Landro a spol. (1997) Biochem. 36: 9340 - 9348, Ingallinella a spol. (1998) Biochem. 37: 8906 - 8914, Llinas-Brunet a spol. (1998) Bioorg. Med. Chem. Lett. 8: 1713 - 1718), inhibítory založené na 70-aminokyselinovom polypeptide „eglin c“ (Martin a spol. (1998) Biochem. 37: 11459 - 11468, inhibítorom príbuzné látky vybrané z ľudského pankreatického sekrečného trypsínového inhibítora (hPSTI-C3) a súborov miniteliesok (MBip) (Dimasi a spol. (1997) J. Virol. 71: 7461 - 7469), CV_HE2 ("kamelizovaná" premenná doména protilátkového fragmentu) (Martin a spol. (1997) Protein Eng. 10: 607 - 614), a α1-antichymotrypsín (ACT) (Elzouki a

spol.) (1997) J. Hepat. 27: 42 - 28). Nedávno bol opísaný ribozým určený na selektívnu deštrukciu RNA vírusu hepatitídy C (pozri BioWorld Today 9 (217): 4 (10. novembra 1998)).

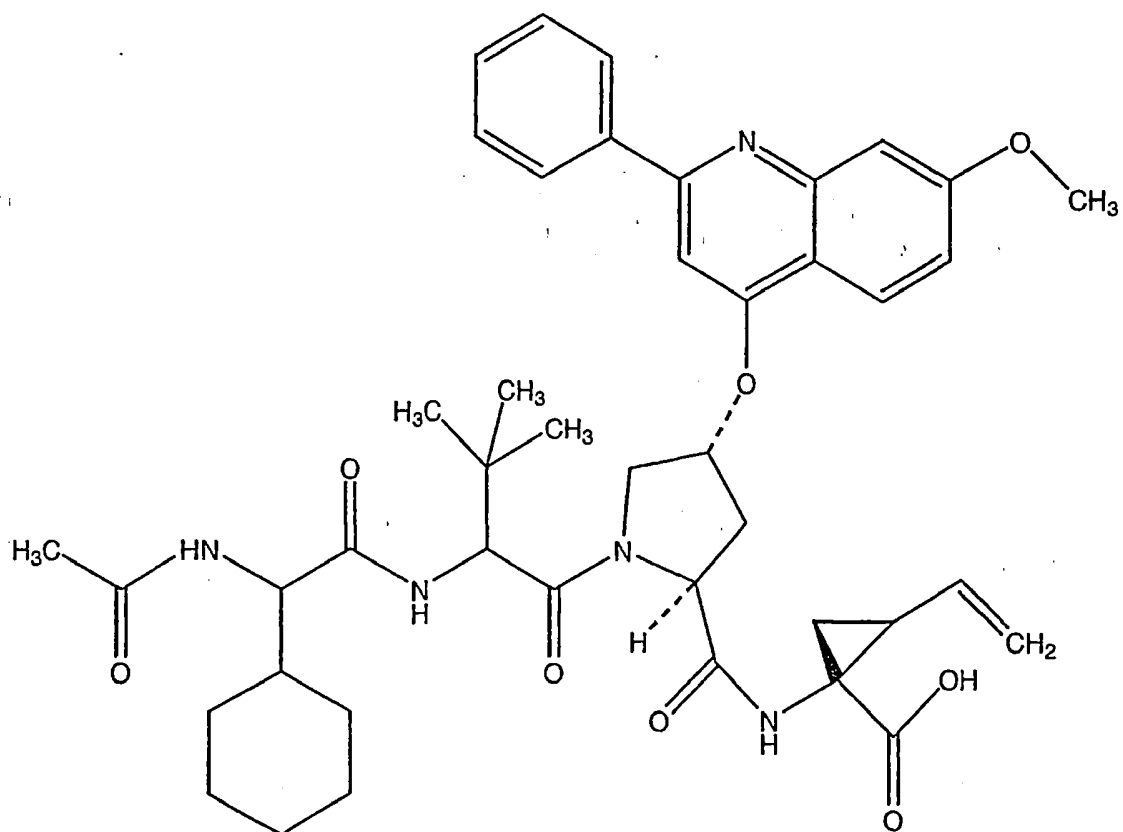
Uvádzame tiež odkazy na PCT patentové prihlášky č. WO 98/17679, zverejnená 30. apríla, 1998 (Vertex Pharmaceuticals Incorporated); WO 98/22496, zverejnená 28. mája, 1998 (F. Hoffmann-La Roche AG); a WO 99/07734, zverejnená 18. februára, 1999 (Boehringer Ingelheim Canada Ltd.).

HCV bol priradený k cirhóze pečene a k vyvolaniu hepatocelulárneho karcinómu. Prognóza pre pacientov trpiacich HCV infekciou je v súčasnosti zlá. HCV infekcia sa ťažšie lieči než iné formy hepatitídy v dôsledku nedostatku imunity alebo remisie spojennej s HCV infekciou. Súčasné údaje indikujú menej než 50 % mieru prežitia štyri roky po diagnóze cirhózy. Pacienti, u ktorých bol diagnostikovaný lokalizovaný operovateľný hepatocelulárny karcinóm, majú päťročnú mieru prežitia 10 až 30 %, zatiaľ čo tí, ktorí majú lokalizovaný neoperovateľný hepatocelulárny karcinóm, majú päťročnú mieru prežitia menej než 1 %.

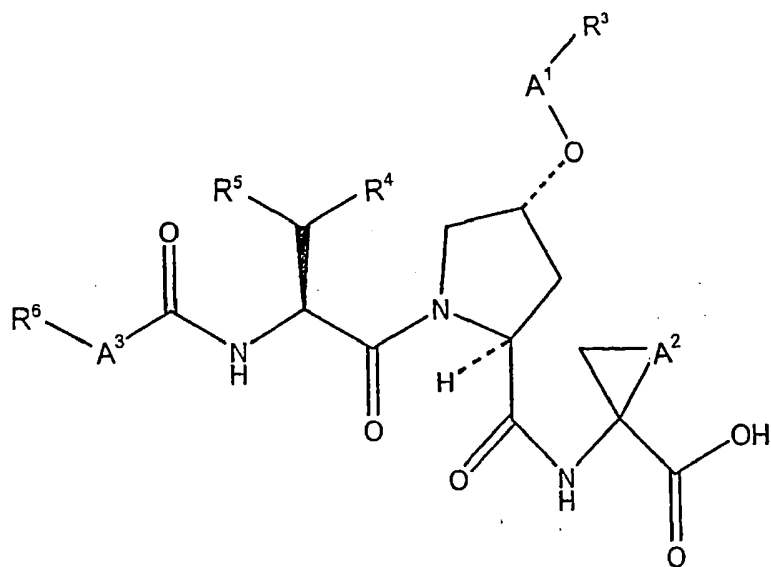
Uvádzame tiež odkaz na WO 00/09558 (patriaci: Boehringer Ingelheim Limited; zverejnený 24. februára, 2000), ktorý opisuje peptidové deriváty všeobecného vzorca



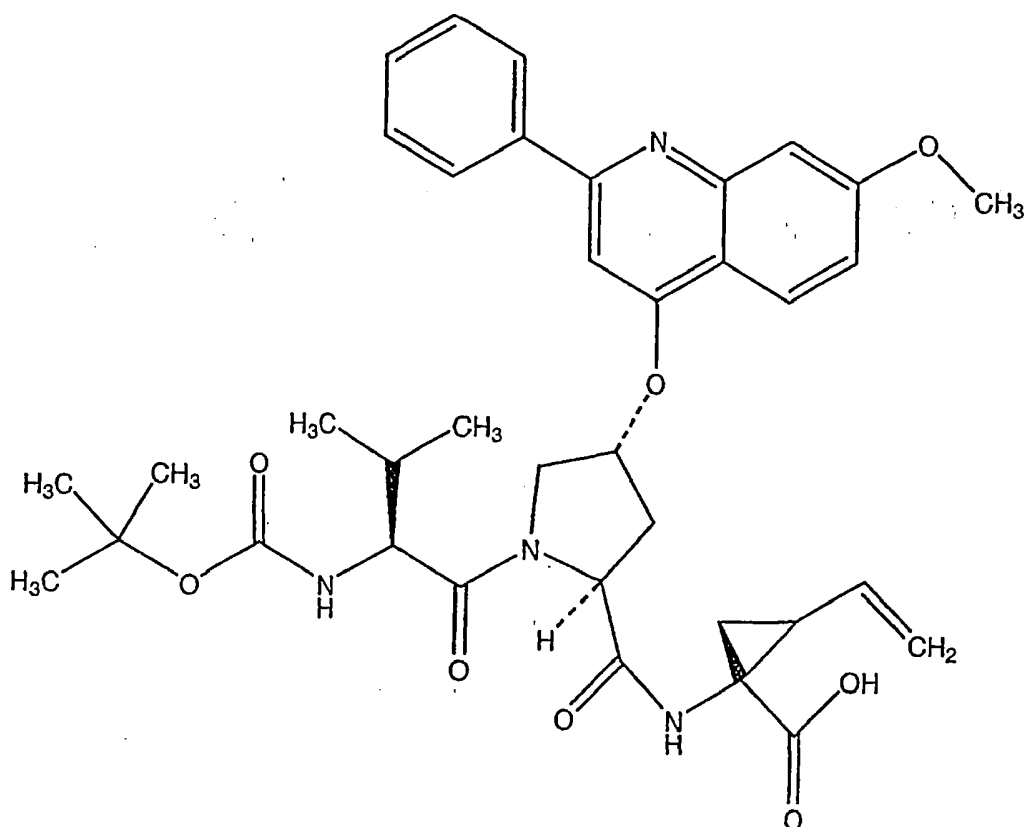
kde rôzne prvky sú definované v uvedenom dokumente. Ilustračná zlúčenina tejto série je:



Uvádame tiež odkaz na WO 00/09543 (patriaci: Boehringer Ingelheim Limited; zverejnený 24. februára, 2000), ktorý opisuje peptidové deriváty všeobecného vzorca



kde rôzne prvky sú definované v uvedenom dokumente. Ilustračná zlúčenina tejto série je:



Súčasné terapie hepatitídy C zahŕňujú interferón- α (INF α) a kombinovanú terapiu s ribavirínom a interferónom. Pozri napríklad Beremguor a spol. (1998) Proc. Assoc. Am. Physicians 110(2): 98 - 112. Tieto terapie trpia nízkou trvalou mierou odozvy a častými vedľajšími účinkami. Pozri napríklad Hoofnagle a spol. (1997) N. Engl. J. Med. 336: 347. V súčasnosti nie je dostupná žiadna vakcína pre HCV infekciu.

Existuje potreba nového liečenia a terapií pre HCV infekciu. Preto je cieľom tohto vynálezu poskytnúť zlúčeniny užitočné na liečenie alebo prevenciu alebo zlepšenie jedného alebo viacerých symptómov hepatitídy C.

Ďalším cieľom tohto dokumentu je poskytnúť spôsob liečenia alebo prevencie alebo zlepšenia jedného alebo viacerých symptómov hepatitídy C.

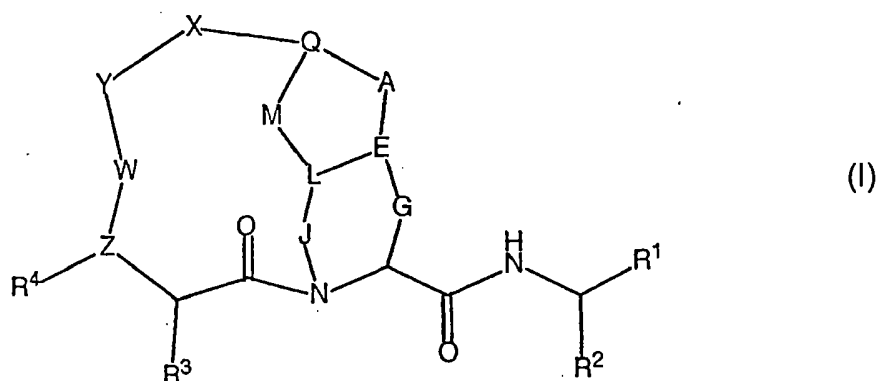
Ešte ďalším cieľom tohto vynálezu je poskytnúť spôsob modulovania činnosti serín-proteáz, zvlášť HCV NS3/NS4a serín-proteázy, použitím zlúčeniny poskytovanej v tomto dokumente.

Iným cieľom vynálezu je poskytnúť spôsob modulovania prepracovania HCV polypeptidu použitím zlúčeniny poskytovanej v tomto dokumente.

Podstata vynálezu

Vo svojich mnohých uskutočneniach, tento vynález poskytuje novú triedu makrocyclických inhibítorov HCV proteázy, farmaceutických prostriedkov, ktoré obsahujú jednu alebo viaceré tieto zlúčeniny, spôsoby prípravy farmaceutických prípravkov obsahujúcich jednu alebo viaceré takéto zlúčeniny, a spôsoby liečenia, prevencie alebo zlepšenia jedného alebo viacerých symptómov hepatitídy C. Poskytujú sa tiež spôsoby modulovania interakcie HCV polypeptidu s HCV proteázou. Medzi zlúčeninami poskytovanými v tomto vynáleze sú výhodné zlúčeniny, ktoré inhibujú činnosť HCV NS3/NS4a serín-proteázy. Teraz opísané zlúčeniny všeobecne obsahujú asi tri alebo viac aminokyselinových zvyškov a menej ako asi dvanásť aminokyselinových zvyškov.

Podstatou vynález je makrocyclická zlúčenina všeobecného vzorca I



kde

X a Y sú nezávisle vybrané zo skupiny substituentov: alkyl, alkyl-aryl, heteroalkyl, heteroaryl, aryl-heteroaryl, alkyl-heteroaryl, cykloalkyl, alkyléter, alkyl-aryléter, aryléter, alkylaminoskupina, arylaminoskupina, alkyl-arylamínoskupina, alkylsulfid, alkyl-arylsulfid, arylsulfid, alkylsulfón, alkyl-arylsulfón, arylsulfón, alkylalkylsulfoxid, alkyl-arylsulfoxid, alkylamid, alkyl-arylamid, arylamid, alkylsulfónamid, alkyl-arylsulfónamid, arylsulfónamid, alkylmočovina, alkyl-arylmočovina, aryl-močovina, alkylkarbamát, alkyl-arylkarbamát, arylkarbamát, alkyl-hydrazid, alkyl-aryl-hydrazid, alkyl-hydroxamid, alkyl-aryl-hydroxamid, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroalkyl-sulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylkarbonyl, arylkarbonyl, heteroalkyl-karbonyl,

heteroarylkarbonyl, alkoxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxy-karbonyl, alkylaminokarbonyl, arylaminokarbonyl, heteroarylaminokarbonyl alebo ich kombinácia, s výhradou, že X a Y môžu voliteľne byť okrem toho substituované skupinami vybranými zo skupiny pozostávajúcej zo substituentov: aromát, alkyl, alkyl-aryl, heteroalkyl, aryl-heteroaryl, alkylheteroaryl, cykloalkyl, alkyléter, alkyl-aryléter, alkylsulfid, alkyl-arylsulfid, alkylsulfón, alkyl-arylsulfón, alkylamid, alkyl-arylamid, alkylsulfónamid, alkylamíny, alkyl-arylamíny, alkyl-aryl-sulfónamid, alkylmočovina, alkyl-arylmočovina, alkylkarbamát a alkyl-arylkarbamát;

$R^1 = COR^5$ alebo $B(OR)_2$, kde $R^5 = H, OH, OR^8, NR^9R^{10}, CF_3, C_2F_5, C_3F_7, CF_2R^6, R^6, COR^7$, kde $R^7 = H, OH, OR^8, CHR^9R^{10}$ alebo NR^9R^{10} , kde R^6, R^8, R^9 a R^{10} sú nezávisle vybrané zo skupiny pozostávajúcej zo substituentov: H, alkyl, aryl, heteroalkyl, heteroaryl, cykloalkyl, cykloalkyl, arylalkyl, heteroarylalkyl, $CH(R^{1'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})COOR^{11}$,

$CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})R'$,

$CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})COOR^{11}$,

$CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONR^{12}R^{13}$,

$CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})COOR^{11}$,

$CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})CONR^{12}R^{13}$,

$CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})CONHCH(R^{5'})COOR^{11}$,

$CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONHCH(R^{3'})CONHCH(R^{4'})CONHCH(R^{5'})CONR^{12}R^{13}$,

kde $R^{1'}, R^{2'}, R^{3'}, R^{4'}, R^{5'}, R^{11}, R^{12}, R^{13}$ a R' sú nezávisle vybrané zo skupiny pozostávajúcej zo substituentov: H, alkyl, aryl, heteroalkyl, heteroaryl, cykloalkyl, alkyl-aryl, alkyl-heteroaryl, aryl-alkyl a heteroalkyl;

Z je vybrané z O, N alebo CH;

W môže byť prítomný alebo neprítomný, a ak W je prítomný, W je vybrané z C=O, C=S alebo SO_2 ;

Q môže byť prítomný alebo neprítomný, a keď Q je prítomný, Q je CH, N, P, $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, (CRR') , O, NR, S alebo SO_2 ; a keď Q je neprítomný, M je tiež neprítomný, a A je priamo naviazaný na X;

A je O, CH_2 , $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')$, (CRR') , NR, S, SO_2 alebo väzba;

E je CH, N alebo CR, alebo dvojité väzba na A, L alebo G;

G môže byť prítomný alebo neprítomný, a keď G je prítomný, G je $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$,

alebo $(CRR')_p$; a keď G je neprítomný, J je prítomný a E je priamo spojený s uhlíkovým atómom, kde G bol pripojený;

J môže byť neprítomný alebo prítomný, a keď J je prítomný, J je $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, alebo $(CRR')_p$, SO_2 , NH , NR alebo O ; a keď J je neprítomný, G je prítomný a E je priamo naviazaný na N;

L môže byť prítomný alebo neprítomný, a keď L je prítomný, L je CH , CR , O , S alebo NR ; a keď L je neprítomný, potom M môže byť neprítomný alebo prítomný, a ak

M je prítomný, pričom L je neprítomný, potom M je priamo a nezávisle naviazaný na E, a J je priamo a nezávisle naviazaný na E;

M môže byť prítomný alebo neprítomný, a keď M je prítomný, M je O , NR , S , SO_2 , $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$ alebo $(CRR')_p$;

p je číslo od 0 do 6; a

R , R' , R^2 , R^3 a R^4 sú nezávisle vybrané zo skupiny pozostávajúcej zo substituentov: H ; C_1 - C_{10} -alkyl; C_2 - C_{10} -alkenyl; C_3 - C_8 -cykloalkyl; C_3 - C_8 -heterocykloalkyl, alkoxyl, aryloxyskupina, alkyltioskupina, aryltioskupina, aminoskupina, amidoskupina, ester, karboxylová kyselina, karbamát, močovina, ketón, aldehyd, kyanoskupina, nitroskupina; atómy kyslíka, dusíka, síry alebo fosforu, pričom počet týchto kyslíkových, dusíkových, sírových alebo fosforových atómov je od nula do šesť;

(cykloalkyl)alkyl a (heterocykloalkyl)alkyl, kde tento cykloalkyl je zložený z troch až ôsmich uhlíkových atómov, a nula až šesť kyslíkových, dusíkových, sírových, alebo fosforových atómov, a tento alkyl je z jedného až šiestich uhlíkových atómov; aryl; heteroaryl; alkyl-aryl; a alkyl-heteroaryl;

pričom tento alkyl, heteroalkyl, alkenyl, heteroalkenyl, aryl, heteroaryl, cykloalkyl a heterocykloalkyl môže byť voliteľne substituovaný, pričom pojem "substituovaný" zodpovedá voliteľnej a vhodnej substitúcii s jednou alebo viacerými skupinami vybranými zo skupiny pozostávajúcej zo substituentov: alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, aralkyl, cykloalkyl, heterocyklus, halogén, hydroxyskupina, tioskupina, alkoxy-skupina, aryloxyskupina, alkyltioskupina, aryltioskupina, aminoskupina, amidoskupina, ester, karboxylová kyselina, karbamát, močovina, ketón, aldehyd, kyano-skupina, nitroskupina, sulfónamid, sulfoxid, sulfón, sulfonylmočovina, hydrazid a hydroxamát.

Ak to nie je definované inak, všetky technické a vedecké pojmy použité v tomto dokumente majú rovnaký význam, ako je bežne chápané odborníkmi v tejto oblasti techniky, do ktorej tento vynález patrí. Teda napríklad pojem alkyl (vrátane alkylových častí alkoxy skupiny) znamená monovalentnú skupinu odvodenú od priameho alebo rozvetveného reťazca nasýteného uhľovodíka pomocou odstránenia jedného atómu, ktorý má od 1 do 8 uhlíkových atómov, výhodne od 1 do 6;

aryl - znamená karbocyklickú skupinu, ktorá má od 6 do 14 uhlíkových atómov a má najmenej jeden benzenoidný kruh, pričom všetky dostupné substituovateľné aromatické uhlíkové atómy karbocyklickej skupiny sú uvažované ako možné body pripojenia. Výhodné arylové skupiny zahŕňujú fenyl, 1-naftyl, 2-naftyl a indanyl, a zvlášť fenyl a substituovaný fenyl;

aralkyl - znamená skupinu, ktorá obsahuje arylovú skupinu naviazanú cez nižší alkyl;

alkylaryl - znamená skupinu, ktorá obsahuje nižší alkyl naviazaný cez arylovú skupinu;

cykloalkyl - znamená nasýtený karbocyklický kruh, ktorý má od 3 do 8 uhlíkových atómov, výhodne 5 alebo 6, voliteľne substituovaný.

heterocyklus - znamená, okrem heteroarylových skupín definovaných nižšie, nasýtené a nenasýtené cyklické organické skupiny, ktoré majú najmenej jeden O, S a/alebo N atóm prerušujúci karbocyklickú kruhovú štruktúru, ktorá pozostáva z jedného kruhu alebo dvoch kondenzovaných kruhov, kde každý kruh je 3 až 9-členný a môže alebo nemusí mať dvojité väzby, ktorý má nedostatok delokalizovaných pi elektrónov, pričom kruhová štruktúra má od 2 do 8, výhodne od 3 do 6 uhlíkových atómov, napríklad 2- alebo 3-piperidiny, 2- alebo 3-piperaziny, 2- alebo 3-morfoliny, alebo 2- alebo 3-tiomorfoliny;

halogén - znamená fluór, chlór, bróm a jód;

heteroaryl - znamená cyklickú organickú skupinu, ktorá má najmenej jeden O, S a/alebo N atóm prerušujúci karbocyklickú kruhovú štruktúru, a ktorá má dostatočný počet delokalizovaných pi elektrónov, čím sa poskytne aromatický charakter, pričom aromatická heterocyklická skupina má od 2 do 14, výhodne 4 alebo 5 uhlíkových atómov, napríklad 2-, 3- alebo 4-pyridyl, 2- alebo 3-furyl, 2-

alebo 3-tienyl, 2-, 4- alebo 5-tiazolyl, 2- alebo 4-imidazolyl, 2-, 4- alebo 5-pyrimidinyl, 2-pyrazinyl, alebo 3- alebo 4-pyridaziny, atď. Výhodné heteroarylové skupiny sú 2-, 3- a 4-pyridyl; Takéto heteroarylové skupiny môžu tiež byť voliteľne substituované.

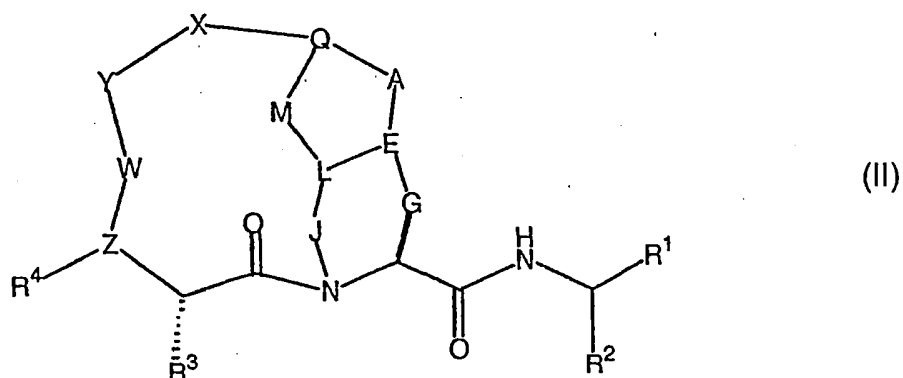
Vynález tiež zahrnuje tautoméry, enantioméry a iné optické izoméry zlúčeniny všeobecného vzorca I, ako aj jej farmaceuticky prijateľné soli a solváty.

Ďalej vynález zahrnuje farmaceutické prostriedky, ktoré obsahujú ako aktívnu zložku zlúčeninu všeobecného vzorca I (alebo jej soľ, solvát alebo izoméry) spolu s farmaceuticky prijateľným nosičom alebo vehikulom.

Vynález tiež poskytuje spôsob prípravy zlúčeniny všeobecného vzorca I, ako aj použitie týchto zlúčení na liečenie takých chorôb, ako napríklad HCV a príbuzných porúch. Toto liečenie zahrnuje podávanie pacientovi trpiacemu touto chorobou alebo chorobami terapeuticky účinné množstvo zlúčeniny všeobecného vzorca I, alebo farmaceutického prostriedku obsahujúceho zlúčeninu všeobecného vzorca I.

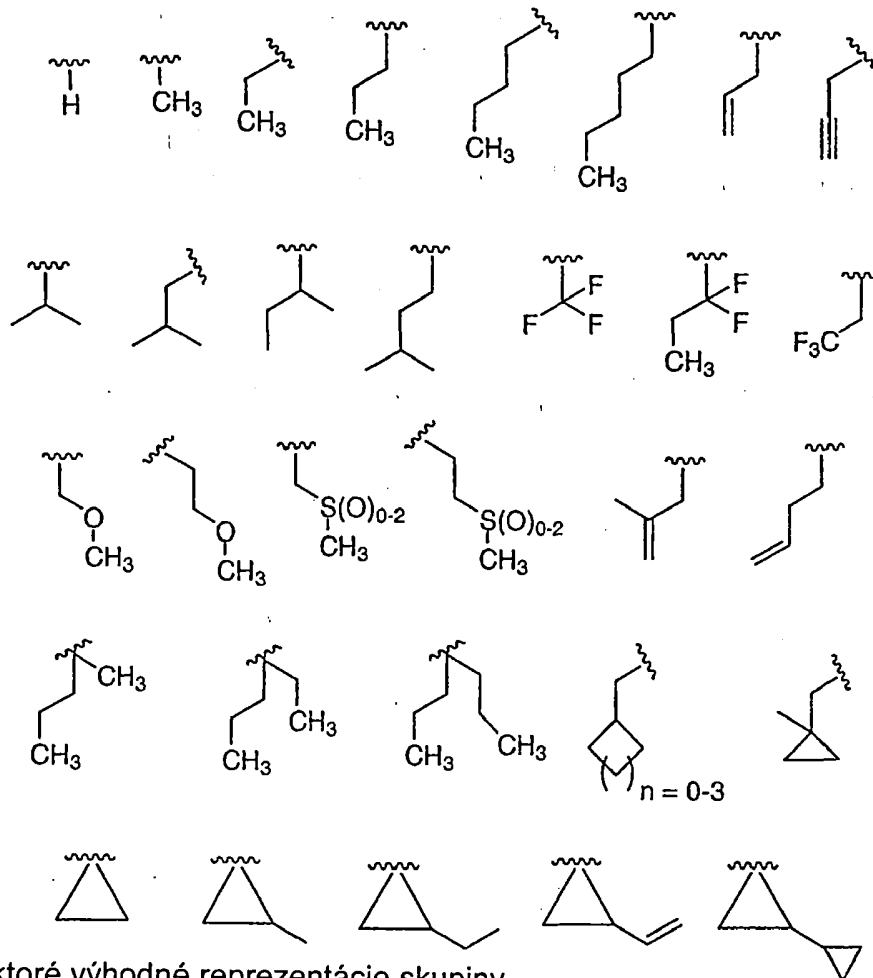
Opisuje sa tiež použitie zlúčeniny všeobecného vzorca I na výrobu liekov na liečenie HCV a príbuzných porúch.

V jednom uskutočnení, tento vynález opisuje zlúčeniny všeobecného vzorca I ako inhibítory HCV proteázy, zvlášť HCV NS3/NS4a serín-proteázy. Medzi zlúčeninami všeobecného vzorca I sú výhodnými zlúčeninami tie, ktoré majú všeobecný vzorec II

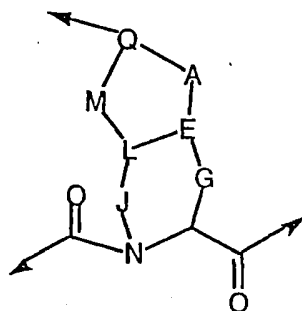


alebo ich farmaceuticky prijateľné deriváty, kde substituenty sú určené vyššie. Niektoré výhodné uskutočnenia zahŕňujú, ale nie sú na ne obmedzené, nasledujúce definície rôznych funkčných skupín vo vyššie uvedených všeobecných vzorcoch I a

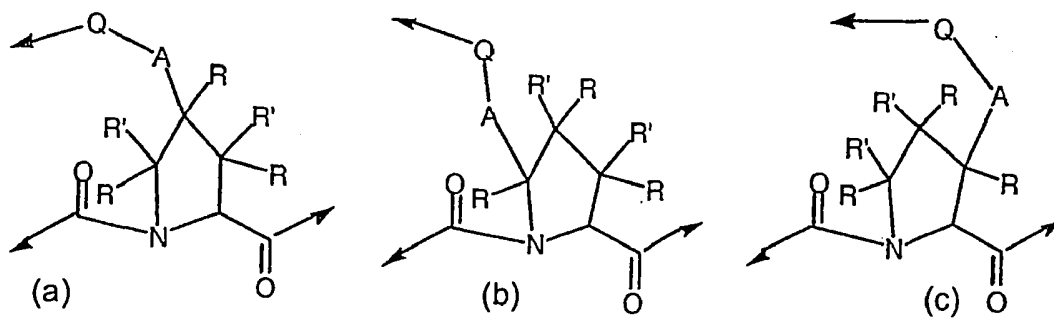
II. Teda napríklad, R^2 vo všeobecnom vzorci I môže byť vybraný z nasledujúcich skupín:



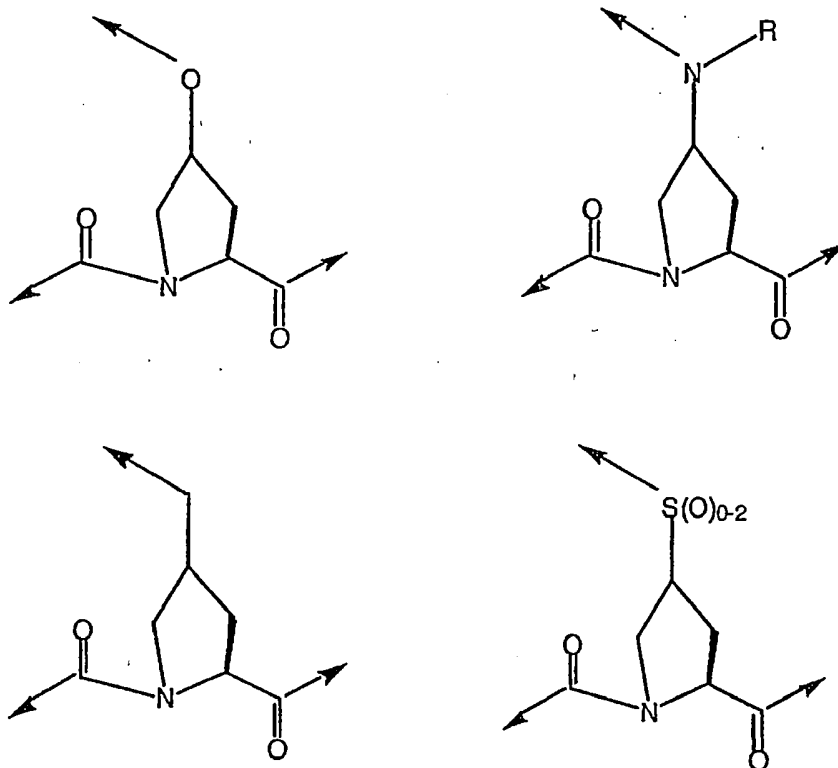
Niektoré výhodné reprezentácie skupiny



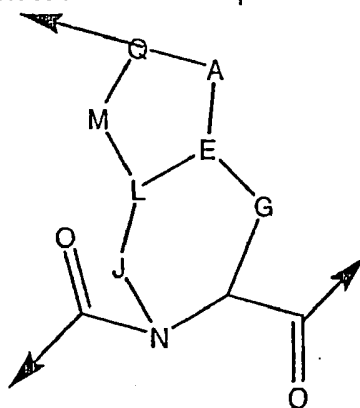
sú napríklad, nasledujúce štruktúry a, b, alebo c:



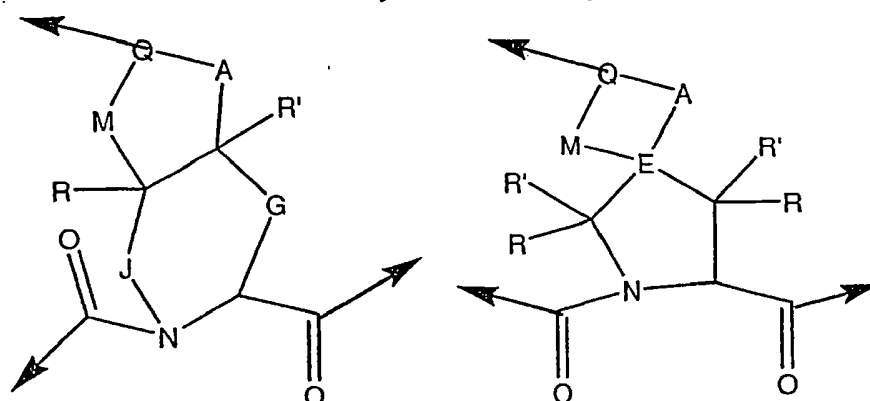
Štruktúra a môže byť vybraná z nasledujúcich neobmedzujúcich typov štruktúr:



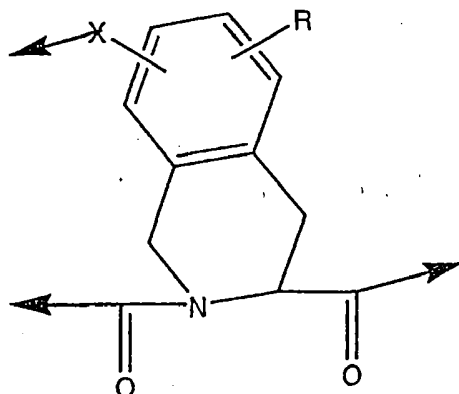
Iné ďalšie výhodné uskutočnenia sú napríklad tie, kde skupina:



sú niektoré nasledujúce štruktúry, kde definície rôznych polôh sú uvedené ako príklady v štruktúrach zlúčenín uvedených neskôr v tejto časti:

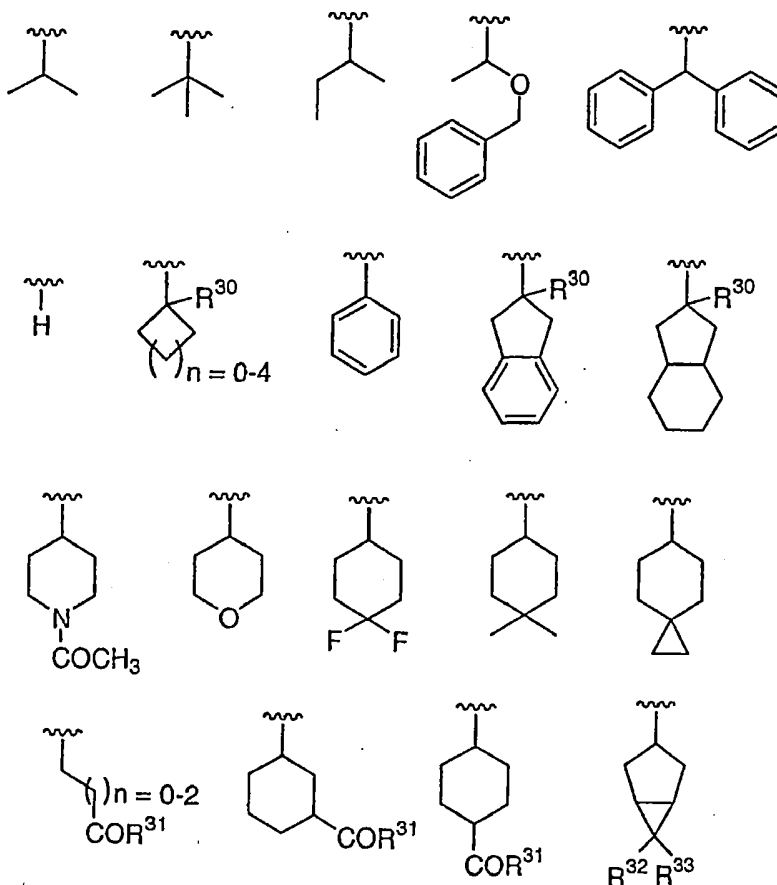


alebo



V niektorých výhodnejších zlúčeninách, skupiny G a J sú nezávisle vybrané z $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$ a $(CRR')_p$, a skupiny A-E-L-M-Q sú aromatický kruh pozostávajúci z dvoch až ôsmich uhlíkových atómov, nula až šesť heteroatómov pričom X a J sú navzájom *orto*, *para* alebo *meta*.

V iných výhodných uskutočneniach je R^3 vo všeobecnom vzorci I vybraný z nasledujúcich štruktúr:

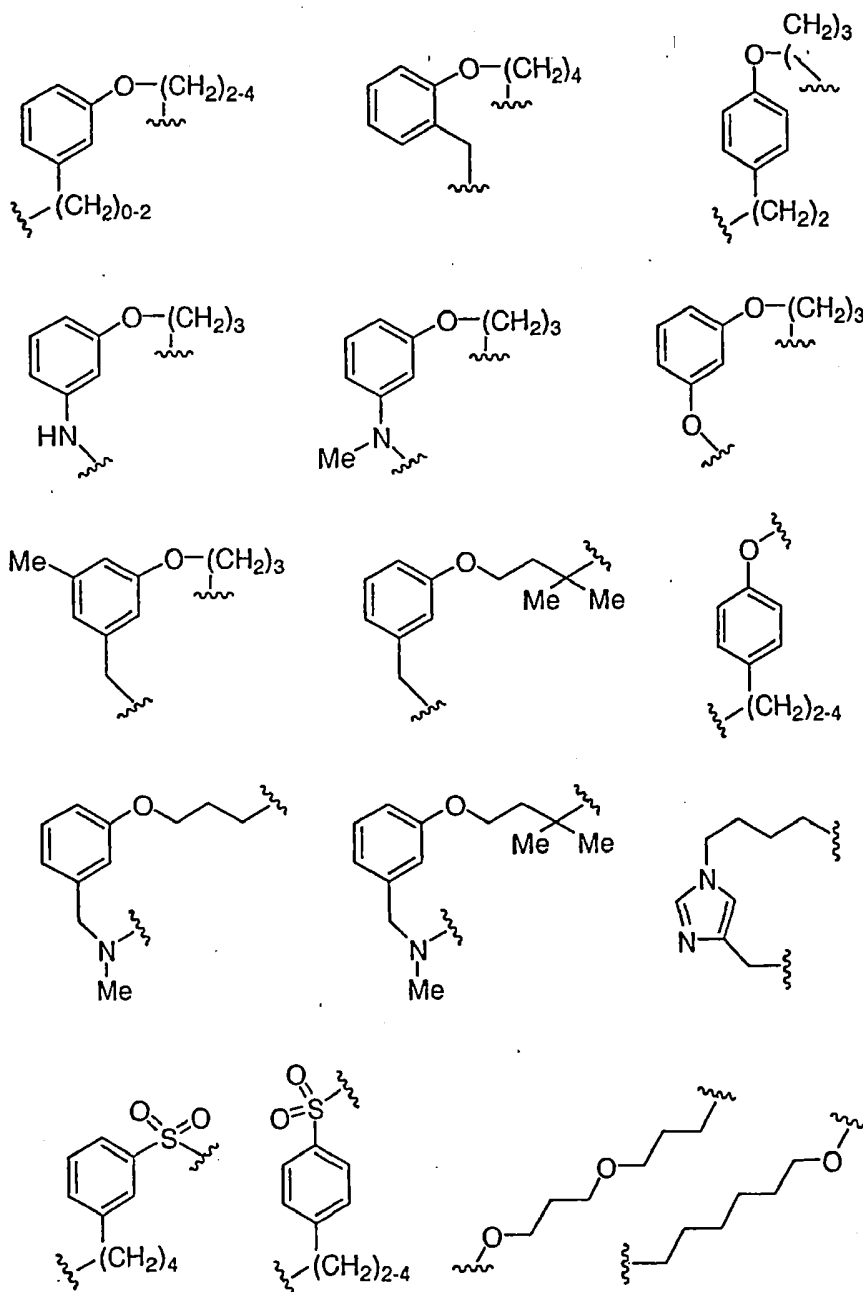


kde R^{30} je H, CH_3 alebo iné alkylové skupiny;

R³¹ je OH, O-alkyl, NH₂ alebo N-alkyl;

R^{32} a R^{33} môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú nezávisle vybrané z H, F, Cl, Br a CH_3 ;

a skupiny X-Y sú vybrané z nasledujúcich štruktúr:



Viacere dodatočné a ďalšie upresnenia vyššie uvedených rôznych definícií zlúčenín všeobecného vzorca I sú uvedené v časti Patentové nároky tejto prihlášky. Sú tiež predstavované rôznymi zlúčeninami uvedenými v špecifikácii nárokov. Takéto upresnenia, definície a obmedzenia sa považujú ako upresnenia reprezentujúce celý vynález tejto prihlášky.

Reprezentačné zlúčeniny podľa tohto vynálezu, ktoré vykazujú vynikajúcu inhibičnú aktivitu k HCV proteáze sú uvedené nižšie spolu s ich aktivitou (rozsahy K_i hodnôt v nanomolárnom rozsahu, nmol/l). Číslo Príkladov označujú čísla rôznych štruktúr v časti Príklady nachádzajúcej sa v ďalšej časti tejto prihlášky.

Tabuľka 1: Výsledky priebežnej skúšky HCV proteázy

Číslo Príkladu	K_i^* (nmol/l)
1A	a
1B	b
2	b
3	b
4A	a
4B	b
5	b
6	b
7A	a
7B	b
8	a
9	b
10A	a
10B	b
11	a
12A	a
12B	b
13A	a
13B	b
14	b
15	b
16	b
17	b

18	b
19	b
20A	a
20B	b
21	a
22	b
23	a
24	a
25	a
26A	a
26B	a
27A	a
27B	b
28A	a
28B	b
29A	a
29B	b
30	b
31	b
37A	a
37B	a
38A	a
38B	a
39	a
40	a
41	a
42	a
43	b
44A	a
44B	a

46	a
53A	a
53B	a
56A	a
56B	a
57A	a
57B	b
58	a
59A	b
59B	b
60	a
61	a
62	a
63	a
64	a
65	b
66A	a
66B	b
67A	a
67B	b
68	b
69A	a
69B	b
70A	a
70B	b
71	b
72	b
73	a
74A	a
74B	b

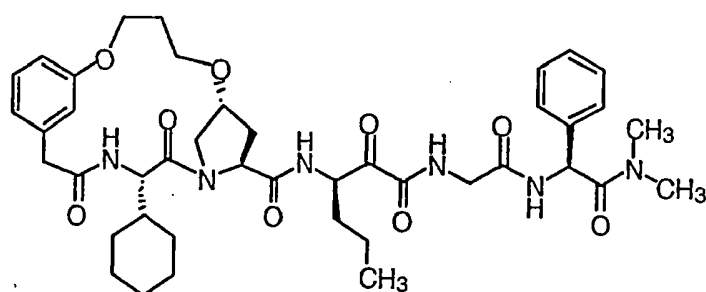
75A	a
75B	b
76	b
77	a
78	a
79	a
80	b
81	a
82	a
83	b
84	a
85	a
86	a
87	a
88	a
89	a
90	a
91	a
92	b
93	a
94	a
95	b
96	a
97	a
98	b
99	a
100	a
101	b
102	a
103	a

104	a
105	a
106	a
107	a
108	a
109	a
110	b
111	b

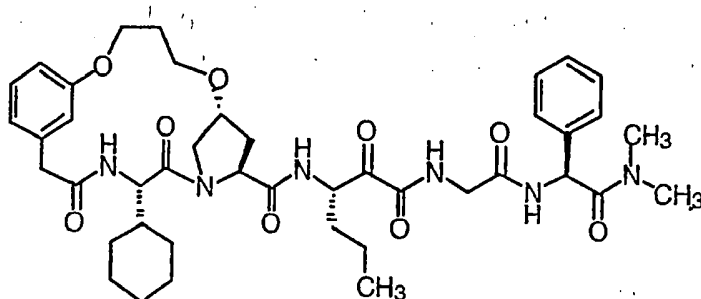
HCV priebežná skúška Ki* rozsahu:

Kategória b = 1 až 100 nmol/l; Kategória a = 101 nmol/l až 100 μ mol/l

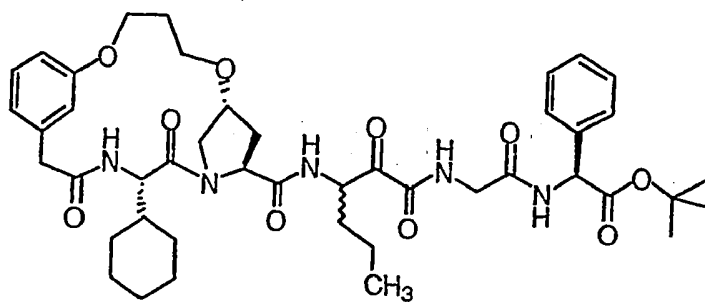
Niektoré zlúčeniny podľa vynálezu a spôsoby syntézy rôznych typov zlúčenín podľa vynálezu sú uvedené prehľadne nižšie, potom sú schematicky opísané a nasledované ilustračnými príkladmi.



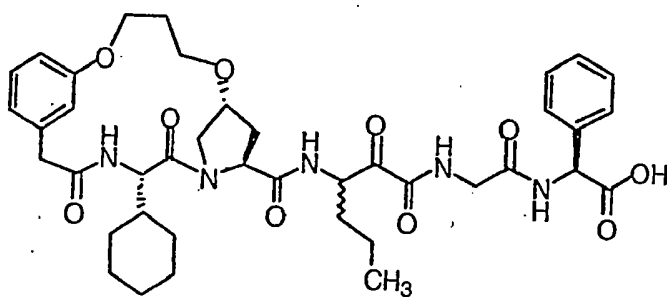
(1A)



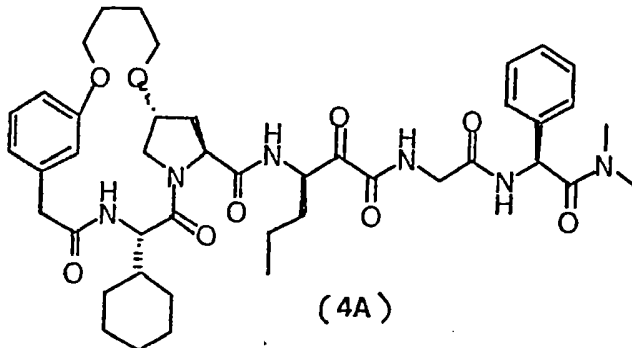
(1B)



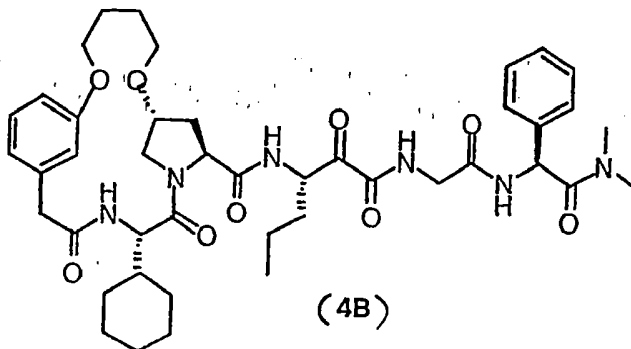
(2)



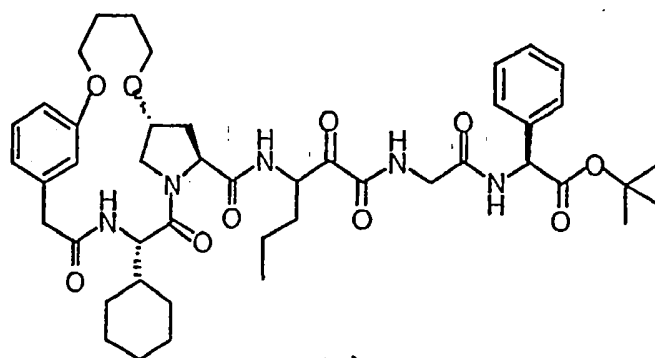
(3)



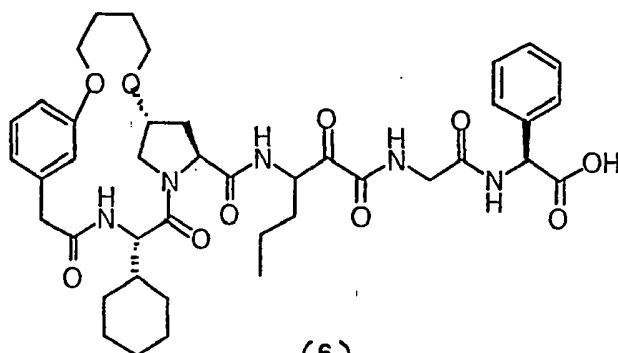
(4A)



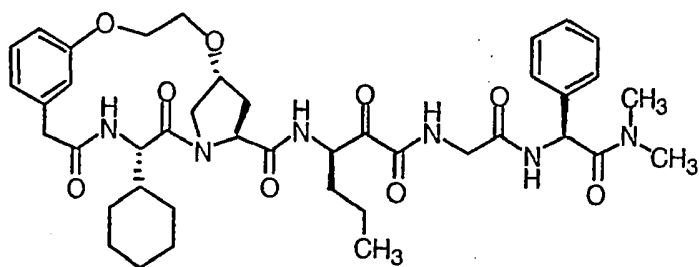
(4B)



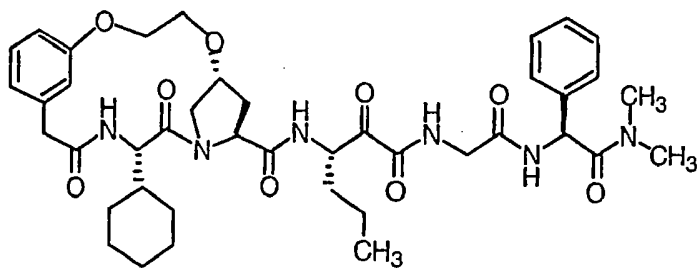
(5)



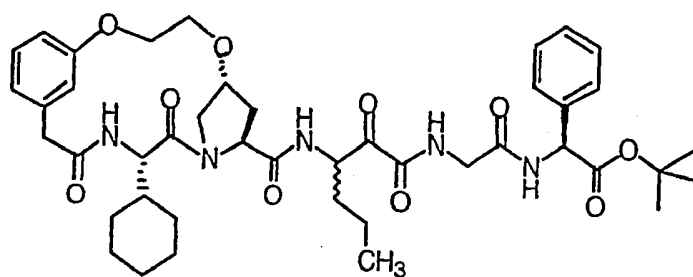
(6)



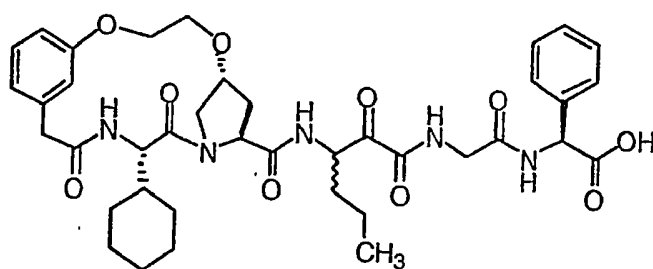
(7A)



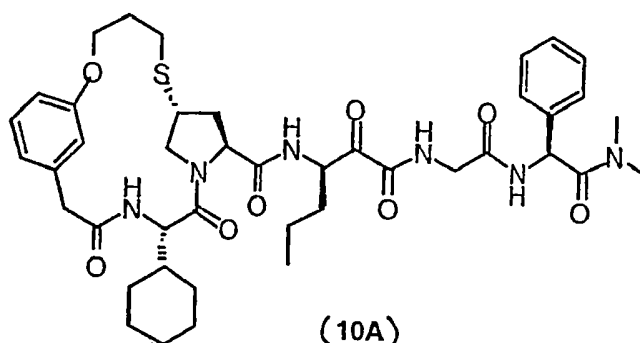
(7B)



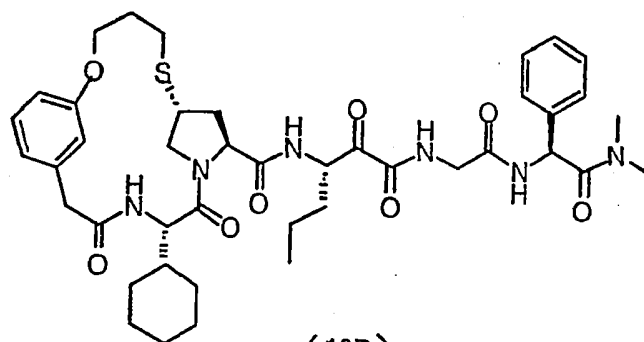
(8)



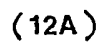
(9)

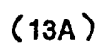


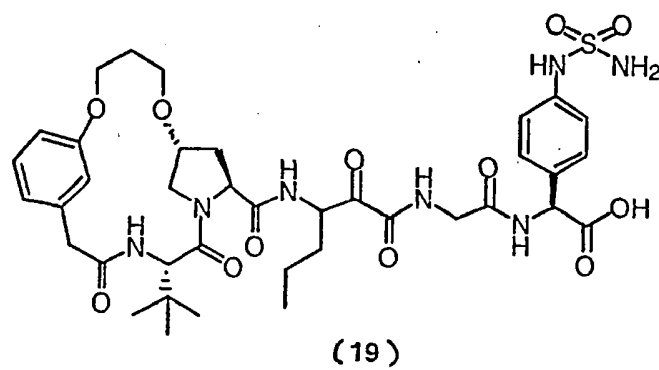
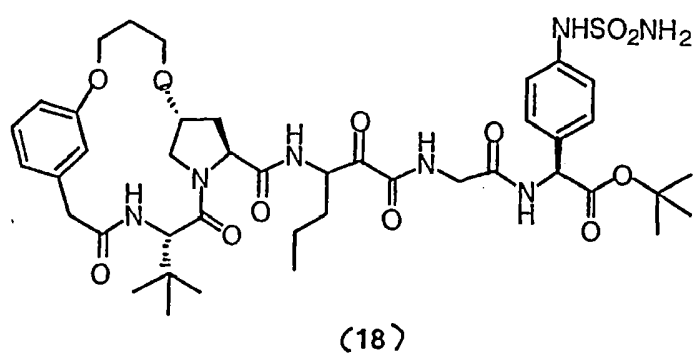
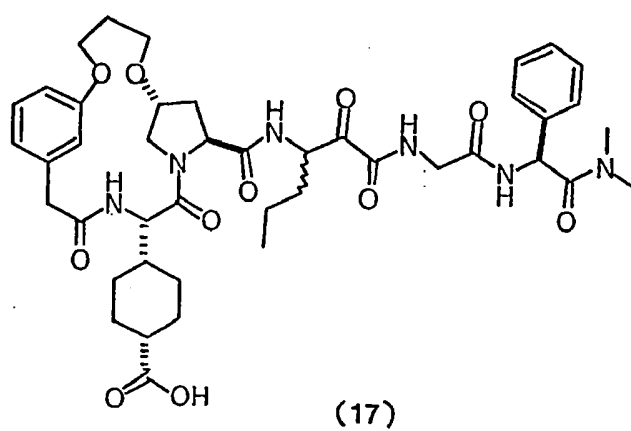
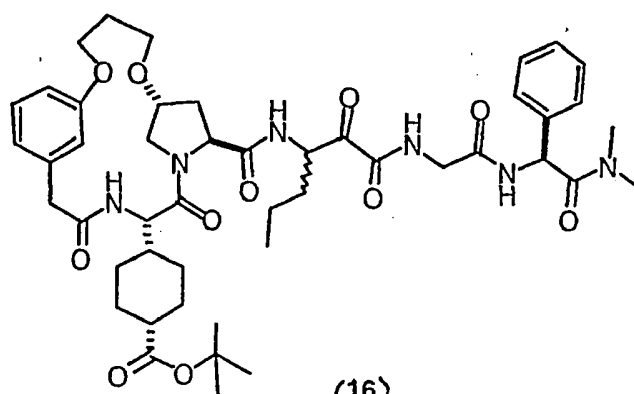
(10A)

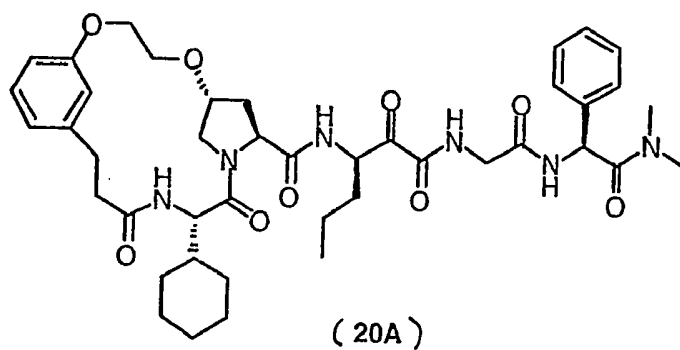


(10B)

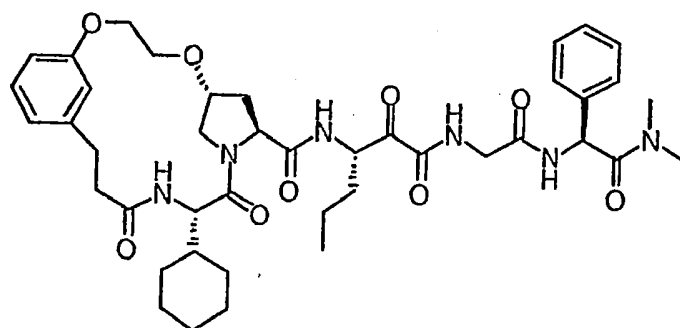




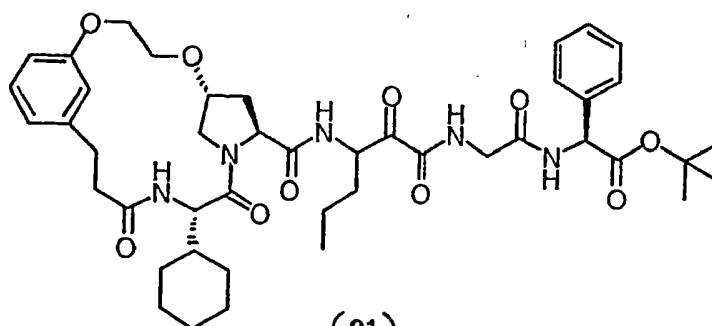




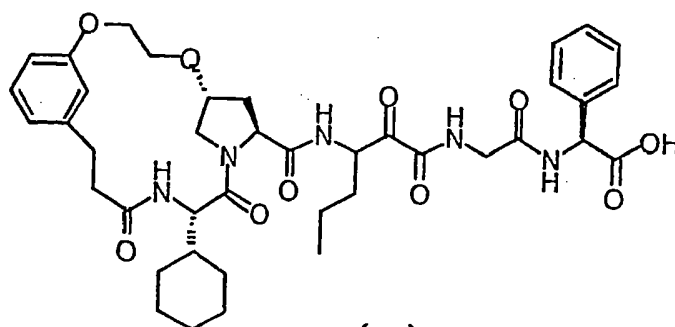
(20A)



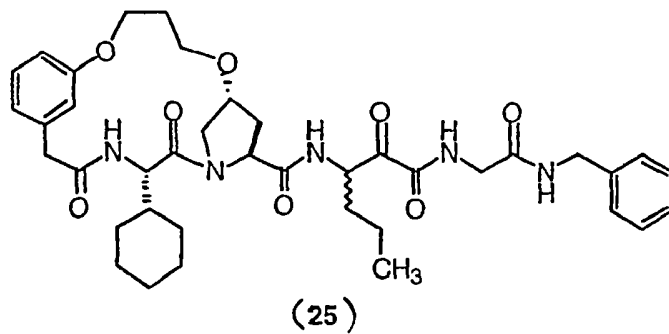
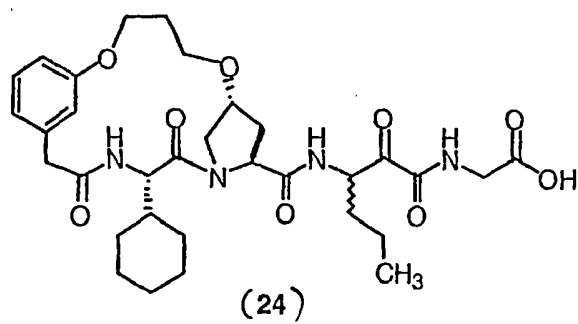
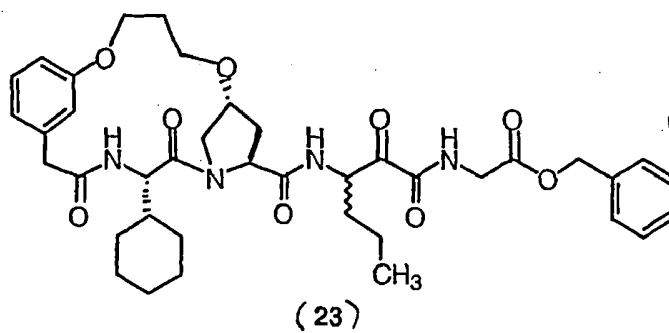
(20B)

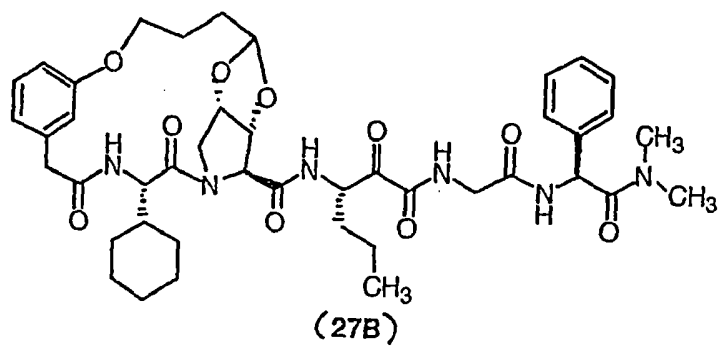
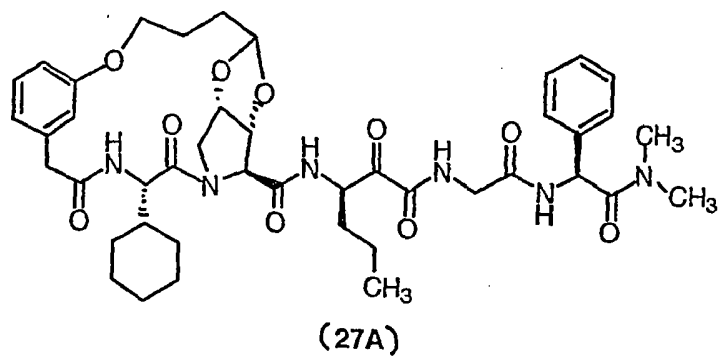
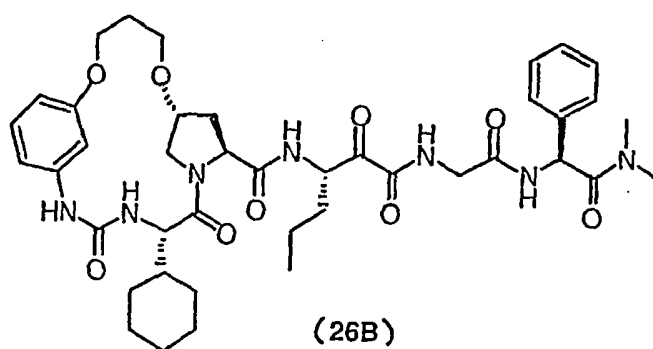
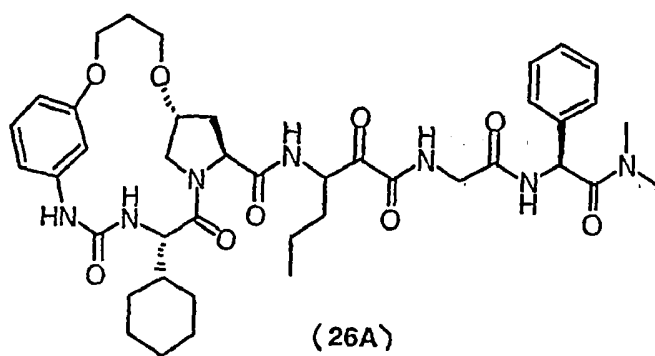


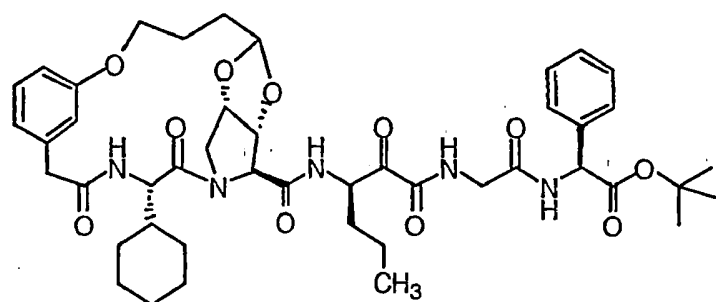
(21)



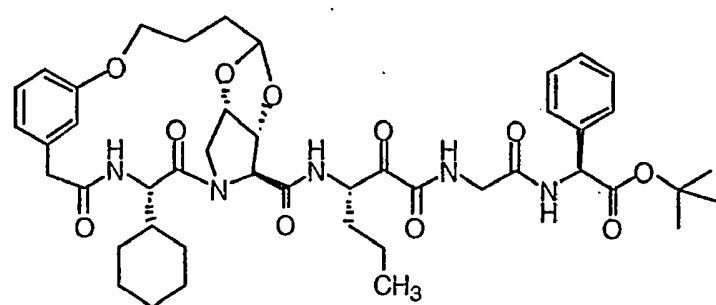
(22)



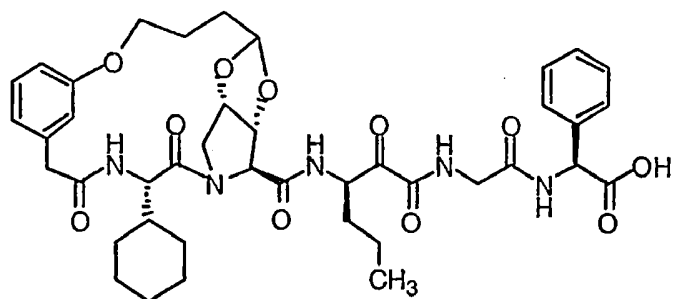




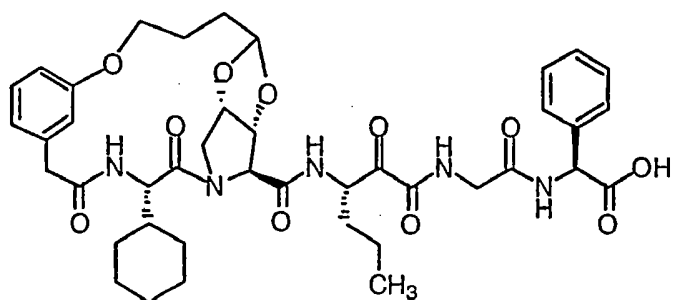
(28A)



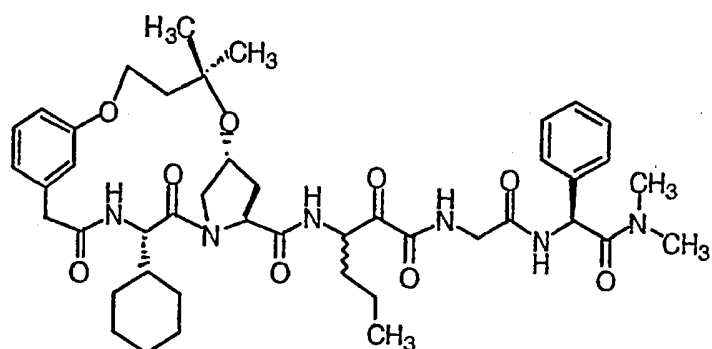
(28B)



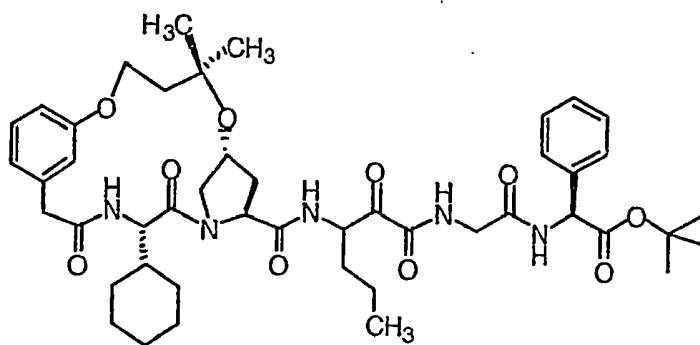
(29A)



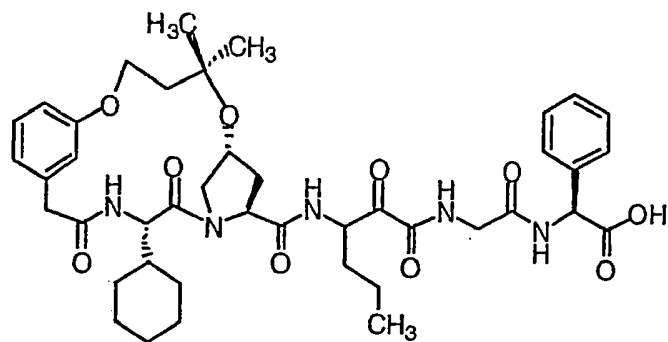
(29B)



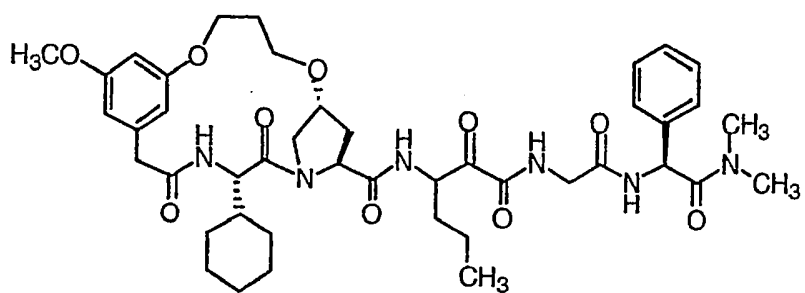
(30)



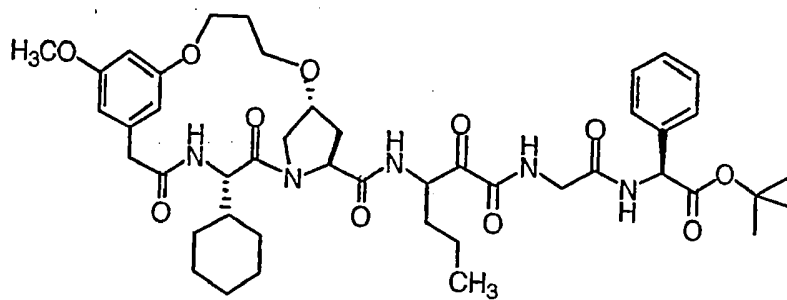
(31)



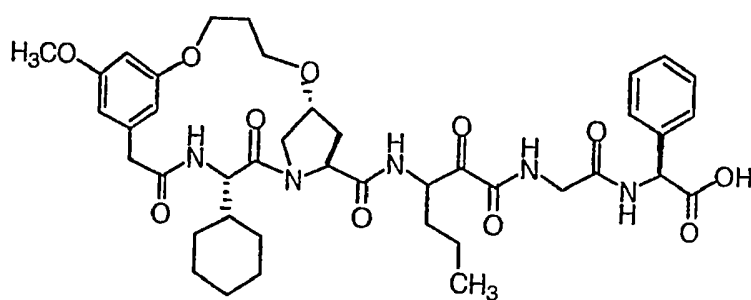
(32)



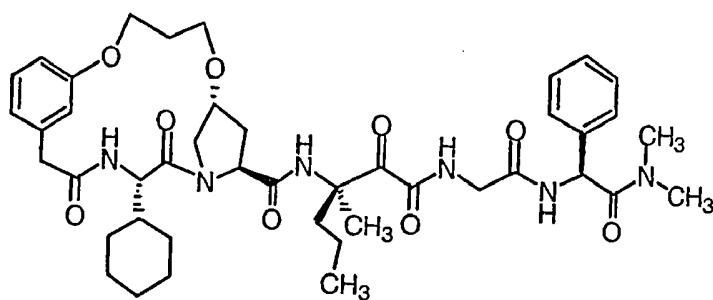
(33)



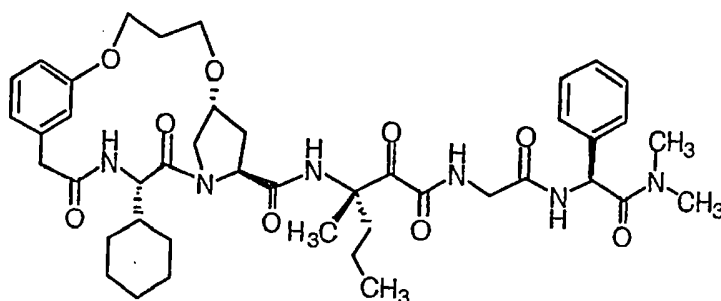
(34)



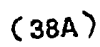
(35)

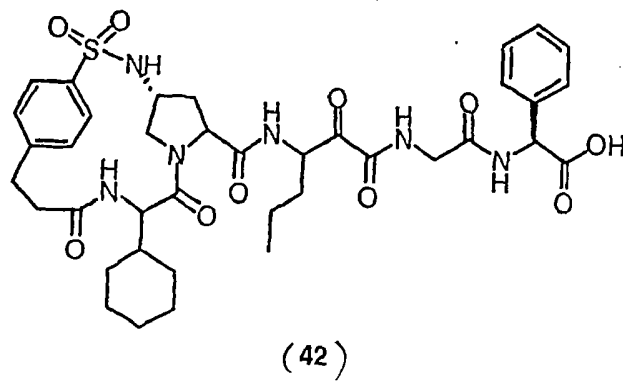
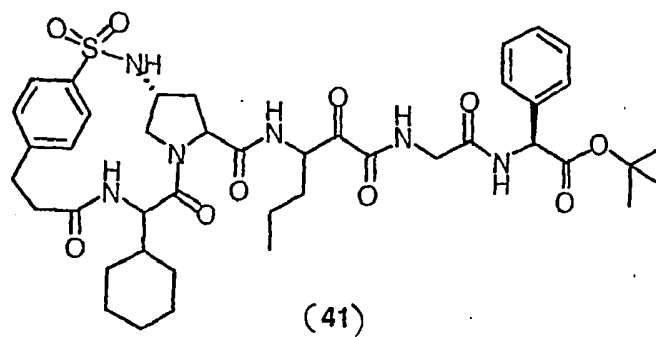
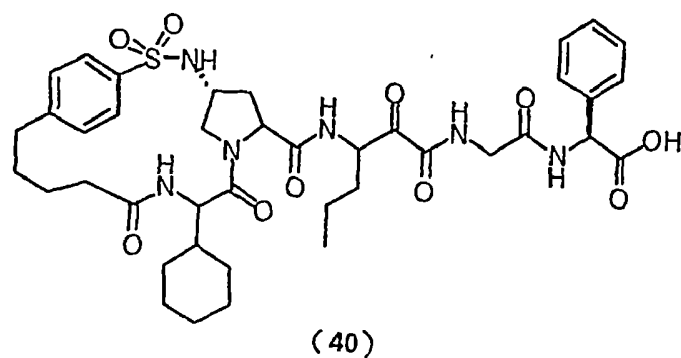
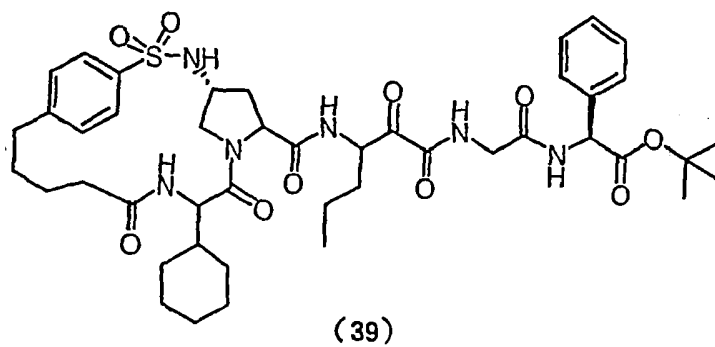


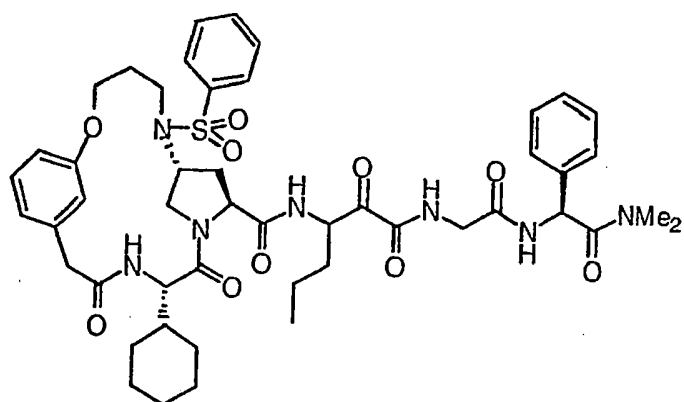
(36A)



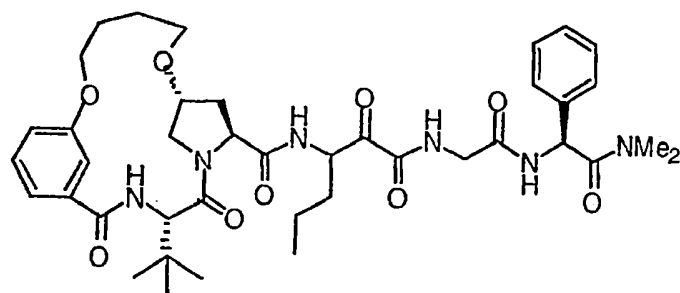
(36B)



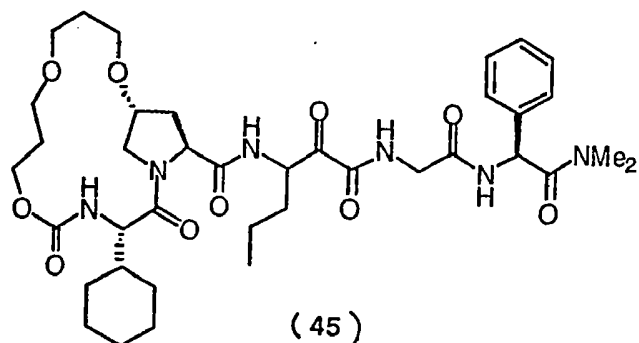




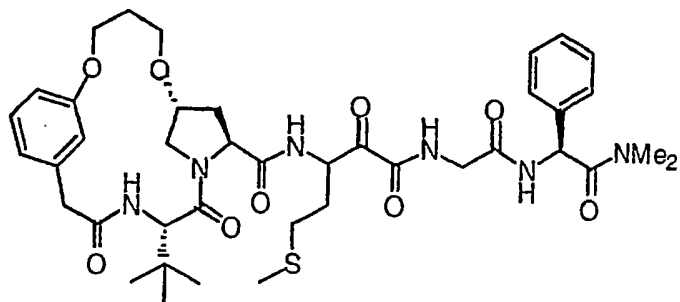
(43)



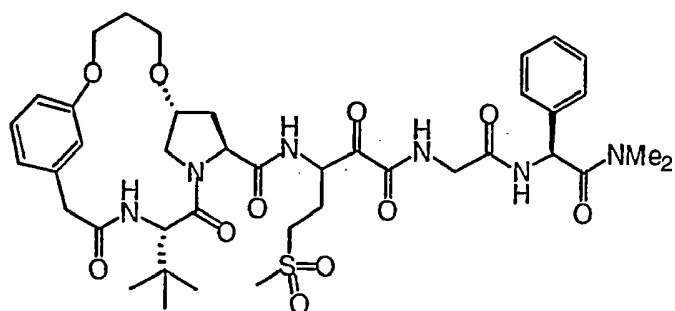
(44)



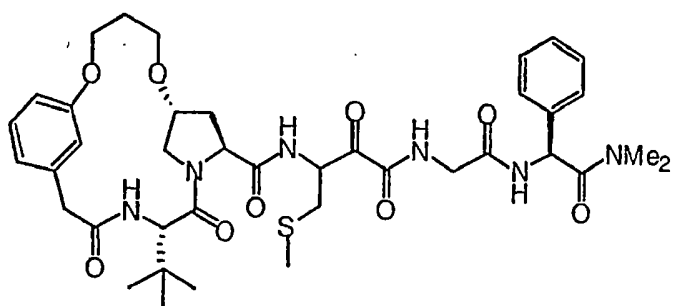
(45)



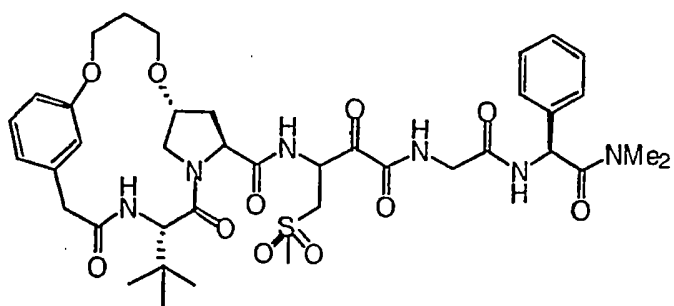
(46)



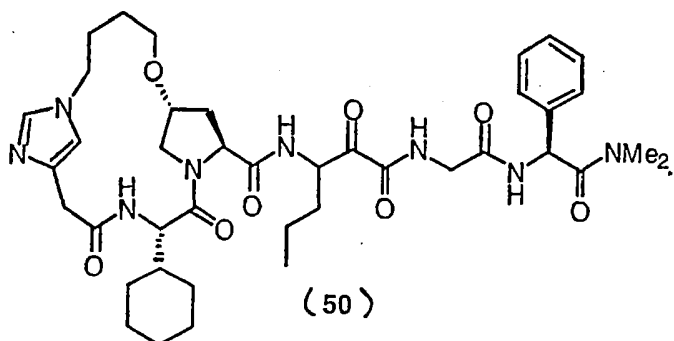
(47)



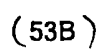
(48)

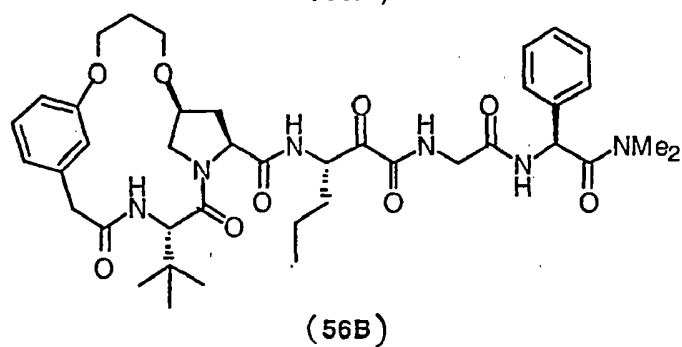
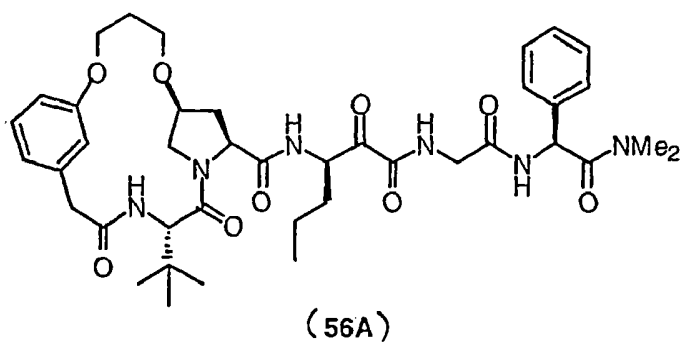
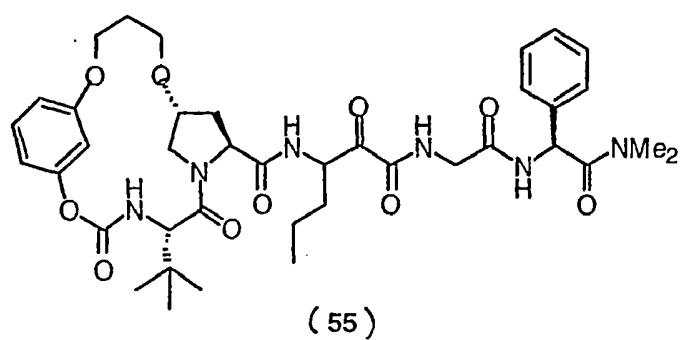
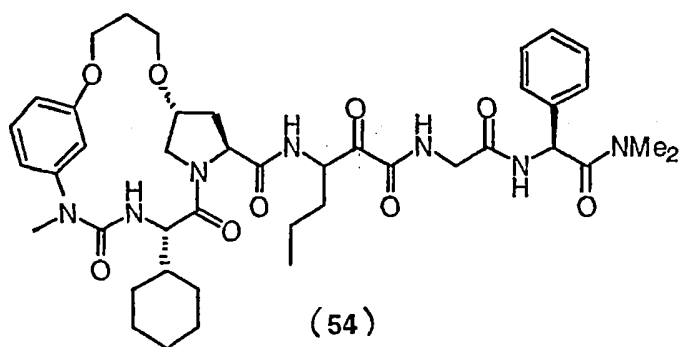


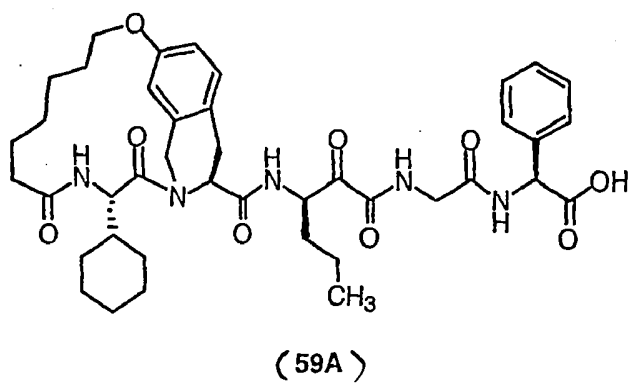
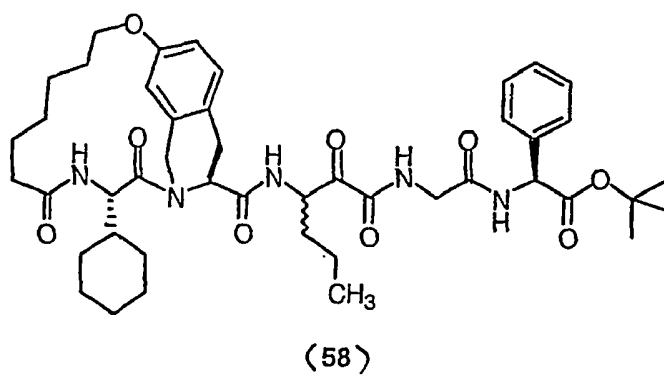
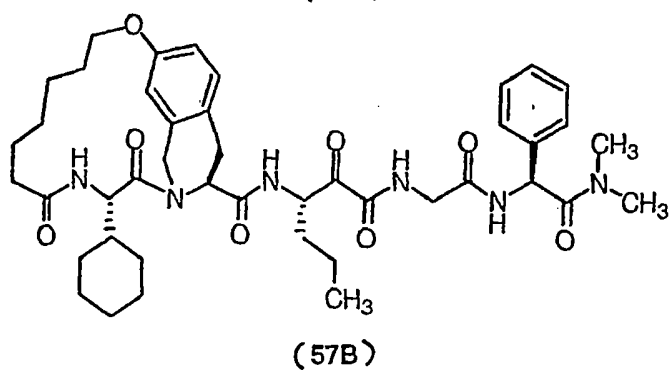
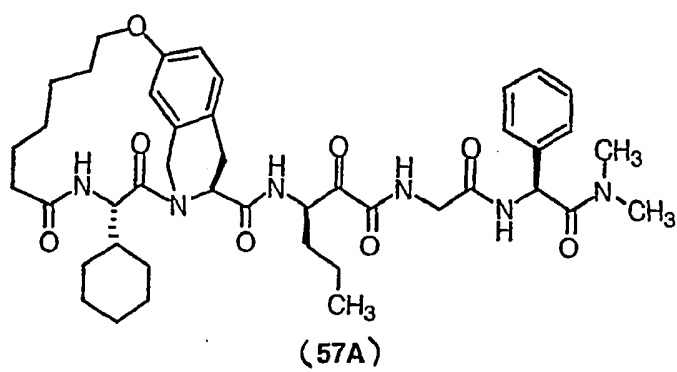
(49)

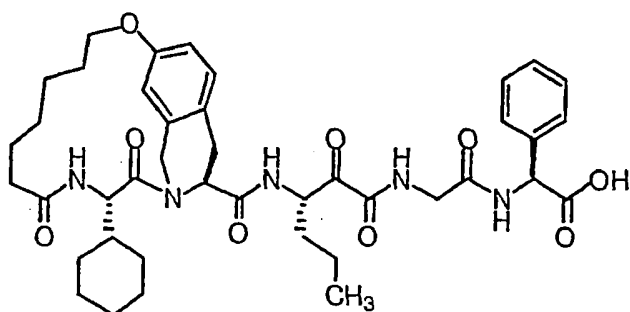


(50)

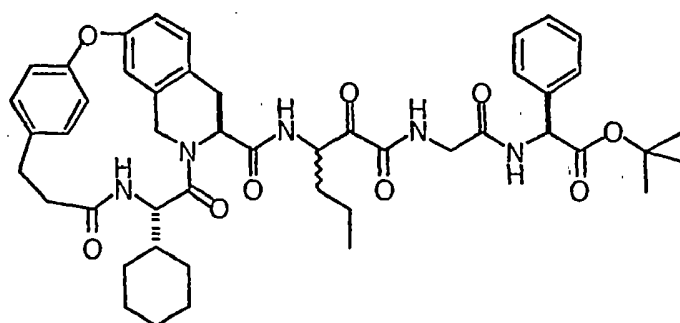




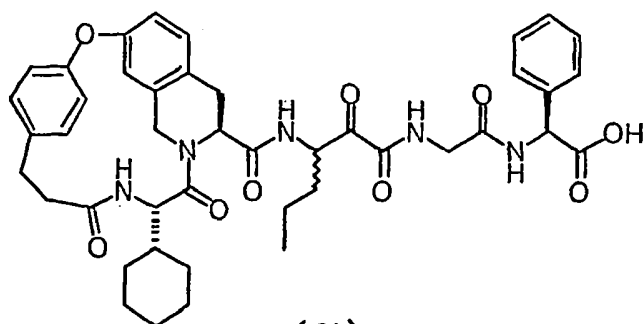




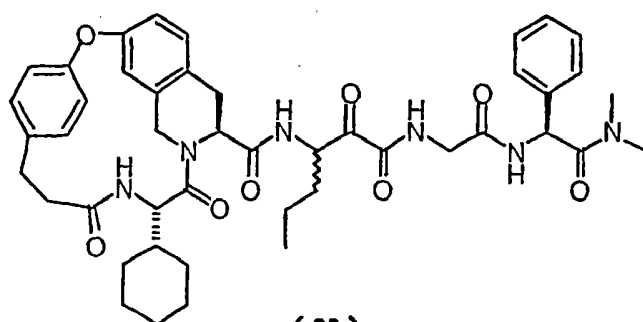
(59B)



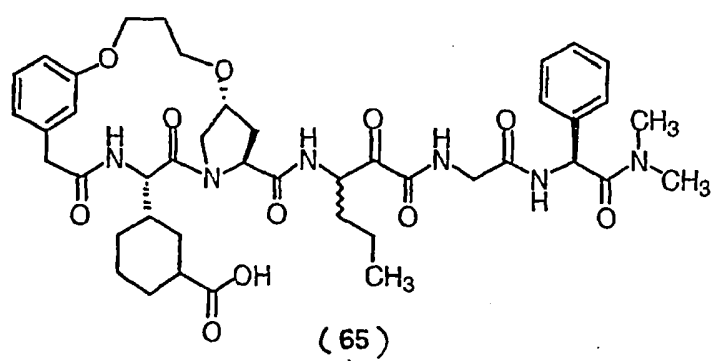
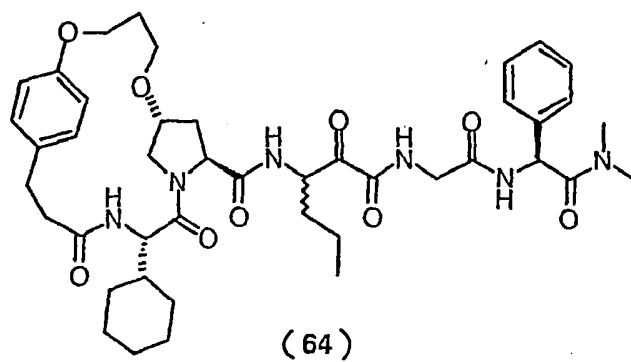
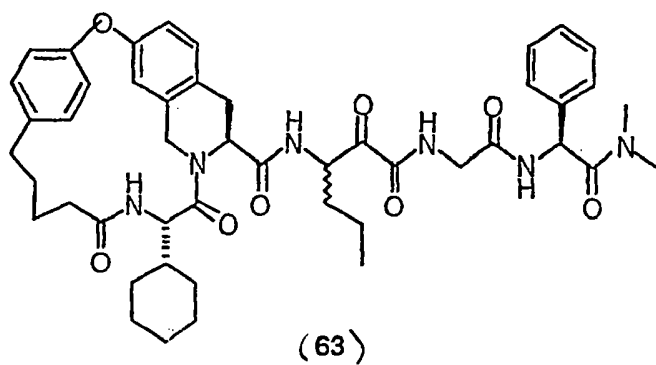
(60)

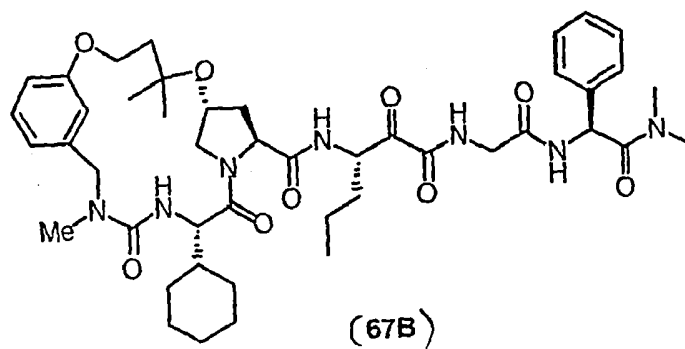
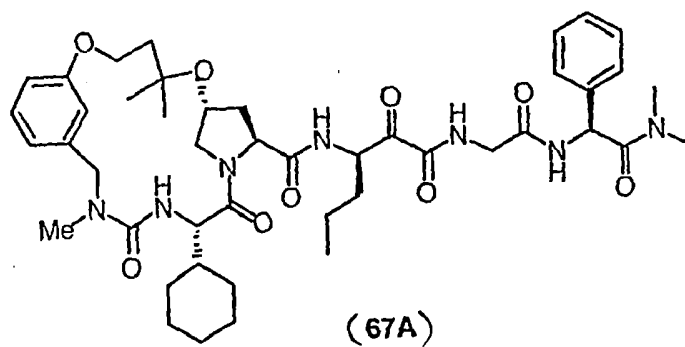
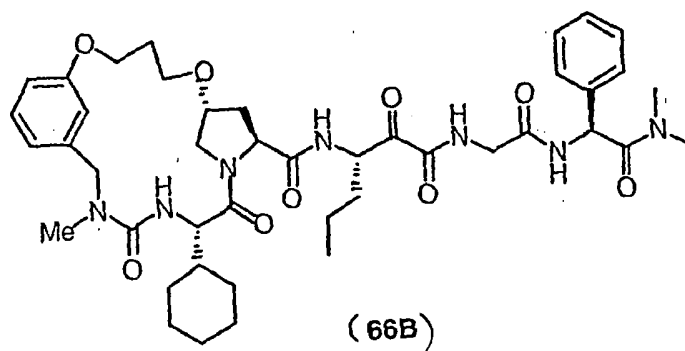
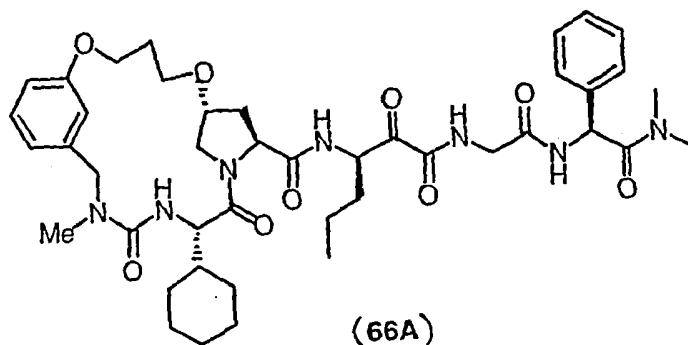


(61)

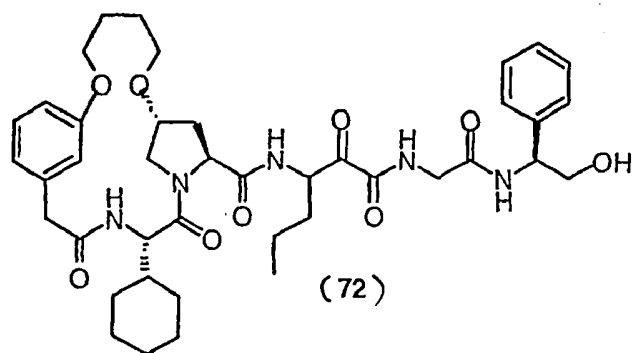
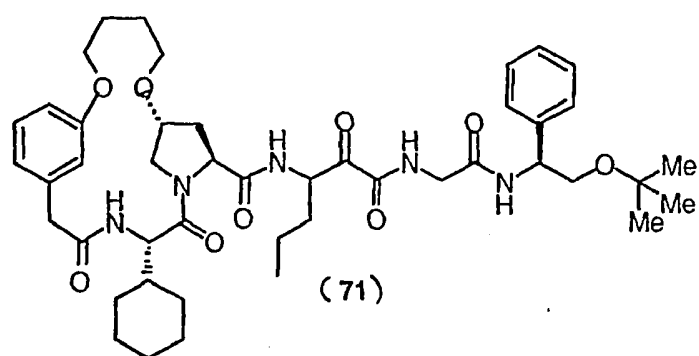
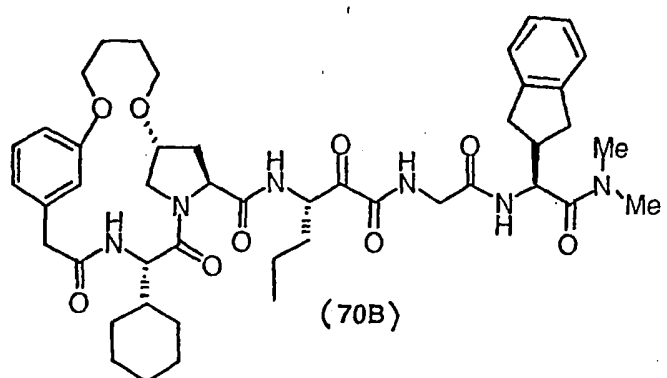
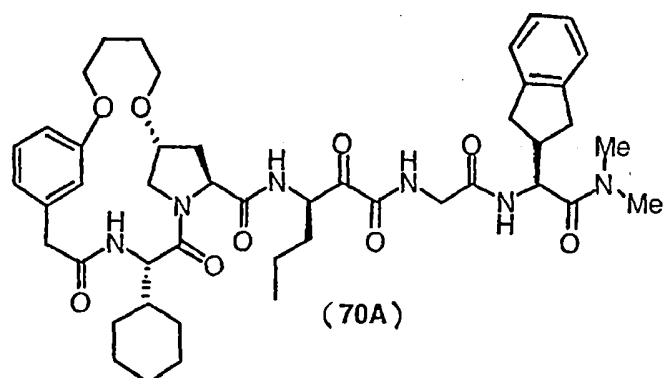


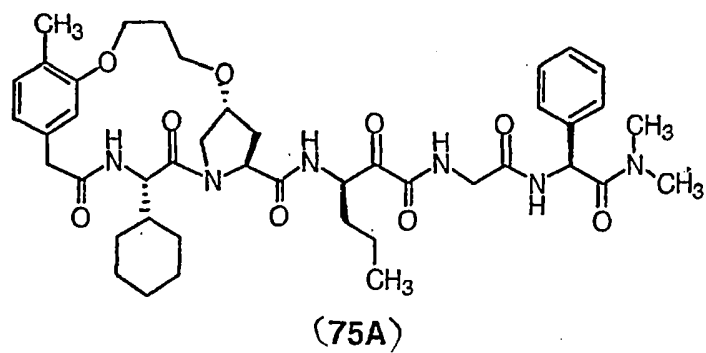
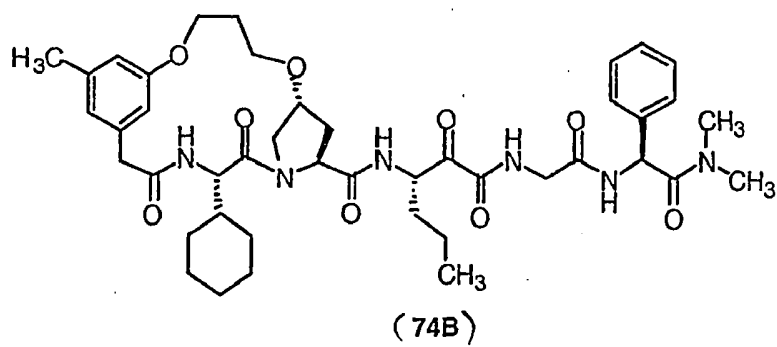
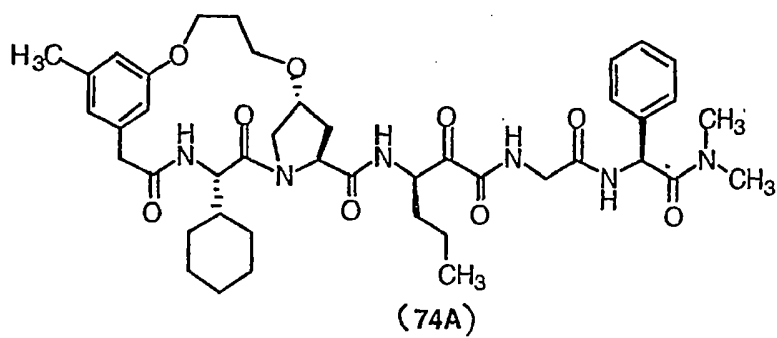
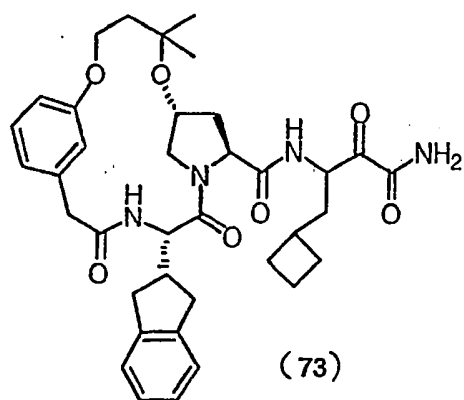
(62)

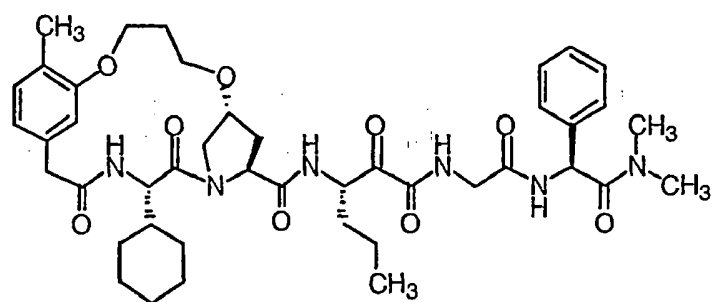




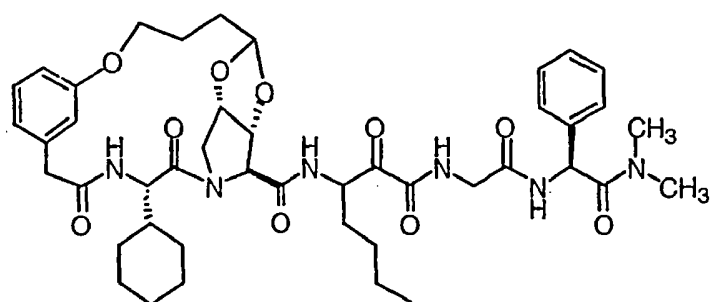




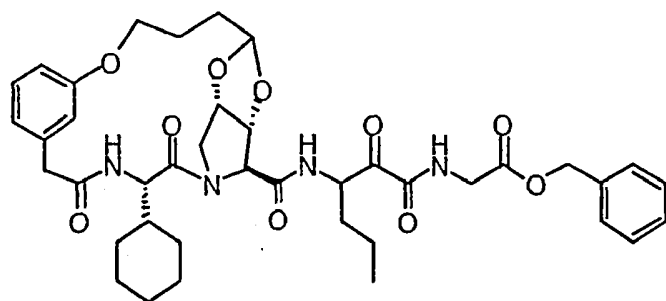




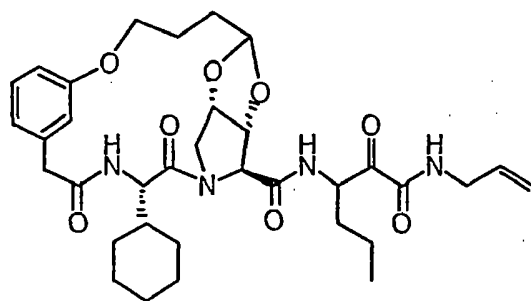
(75B)



(76)

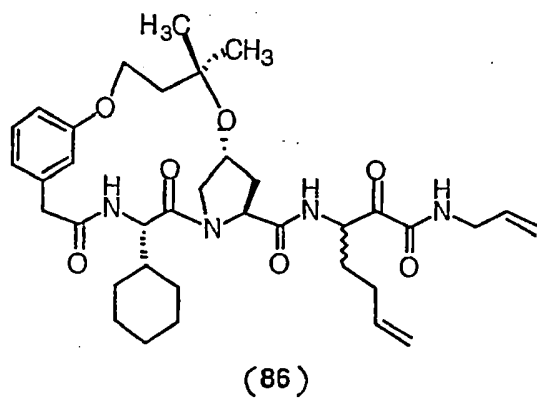
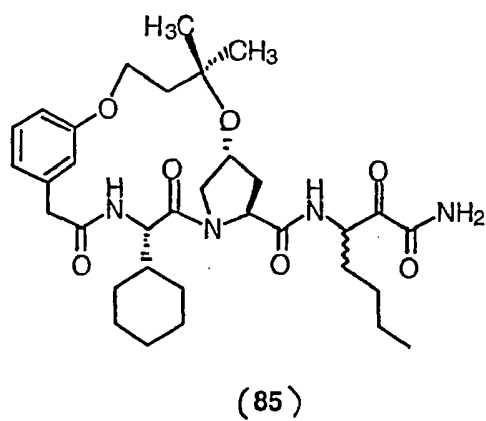
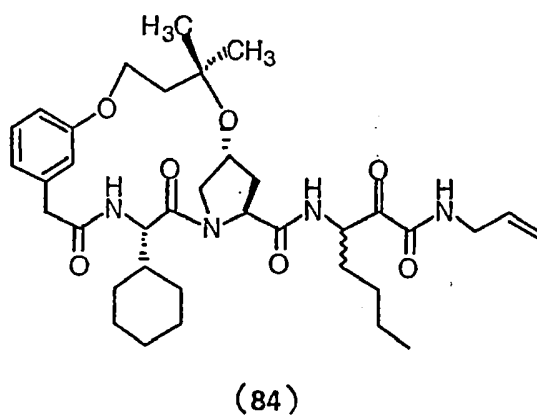
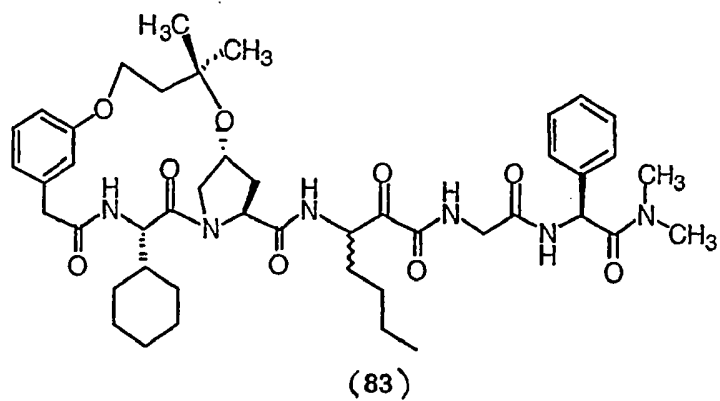


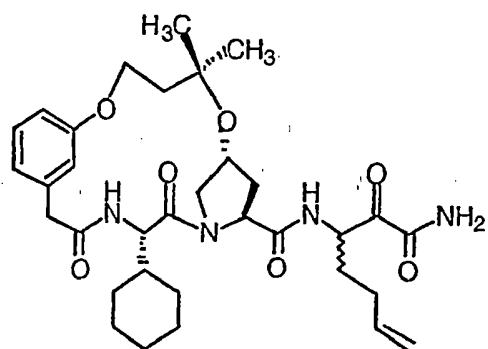
(77)



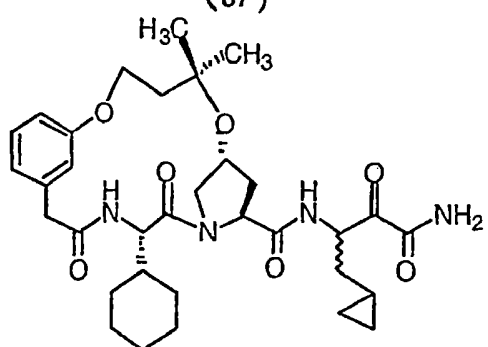
(78)



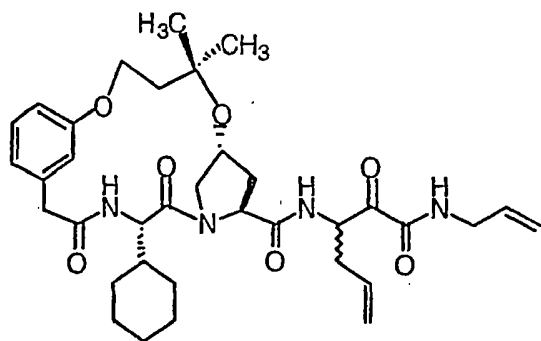




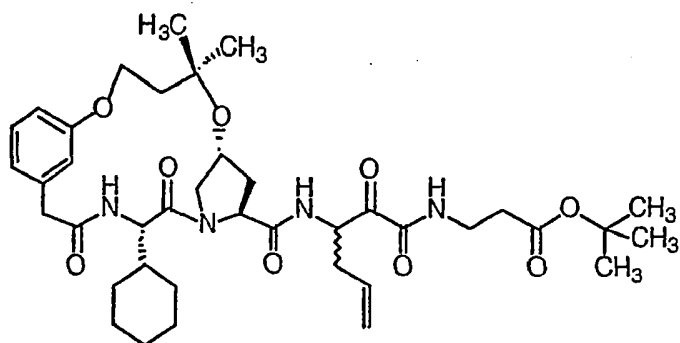
(87)



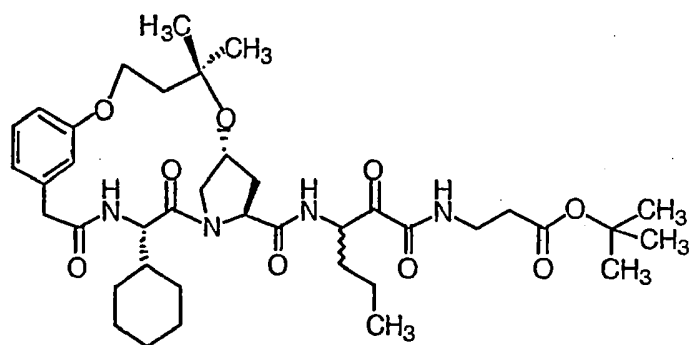
(88)



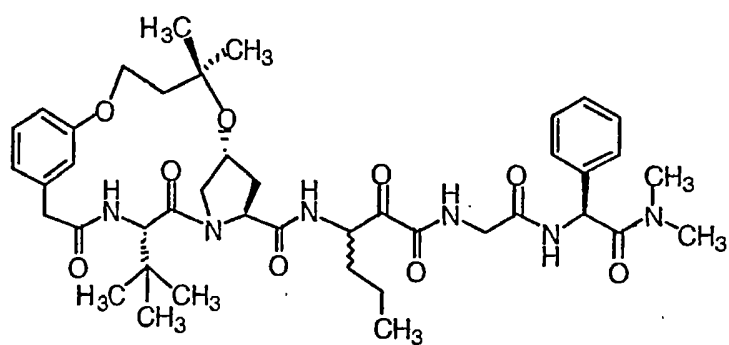
(89)



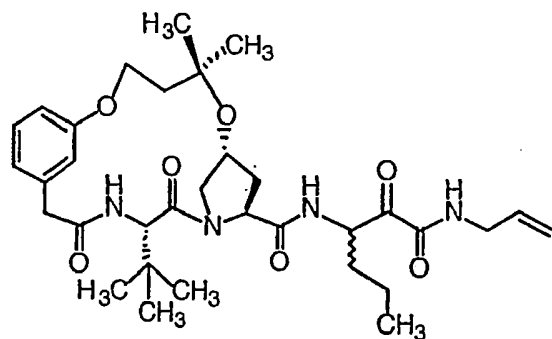
(90)



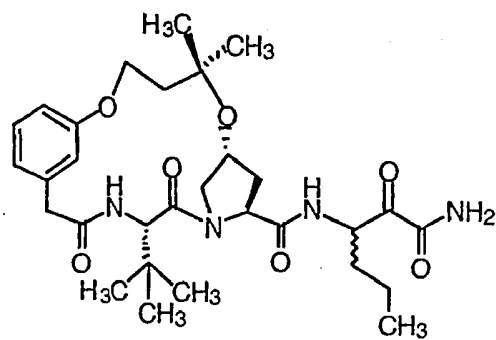
(91)



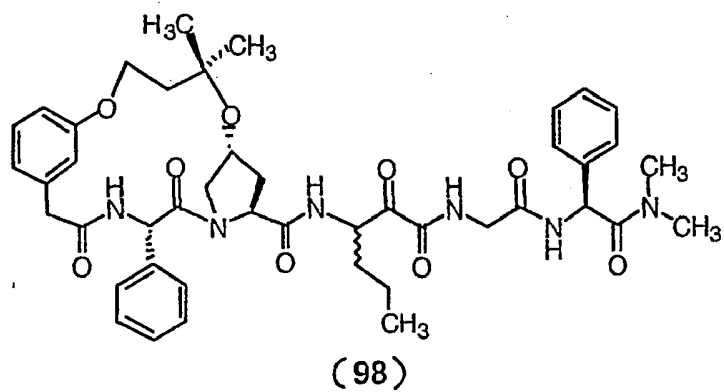
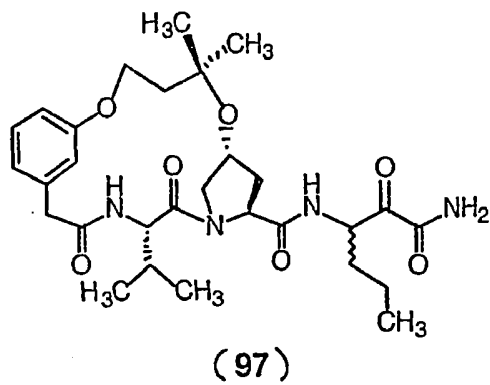
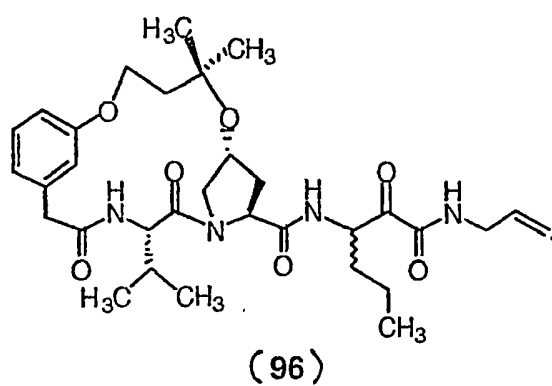
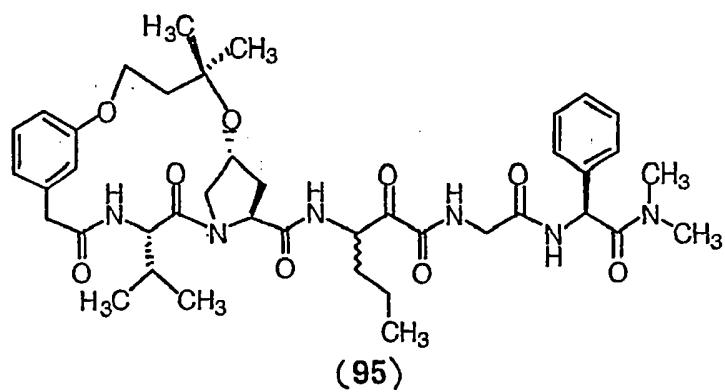
(92)

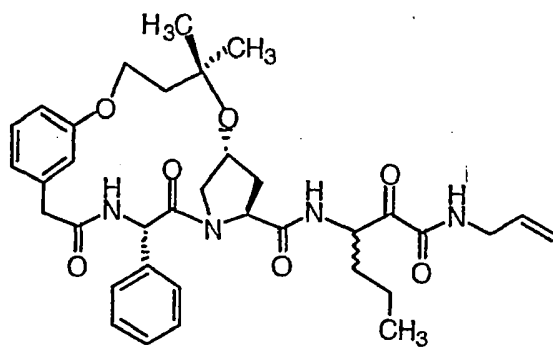


(93)

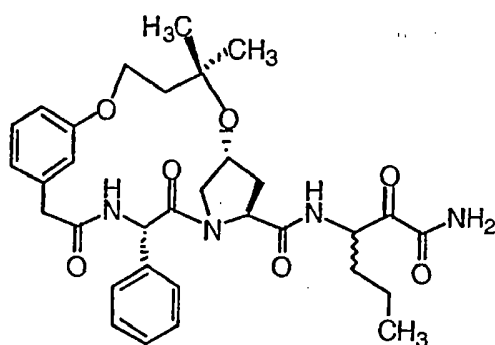


(94)

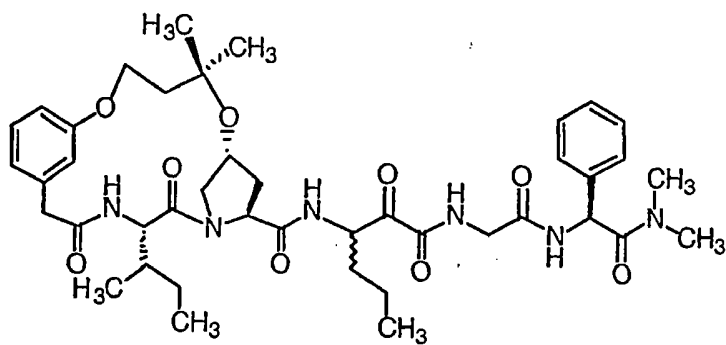




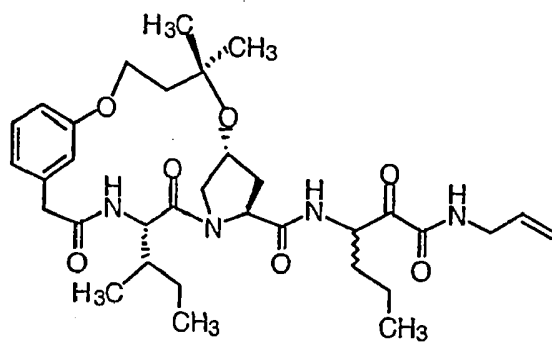
(99)



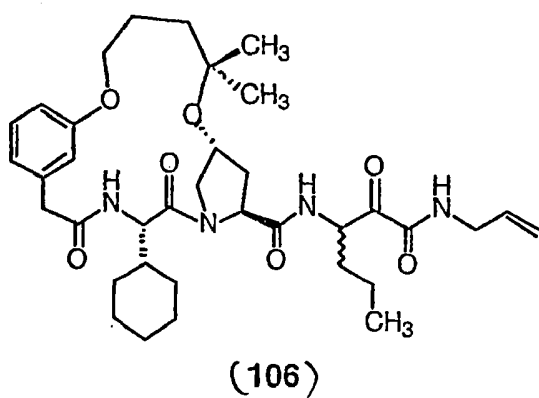
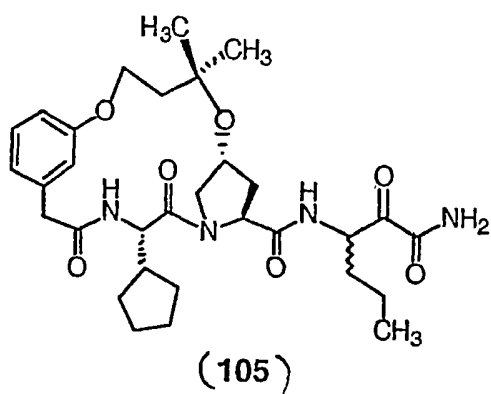
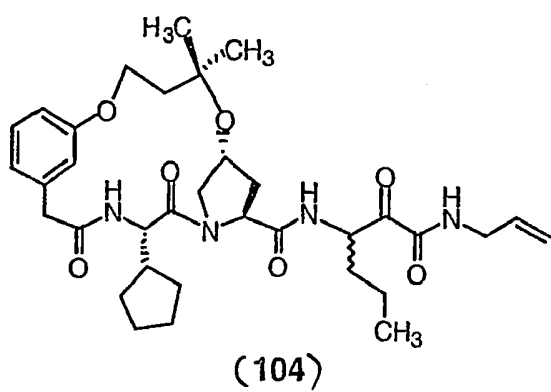
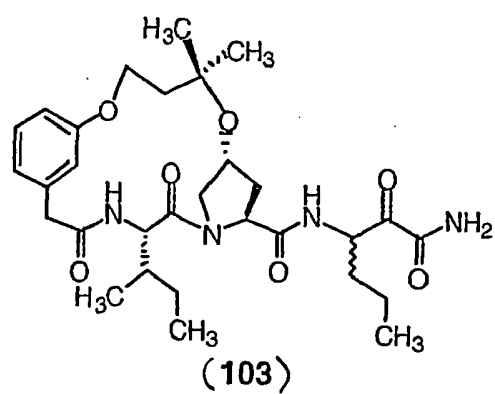
(100)

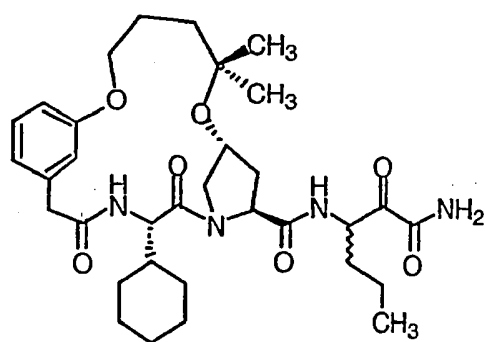


(101)

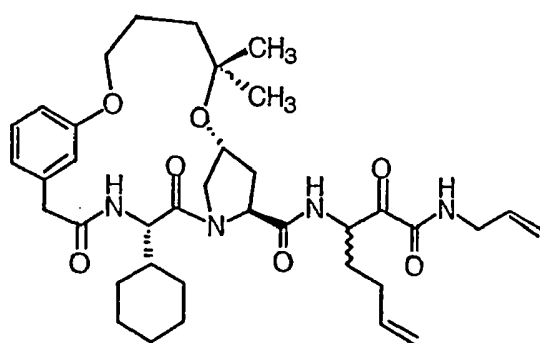


(102)

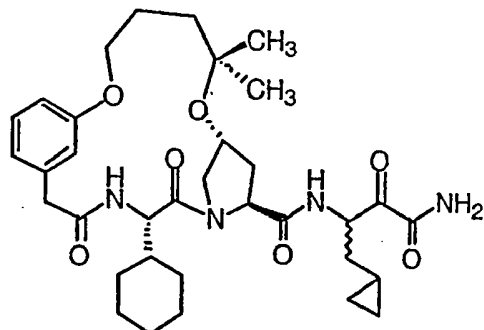




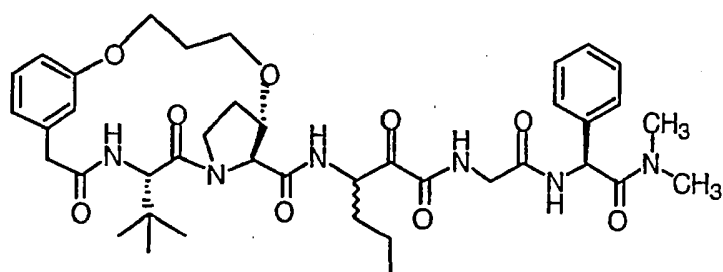
(107)



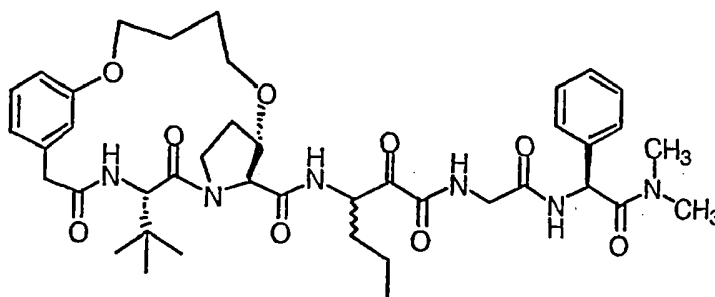
(108)



(109)



(110)



(111)

V závislosti od štruktúry, zlúčeniny podľa tohto vynálezu môžu tvoriť farmaceuticky prijateľné soli s organickými alebo anorganickými kyselinami, alebo organickými alebo anorganickými bázami. Príklady vhodných kyselín na takúto tvorbu soli sú kyseliny chlorovodíková, sírová, fosforečná, octová, citrónová, šťaveľová, malónová, salicylová, jablčná, fumárová, jantárová, askorbová, maleínová, metánsulfónová a iné minerálne a karboxylové kyseliny dobre známe odborníkom v tejto oblasti techniky. Na tvorbu solí so zásadami sú vhodnými zásadami napríklad NaOH, KOH, NH_4OH , tetraalkylamóniumhydroxid a podobne.

V ďalšom uskutočnení tento vynález poskytuje farmaceutické prostriedky obsahujúce vyššie opísané makrocyclické zlúčeniny podľa vynálezu ako aktívnu zložku. Farmaceutické prostriedky všeobecne okrem toho obsahujú farmaceuticky prijateľné nosičové zriedňovadlo, vehikulum alebo nosič (spolu označované v tomto dokumente ako nosičové materiály). Pre svoju HCV inhibičnú aktivitu, takéto farmaceutické prostriedky majú použitie na liečenie hepatitídy C a príbuzných porúch.

V ešte ďalšom uskutočnení tento vynález opisuje spôsoby prípravy farmaceutických prostriedkov obsahujúcich makrocyclické zlúčeniny podľa vynálezu ako aktívnu zložku. Vo farmaceutických prostriedkoch a spôsoboch podľa vynálezu budú aktívne zložky typicky podávané v zmesi s vhodnými nosičovými materiálmi vhodne vybranými vzhľadom na uvažovanú formu podávania, t.j. orálne tablety, kapsuly (buď tuhé naplnené, polo-tuhé naplnené alebo kvapalné naplnené), prášky určené na rekonštitúciu, orálne gély, elixíry, dispergovateľné granuly, sirupy, suspenzie a podobne, a konzistentne s konvenčnou farmaceutickou praxou. Napríklad na orálne podávanie vo forme tabliet alebo kapsúl, aktívna liečivá zložka môže byť kombinovaná s nejakým perorálnym netoxickým farmaceuticky

prijateľným inertným nosičom, ako je napríklad laktóza, škrob, sacharóza, celulóza, stearan horečnatý, fosforečnan vápenatý, síran vápenatý, mastenec, manitol, etylalkohol (kvapalné formy) a podobne. Navyše, keď je to požadované alebo potrebné, môžu tiež byť začlenené v zmesi vhodné spojivá, lubrikanty, dezintegračné činidlá a farbiace činidlá. Prášky a tablety môžu obsahovať od asi 5 do asi 95 % zlúčeniny podľa vynálezu.

Vhodné spojivá zahŕňujú škrob, želatínu, prírodné cukry, obilné sladidlá, prírodné a syntetické gumi, ako je napríklad arabská guma, alginát sodný, karboxymetylcelulóza, polyetylén glykol a vosky. Medzi lubrikantami, ktoré sa môžu uviesť na použitie v týchto dávkových formách, sú kyselina boritá, benzoan sodný, octan sodný, chlorid sodný a podobne. Dezintegranty zahŕňujú škrob, metylcelulózu, guarovú gumu a podobne. Sladidlá a ochucujúce činidlá a konzervačné činidlá môžu tiež byť zahrnuté, ak je to vhodné. Niektoré z pojmov zmienených vyššie, menovite dezintegranty, zriedčovač, lubrikanty, spojivá a podobne, sú opísané podrobnejšie nižšie.

Okrem toho farmaceutické prostriedky podľa tohto vynálezu môžu byť upravené vo forme so spomaleným uvoľňovaním, čím sa poskytne uvoľňovanie s riadenou rýchlosťou jednej alebo viacerých zložiek alebo aktívnych zložiek, čím sa optimalizujú terapeutické účinky, t.j. HCV inhibičná aktivita a podobne. Vhodné dávkové formy na trvalé uvoľňovanie zahŕňujú vrstvené tablety, ktoré obsahujú vrstvy s rôznou dezintegračnou rýchlosťou alebo polymérne matrice s riadeným uvoľňovaním impregnované aktívnymi zložkami a tvarované do tabletovej formy alebo kapsúl, ktoré obsahujú takéto impregnované alebo zapuzdrené pórovité polymérne matrice.

Prípravky v kvapalnej forme zahŕňujú roztoky, suspenzie a emulzie. Ako príklad môžu byť uvedené voda alebo roztoky voda-propylén pre parenterálne injekcie alebo prídavok sladidiel a upokojujúcich činidiel pre orálne roztoky, suspenzie a emulzie. Prípravky v kvapalnej forme môžu tiež zahŕňať roztoky na intranazálne podávanie.

Aerosólové prípravky vhodné na inhaláciu môžu zahŕňať roztoky a tuhé látky v práškovej forme, ktoré môžu byť v kombinácii s farmaceuticky prijateľným nosičom, ako napríklad s inertným stlačeným plynom, napríklad dusíkom.

Na prípravu čapíkov sa najprv roztopí vosk s nízkou teplotou topenia, ako napríklad zmes glyceridov mastných kyselín ako napríklad kakaové maslo, a aktívna zložka sa v ňom disperguje homogénne pomocou premiešavania alebo podobného mixovania. Roztopená homogénna zmes sa potom vyleje do vhodne veľkých foriem, nechá sa ochladiť, čím stuhne.

Vynález tiež zahrnuje farmaceutické prostriedky v tuhej forme, ktoré sa majú konvertovať, krátko pred použitím, na prípravky v kvapalnej forme buď na orálne alebo parenterálne podávanie. Takéto kvapalné formy zahŕňujú roztoky, suspenzie a emulzie.

Zlúčeniny podľa vynálezu môžu tiež byť dodávané transdermálne. Transdermálne prostriedky môžu mať formu krémov, lotiónov, aerosólov a/alebo emulzií a môžu byť zahrnuté v transdermálnych náplastiach matricového alebo rezervoárového typu, ako je obvyklé v tejto oblasti techniky na tieto účely.

Výhodne sa tieto zlúčeniny podávajú orálne.

Výhodne je farmaceutický prostriedok v jednotkovej dávkovej forme. V takejto forme je prípravok rozdelený do vhodne veľkých jednotkových dávok, ktoré obsahujú príslušné množstvá aktívnych zložiek, napríklad účinné množstvo na dosiahnutie požadovaného účelu.

Množstvo aktívnej zlúčeniny podľa vynálezu v jednotkovej dávke prípravku môže byť všeobecne menené alebo nastavené od asi 1,0 miligramu do asi 1000 miligramov, výhodne od asi 1,0 do asi 950 miligramov, výhodnejšie od asi 1,0 do asi 500 miligramov, a typicky od asi 1 do asi 250 miligramov, podľa konkrétnej aplikácie. Aktuálna použitá dávka sa môže meniť v závislosti od pacientovho veku, pohlavia, váhy a miery ťažkosti liečeného stavu. Takáto technika je dobre známa odborníkom v tejto oblasti techniky.

Všeobecne sa orálna dávková forma pre ľudí, ktorá obsahuje aktívnu zložku, môže podávať 1 alebo 2 krát za deň. Množstvo a frekvencia podávania budú regulované podľa posúdenia ošetrojúceho lekára. Všeobecne odporúčaný denný dávkový režim na orálne podávanie môže byť v rozsahu od asi 1,0 miligram do asi 1000 miligramov na deň, v jednej dávke alebo v rozdelených dávkach.

Niektoré užitočné pojmy sú opísané nižšie:

Kapsula - znamená špeciálny kontajner alebo puzdro vyrobené z metyl-

celulózy, polyvinylalkoholov alebo denaturovaných želatín alebo škrobu na uchovávanie alebo uloženie zmesi obsahujúcej aktívne zložky. Kapsuly s tvrdou škrupinou sa typicky vyrábajú zo zmesí želatín z kostí a bravčovej kože s relatívne vysokou silou gélovania. Kapsuly samotné môžu obsahovať malé množstvá farbív, zakaľujúcich činidiel, plastifikátorov a konzervačných činidiel.

Tableta - znamená stlačenú alebo lisovanú tuhú dávkovú formu, ktorá obsahuje aktívne zložky s vhodnými zriedňovadlami. Tableta môže byť pripravená pomocou stlačenia zmesí alebo granulovaním získanými pomocou granulácie za vlhka, granulácie za sucha alebo pomocou zhutňovania.

Orálny gél - znamená aktívne zložky dispergované; alebo solubilizované v hydrofilnej polotuhej matrici.

Prášky na rekonštitúciu znamenajú práškové zmesi, ktoré obsahujú aktívne zložky a vhodné zriedňovadlá, ktoré môžu byť suspendované vo vode alebo šťave.

Zriedňovadlo - znamená substancie, ktoré obvykle tvoria hlavný podiel zmesi alebo dávkovej formy. Vhodné zriedňovadlá zahŕňujú cukry, ako napríklad laktózu, sacharózu, manitol a sorbitol; škroby získané z obilia, kukurice, ryže a zemiakov; a celulózy, ako napríklad mikrokryštalická celulóza. Množstvo zriedňovadla v zmesi môže byť v rozsahu od asi 10 do asi 90 % hmotnostných z celkovej zmesi, výhodne od asi 25 do asi 75 %, výhodnejšie od asi 30 do asi 60 % hmotnostných, ešte výhodnejšie od asi 12 do asi 60 %.

Dezintegrant - znamená materiály pridané do zmesi, aby ju pomohli rozdrobiť (dezintegrovať) a uvoľniť liečivo. Vhodné dezintegranty zahŕňujú škroby; "v studenej vode rozpustné" modifikované škroby, ako napríklad karboxymetylškrob sodný; prírodné a syntetické gummy, ako napríklad guma rohovníka, karaya, guarová, tragantová guma a agar; celulóзовé deriváty, ako napríklad metylcelulóza a karboxymetylcelulóza sodná; mikrokryštalické celulózy a zosietené mikrokryštalické celulózy, ako napríklad kroskarmelóza sodná; algináty, ako napríklad kyselina algínová a alginát sodný; hlinky, ako napríklad bentonity; a šumivé zmesi. Množstvo dezintegrantu v zmesi môže byť v rozsahu od asi 2 do asi 15 % hmotnostných kompozície, výhodnejšie od asi 4 do asi 10 % hmotnostných.

Spojivo - znamená látky, ktoré viažu alebo "lepia" prášky spolu a robia ich kohéznymi pomocou tvorby granúl, teda slúžiace v prípravku ako "adhezívum".

Spojivá zväčšujú kohezívnu silu už prítomnú v zriedovadle alebo nadúvacom činidle. Vhodné spojivá zahŕňujú cukry ako napríklad sacharózu; škroby získané z obilia, kukurice, ryže a zemiakov; prírodné gummy ako napríklad arabská guma, želatína a tragant; deriváty morských rias ako napríklad kyselina algínová, alginát sodný a alginát amónno-sodný; celulóзовé materiály ako napríklad metylcelulóza a karboxymetylcelulóza sodná a hydroxypropylmetylcelulóza; polyvinylpyrolidón; a anorganické látky, ako napríklad kremičitan horečnato-hlinitý. Množstvo spojiva v zmesi môže byť v rozsahu od asi 2 do asi 20 % hmotnostných zmesi, výhodnejšie od asi 3 do asi 10 % hmotnostných, ešte výhodnejšie od asi 3 do asi 6 % hmotnostných.

Lubrikant - znamená látku pridanú do dávkovej formy na zabezpečenie uvoľnenia tabliet, granúl, atď., po ich zlisovaní z formy alebo matrice pomocou zníženia trenia alebo odierania. Vhodné lubrikanty zahŕňujú stearany kovov ako napríklad stearan horečnatý, stearan vápenatý alebo stearan draselný; kyselinu steárovú; vosky s vysokou teplotou topenia; a vo vode rozpustné lubrikanty ako napríklad chlorid sodný, benzoan sodný, octan sodný, olean sodný, polyetylén-glykoly a D,L-leucín. Lubrikanty sa obvykle pridávajú v poslednom kroku pred lisovaním, pretože musia byť prítomné na povrchoch granúl a medzi nimi a súčasťami tabletovacieho lisu. Množstvo lubrikantu v zmesi môže byť v rozsahu od asi 0,2 do asi 5 % hmotnostných zmesi, výhodne od asi 0,5 do asi 2 %, výhodnejšie od asi 0,3 do asi 1,5 % hmotnostného.

Klzná látka - materiál, ktorý bráni hrudkovaniu a zlepšuje sypné charakteristiky granulácie, takže tok je jemný a rovnomerný. Vhodné klzné látky zahŕňujú oxid kremičitý a mastenec. Množstvo klznej látky v kompozícii môže byť v rozsahu od asi 0,1 % do asi 5 % hmotnostných z celkovej zmesi, výhodne od asi 0,5 do asi 2 % hmotnostných.

Farbivá - prídavné látky, ktoré poskytujú zafarbenie zmesi alebo dávkovej formy. Takéto látky môžu zahŕňať potravinové farbivá a potravinové farbivá adsorbované na a vhodné adsorbenty, ako napríklad hlinka alebo oxid hlinitý. Množstvo farbiaceho činidla sa môže meniť od asi 0,1 do asi 5 % hmotnostných zmesi, výhodne od asi 0,1 do asi 1 %.

Biologická dostupnosť - znamená rýchlosť a rozsah, v ktorom je aktívna

zložka liečiva alebo terapeutického podielu absorbovaná do systemického obehu z podávanej dávkovej formy v porovnaní so štandardom alebo kontrolnou vzorkou.

Konvenčné spôsoby prípravy tabliet sú známe. Takéto spôsoby zahŕňujú suché spôsoby, ako je napríklad priame lisovanie a lisovanie granulátov vyrábaných pomocou zhutňovania, alebo vlhké spôsoby alebo iné zvláštne postupy. Konvenčné spôsoby výroby iných foriem podávania, ako napríklad, kapsuly, čapíky a podobne sú tiež dobre známe.

Ďalšie uskutočnenie tohto vynálezu opisuje použitie farmaceutickej zmesi opísanej vyššie na liečenie takých chorôb, ako sú napríklad hepatitída C a podobne. Tento spôsob zahŕňa podávanie terapeuticky účinného množstva farmaceutických zmesí podľa tohto vynálezu pacientovi, ktorý má takúto chorobu alebo choroby a potrebuje takéto liečenie.

Ako je už skôr uvedené, vynález tiež zahŕňa tautoméry, enantioméry a iné stereoizoméry zlúčenín. Ako teda vie odborník v tejto oblasti techniky, niektoré zlúčeniny podľa vynálezu môžu existovať v izomérnych formách. Takéto variácie sú uvažované ako súčasť rozsahu tohto vynálezu.

Ďalšie uskutočnenie tohto vynálezu opisuje spôsob výroby makrocyclických zlúčenín opísaných v tomto dokumente. Zlúčeniny môžu byť pripravené pomocou viacerých techník známych v tomto odbore. Reprezentatívne ilustračné postupy sú uvedené v nasledujúcich reakčných schémach. Treba rozumieť, že zatiaľ čo nasledujúce ilustračné schémy opisujú prípravu makrocyclických zlúčenín odvodených od 4-*cis*-hydroxyprolínu ("cis-HYP") alebo 7-hydroxytetrahydro-izochinolín-3-karboxylovej kyseliny („TIC“), vhodná substitúcia, tak niektorej z prírodných ako aj neprírodných aminokyselín, bude viesť k tvorbe požadovaných makrocyclických zlúčenín založených na takejto substitúcii.

Skratky, ktoré sú používané v opisoch schém, príprav a v príkladoch, ktoré nasledujú sú:

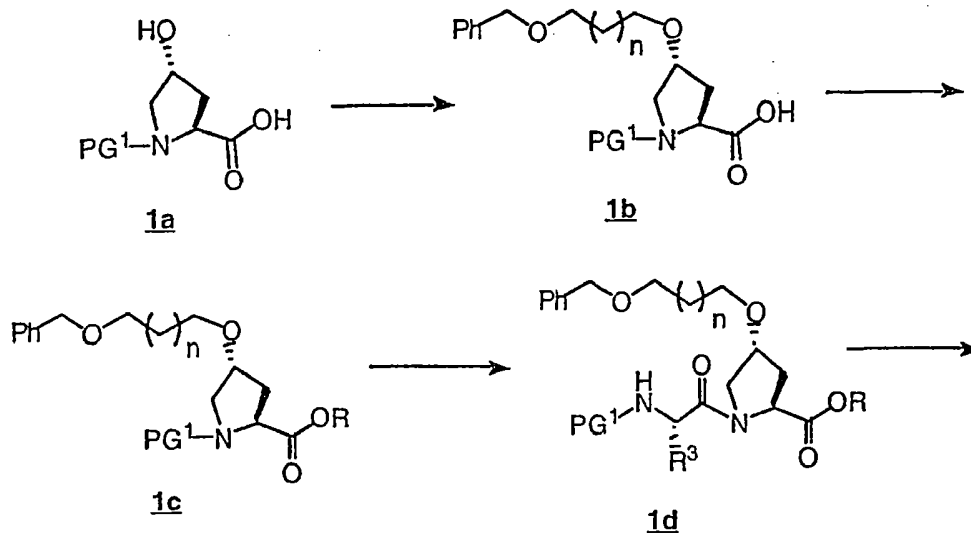
THF:	tetrahydrofurán
DMF:	<i>N,N</i> -dimetylformamid
EtOAc:	etylacetát
AcOH:	kyselina octová
HOObt:	3-hydroxy-1,2,3-benzotriazín-4(3 <i>H</i>)-ón

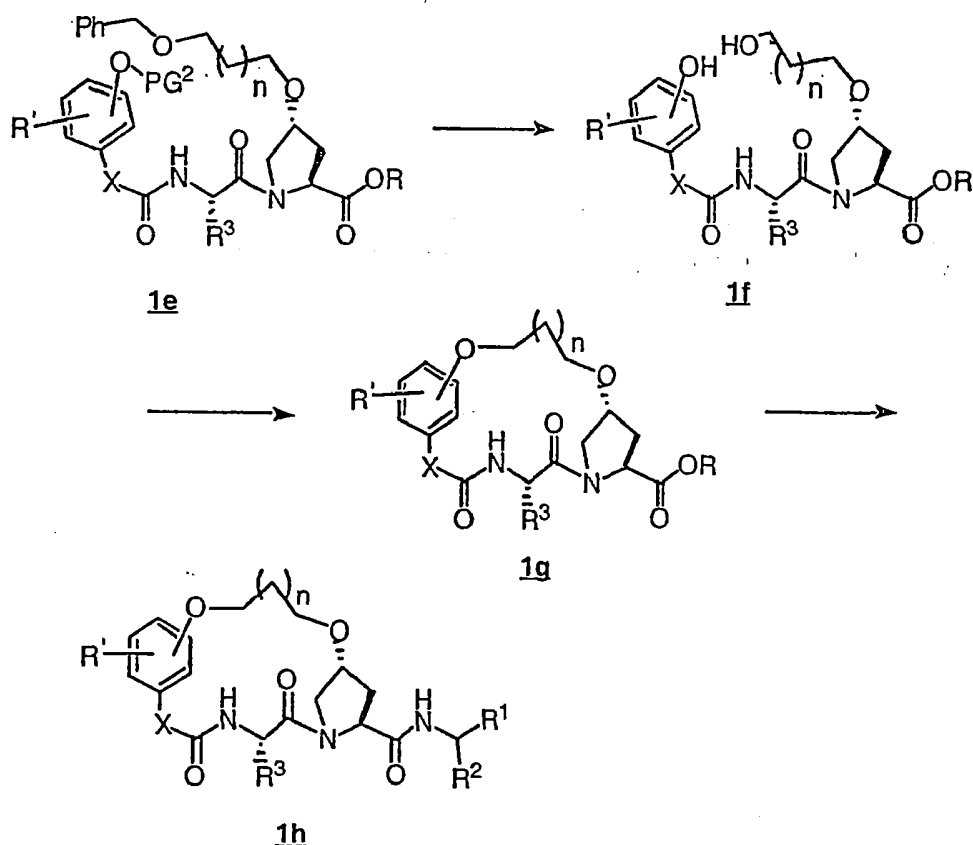
FDCl:	1-(3-dimethylaminopropyl)-3-etylkarbodiimid hydrochlorid
NMM:	<i>N</i> -metylmorfolín
ADDP:	1,1'-(azodikarbonyl)dipiperidín
DEAD:	diletylazodikarboxylát
MeOH:	metanol
EtOH:	etanol
Et ₂ O:	dietyléter
Bn:	benzyl
Boc:	<i>tert</i> -butyloxykarbonyl
Cbz:	benzyloxykarbonyl
Cp:	cyklopentyldienyl
Ts:	<i>p</i> -toluénsulfonyl
Me:	metyl
PyBrOP:	tris(pyrolidino)brómfosfóniumhexafluórfosfát
DMSO:	dimetylsulfoxid
TFA:	kyselina trifluóroctová
HOBt:	hydroxybenztriazol
Hünigova zásada:	diizopropyletylamín
BOP:	benzotrizaol-1-yloxytris(dimetylamino)fosfónium-hexafluór-fosfát
LDA:	lítiumdiizopropylamid
Ph ₃ P:	trifenylfosofín
LAH:	hydrid hlinito-lítny
DMAP:	4-dimetylamino-pyridín
DCC:	dicyklohexylkarbodiimid
MCPBA:	kyselina <i>meta</i> -chlórperbenzoová
BINAP:	2,2'-bis(difenylfosfino)-1,1'-binaftol
MeCN:	acetonitril
Pr:	propyl
Ac:	acetyl
Ph:	fenyl

Všeobecné schémy prípravy

Príprava zlúčeniny všeobecného vzorca 1h, kde R^1 , R^2 , R^3 sú určené vyššie, R^1 je alkyl, heteroalkyl (OR'' , SR''' , $NR''R'''$, kde R'' a R''' sú alkylové skupiny), halogénový substituent v *orto*, *meta* alebo *para* -polohe ku kyslíkovému atómu; R je alkyl, aryl, alebo alkylarylová skupiny; n je od nula do päť; X je $(CH_2)_m$, kde m je jedna až päť, kyslíkový atóm, NY , kde Y je vodíkový atóm, alkyl, arylová skupina; a PG^1 a PG^2 sú príslušné ochranné skupiny ($PG^1 = \textit{terc}$ -boc, cbz a $PG^2 = H$, Bn atď.), je uvedená v Schéme 1. Chránená 4-hydroxyprolínová kyselina (1a) sa alkyluje v 4-polohe pomocou alkylbromidu v prítomnosti hydridu sodného. Produkt 1b sa potom konvertuje na ester buď s alkoholom za kyslých podmienok, alebo s trimetylsilyldiazametánom. Po odstránení ochranných skupín sa výsledný amín kopuluje na Boc-chránenú aminokyselinu v prítomnosti HOObt, EDCI.HCl a NMM. Po odstránení Boc skupiny z produktu 1d reaguje dipeptid so substituovanou kyselinou hydroxyfenyloctovou použitím rovnakých kopulačných podmienok. Katalytická hydrogenácia benzyléteru poskytuje prekursor makrocyclickej látky. Makrocyclizácia sa dosiahne za Mitsunobuových podmienok použitím trifenylfosfínu a ADDP. (Mitsunobuova reakcia je opísaná v prehľade D. L Hughes, Org. Reactions, 42 (1992) 335, John Wiley & Sons, New York, L. Paquette, ed.) Potom, ako sa ester hydrolyzuje na kyselinu s hydroxidom lítnym, kopuluje sa na amínový medziprodukt, čím sa získa zlúčenina 1h.

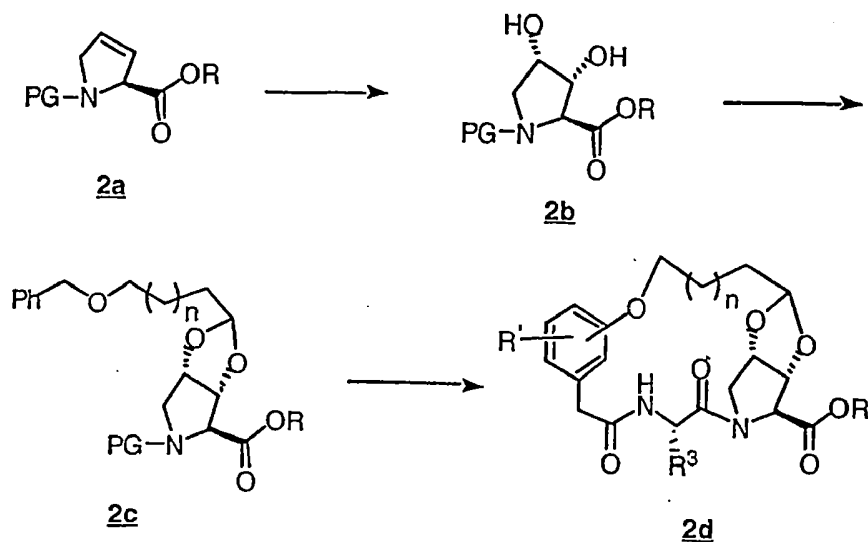
Schéma 1

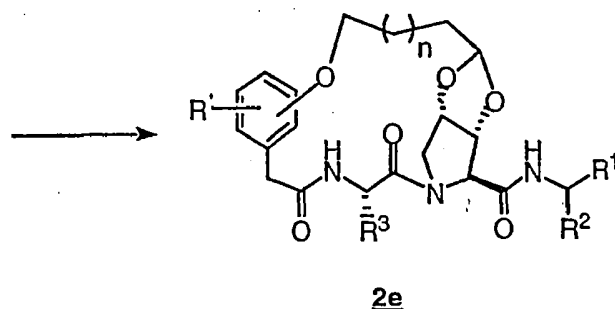




Príprava zlúčeniny všeobecného vzorca 2e, kde R¹, R², R³, R a R' sú určené vyššie, je uvedená v Schéme 2. Chránený 3,4-dehydroprolín 2a je diastereoselektívne dihydroxylovaný, čím sa získa *cis*-diol 2b. Acetálová tvorba medzi zlúčeninou 2b a aldehydom môže byť uskutočnená v prítomnosti katalytického množstva kyseliny toluénsulfónovej. Bicycklický prolínový derivát 2c sa konvertuje na makrocyclický ester 2d a následne na HCV inhibítor 2e podľa sekvencie uvedenej v Schéme 1.

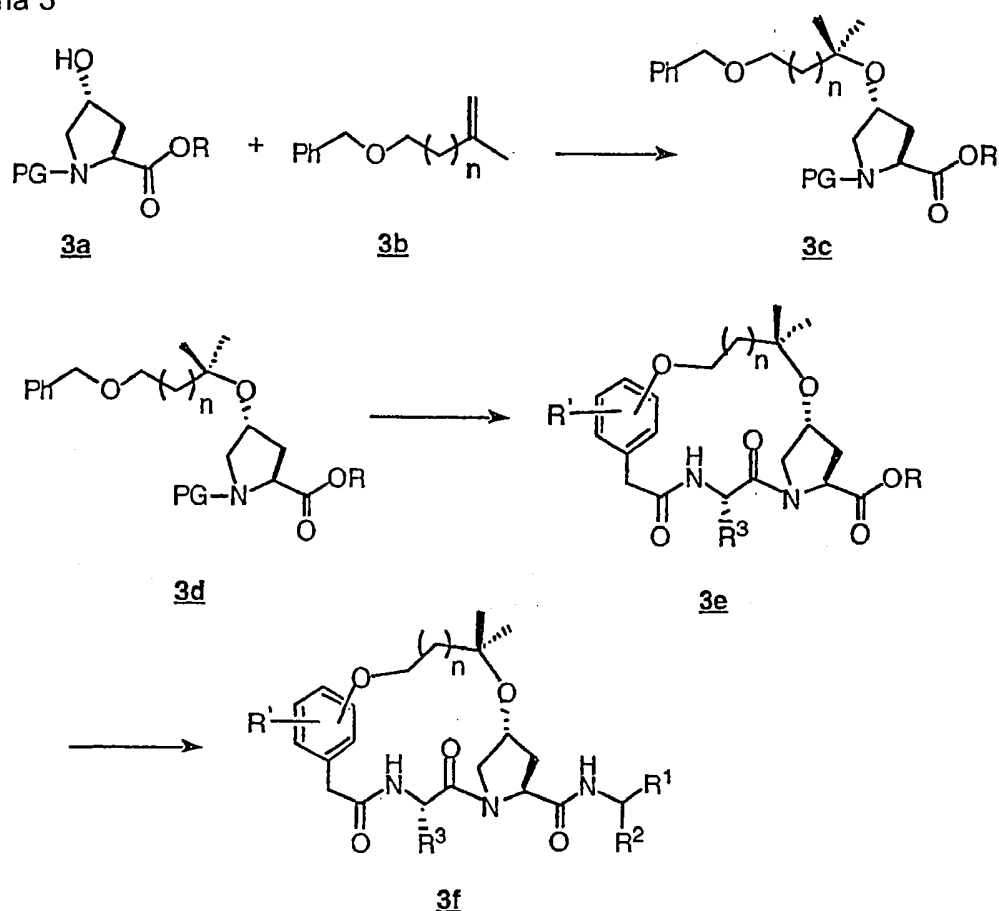
Schéma 2





Príprava zlúčeniny všeobecného vzorca 3f, kde R^1 , R^2 , R^3 , R , R' a n sú určené vyššie, je uvedená v Schéme 3. Pôsobením trifluórbórdietyléterátu sa chránený 4-hydroxyprolín 3a a alkén 3b konvertujú na prolín-éter 3c, ktorý podstupuje rovnakú sekvenciu transformácií uvedenú v Schéme 1, čím sa získa makrocyclický ester 3e a následne požadovaný konečný produkt 3f.

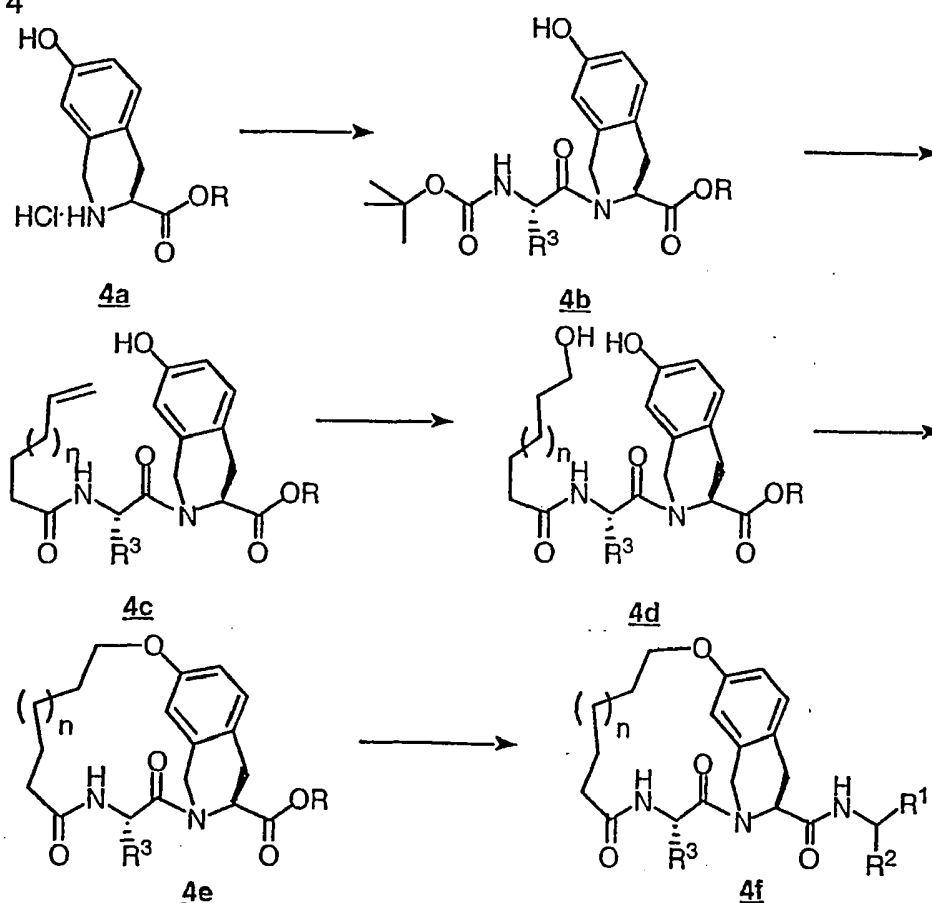
Schéma 3



Príprava zlúčeniny všeobecného vzorca 4f, kde R^1 , R^2 , R^3 , R a n sú určené vyššie, je uvedená v Schéme 4. Kopulácia medzi aminoesterom 4a a Boc-

chránenou aminokyselinou bola realizovaná v prítomnosti NMM, HOObt a EDCI.HCl. Po odstránení Boc skupiny zo zlúčeniny 4b sa dipeptid kopuluje na koncovú alkénkarboxylovú kyselinu, čím sa získa zlúčenina 4c. Dvojitá väzba sa potom konvertuje na alkohol pomocou hydroborácie. Makrocyclizácia fenol-alkoholu sa uskutočňuje za Mitsunobuových podmienok použitím trifenyľfosfínu a ADDP. Po tom, ako je výsledný ester 4e hydrolyzovaný na kyselinu s hydroxidom lítnym, sa kyselina kopuluje na aminový medziprodukt, čím získa zlúčenina 4f.

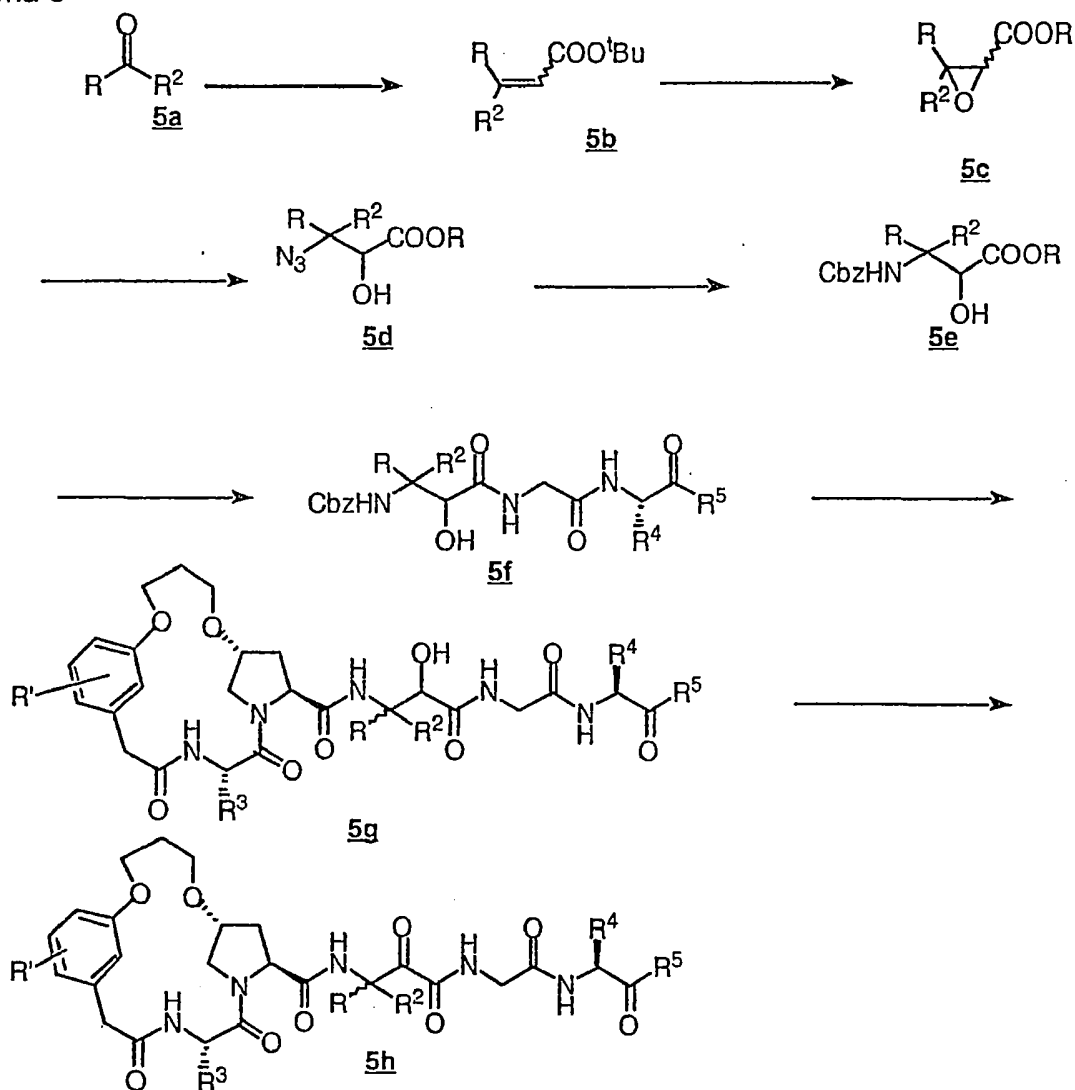
Schéma 4



Príprava zlúčeniny všeobecného vzorca 5h podľa Schémy 5, kde R, R², R³, R⁴ sú určené v Schéme 1, R⁵ je alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heteroalkyl a R⁶ je OR, NR₂ alebo OH. Zlúčenina 5b sa získa pomocou Wittigovej reakcie 5a s *tert*-butylfosfónacetátom a NaH. Zlúčenina 5b sa konvertuje na 5c pomocou pôsobenia MGPBA. Epoxid 5c sa ďalej otvorí s NaN₃, čím sa získa zlúčenina 5d, ktorá sa redukuje s Pd/C/H₂ na amín a Cbz chráni, použitím Cbz-Cl, Et₃N, čím sa získa zlúčenina všeobecného vzorca 5e. Zo zlúčeniny 5e sa odstránia ochranné skupiny s

TFA a ďalej sa spracuje na 5f. Cbz skupina 5f sa hydrogenolyzuje a potom kopuluje so zlúčeninou vzorca 1g použitím EDCI, HOObt, NMM, čím sa získa 5g. Zlúčenina typu 5g sa oxiduje s Dess-Martinovým činidlom, čím sa získa zlúčenina všeobecného vzorca 5h.

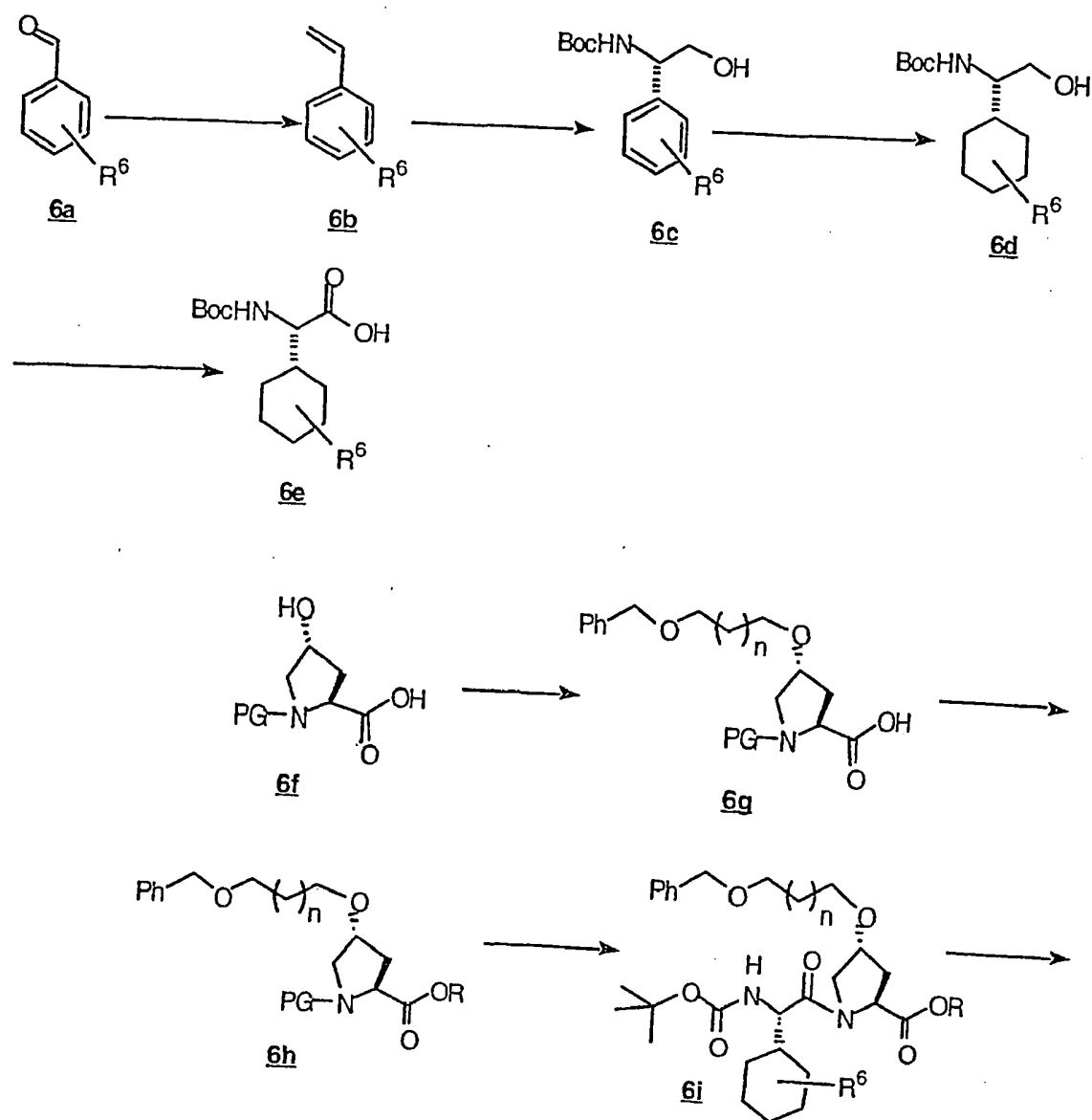
Schéma 5

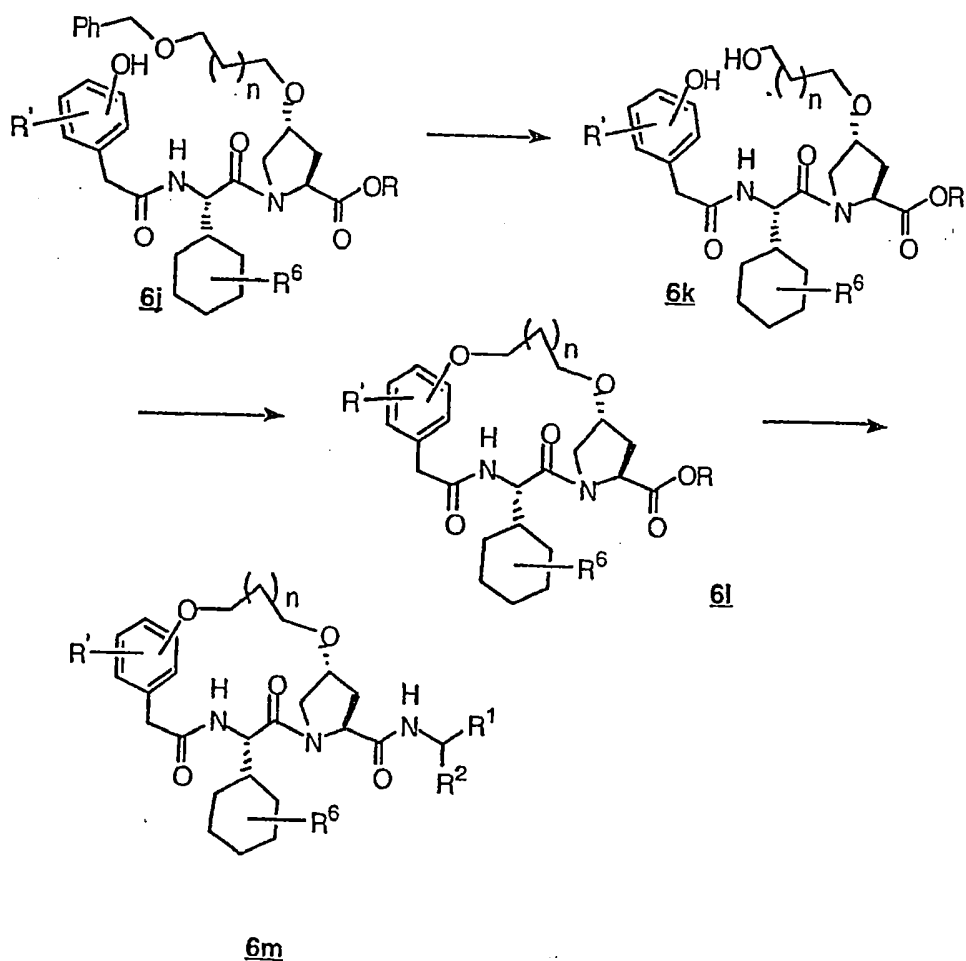


Zlúčenina všeobecného vzorca 6m sa syntetizuje tak, ako je uvedené v Schéme 6, kde R^1 , R^2 , R' a n sú určené v Schéme 1 a R^6 je alkyl, aryl, ester, karboxylová kyselina a karboxylamidy. Zlúčenina typu 6b sa syntetizuje zo zlúčeniny 6a pomocou Wittigovej olefinizácie použitím Ph_3PCH_3I a $BuLi$. Zlúčenina 6b sa ďalej aminohydroxyluje, čím sa syntetizuje zlúčenina typu 6c, ktorá sa redukuje použitím Rh/C a H_2 , čím sa získa zlúčenina typu 6d. Zlúčenina 6d sa oxiduje na

zlúčeninu typu 6e použitím RuCl_3 a H_5IO_6 . Zlúčenina 6e sa spracuje na zlúčeninu 6i pomocou kopulovania s deprotektovanou zlúčeninou 6h použitím NMM, EDCI a HOObt. Predĺženie zlúčeniny 6i na zlúčeninu 6j sa znova dosiahne pomocou kopulácie zlúčeniny 6i, z ktorej sú odstránené ochranné skupiny a príslušne substituovanej kyseliny fenyloctovej použitím EDCI, HOObt a NMM. Zlúčenina 6k získaná po hydrogenolýze benzylovej skupiny v zlúčenine 6j sa cyklizuje na zlúčeninu 6l použitím Mitsunobuových podmienok. Produkt 6l sa ďalej spracuje na zlúčeninu typu 6m, ako je uvedené v Schéme 1.

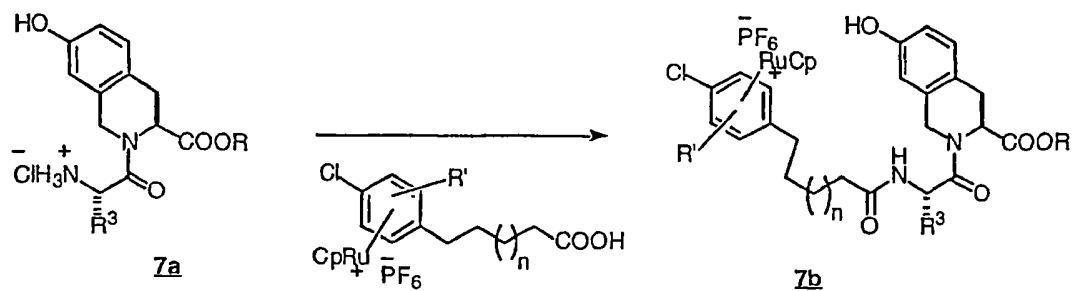
Schéma 6

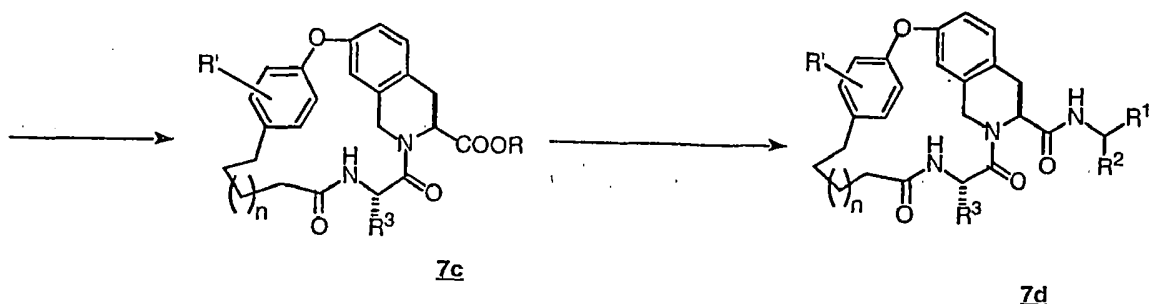




Zlúčeniny typu 7d sa syntetizujú použitím arén-ruténiového chemického postupu, kde substituenty R^1 , R^2 , R^3 , R' sú určené v Schéme 1 a $n = 0$ až 3. Syntéza zlúčeniny vzorca 7b sa získa zo zlúčeniny typu 7a pomocou kopulácie EDCI, HOBt, Hünigovej zásady. Pôsobením Cs_2CO_3 na zlúčeninu 7b a fotolytickým odstránením ruténia sa konvertuje zlúčenina typu 7b na typ 7c, ktorý sa ďalej spracuje na zlúčeniny 7d, ako je uvedené v Schéme 1.

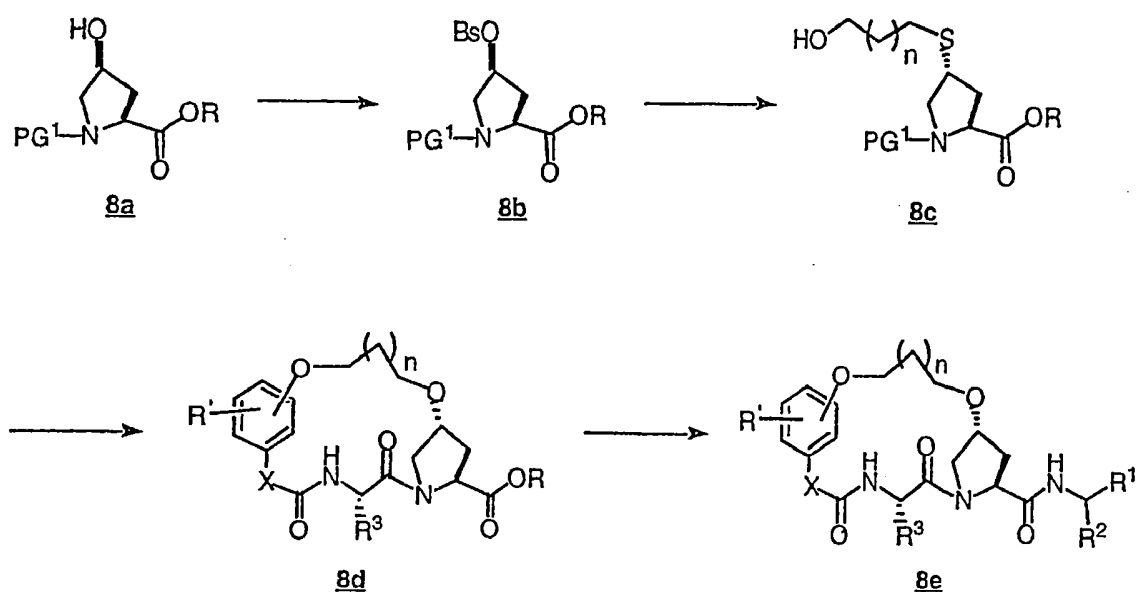
Schéma 7





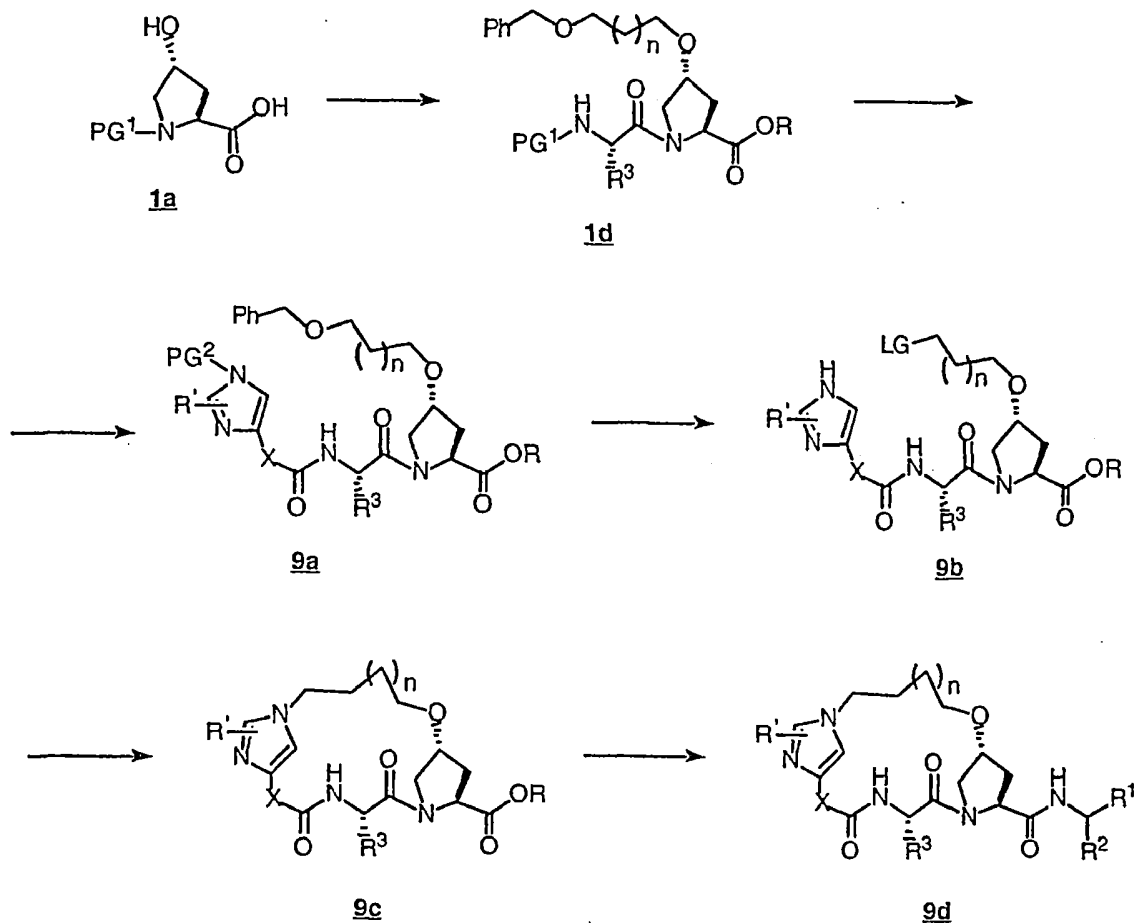
Príprava zlúčeniny všeobecného vzorca 8e, kde R^1 , R^2 , R^3 sú určené vyššie, R' je alkyl, heteroalkyl (OR'' , SR''' , $NR''R'''$, kde R'' a R''' sú alkylové skupiny), halogénový substituent v *orto*, *meta* alebo *para* -polohe ku kyslíkovému atómu; R je alkyl, aryl, alebo alkylarylová skupina; n je od nula do päť; a X je $(CH_2)_m$, kde m je jeden až päť, kyslíkový atóm, NY , kde Y je vodíkový atóm, alkyl, arylová skupina, je uvedená v Schéme 8. Chránený *cis*-4-hydroxyprolínový derivát 8a sa konvertuje na brosylátový ($Bs = 4$ -brómbenzénsulfonyl) derivát 8b, ktorý sa nahradí príslušným merkptoalkoholom za podmienok hydridu sodného, čím sa získa zlúčenina 8c. Konverzia na makrocyclický ester 8d a následne na požadovanú cieľovú zlúčeninu 8e sa uskutočňuje tak, ako je uvedené v Schéme 1.

Schéma 8



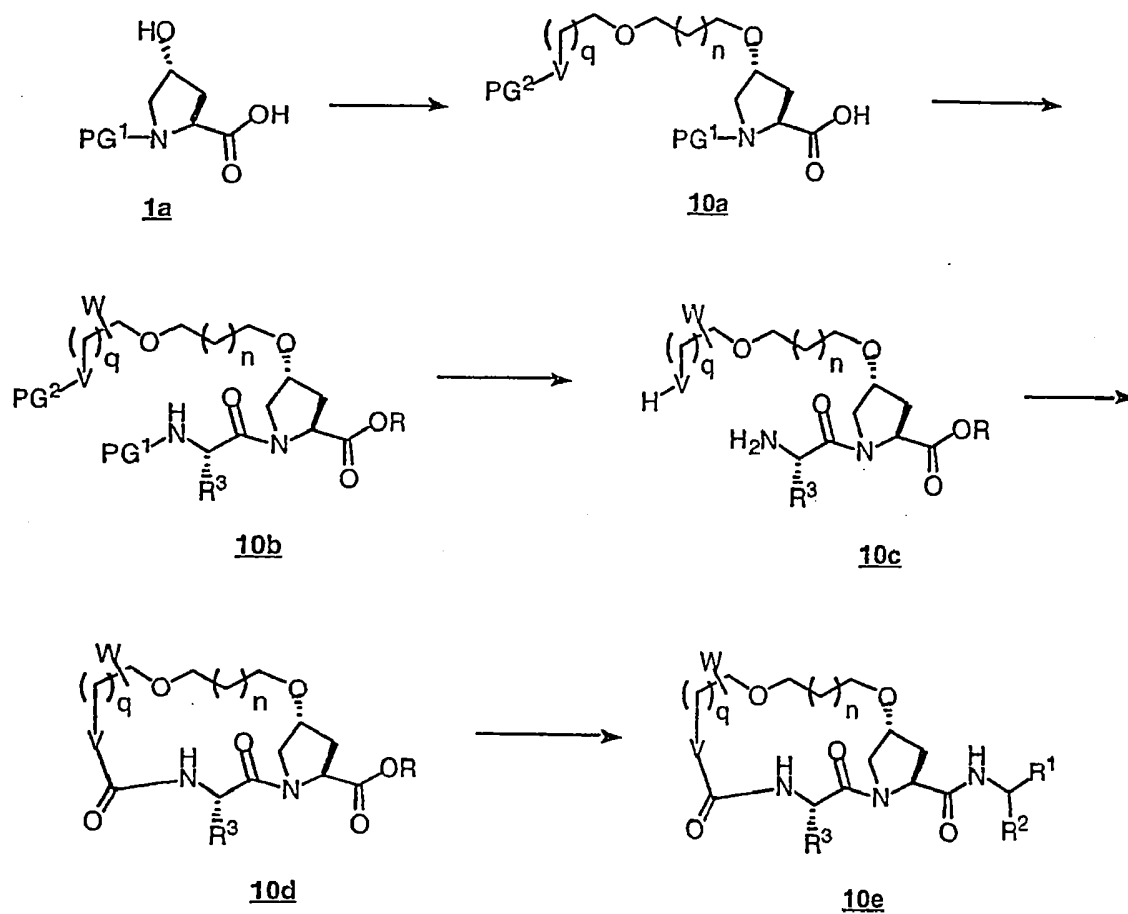
Príprava zlúčeniny všeobecného vzorca 9d, kde R^1 , R^2 , R^3 sú určené vyššie, R' je alkyl, heteroalkyl (OR'' , SR''' , $NR''R'''$, kde R'' a R''' sú alkylové skupiny), halogénový substituent v *orto*, *meta* alebo *para* polohe ku kyslíkovému atómu; R je alkyl, aryl, alebo alkylarylová skupina; n je od nula do päť; X je $(CH_2)_m$, kde m je jeden až päť, kyslíkový atóm, NY , kde Y je vodíkový atóm, alkyl, arylová skupina; a LG je odchádzajúca skupina (napríklad, OTs, Br), je uvedená v Schéme 9. Chránený 4-hydroxyprolínový derivát 1a sa konvertuje na produkt 9a cez tvorbu zlúčeniny 1d (ktorá je opísaná v Schéme 1). Odstránenie benzyléteru, po čom nasleduje konverzia na príslušnú odchádzajúcu skupinu a rozviazanie N-ochrannnej skupiny, čím sa získa produkt 9b. Konverzia na makrocyclický ester 9c sa uskutoční pomocou opracovania uhličitanom sodným/jodidom sodným v refluxujúcom acetóne. Následné spracovanie na požadovanú cieľovú zlúčeninu 9d sa uskutoční, ako je uvedené v Schéme 1.

Schéma 9



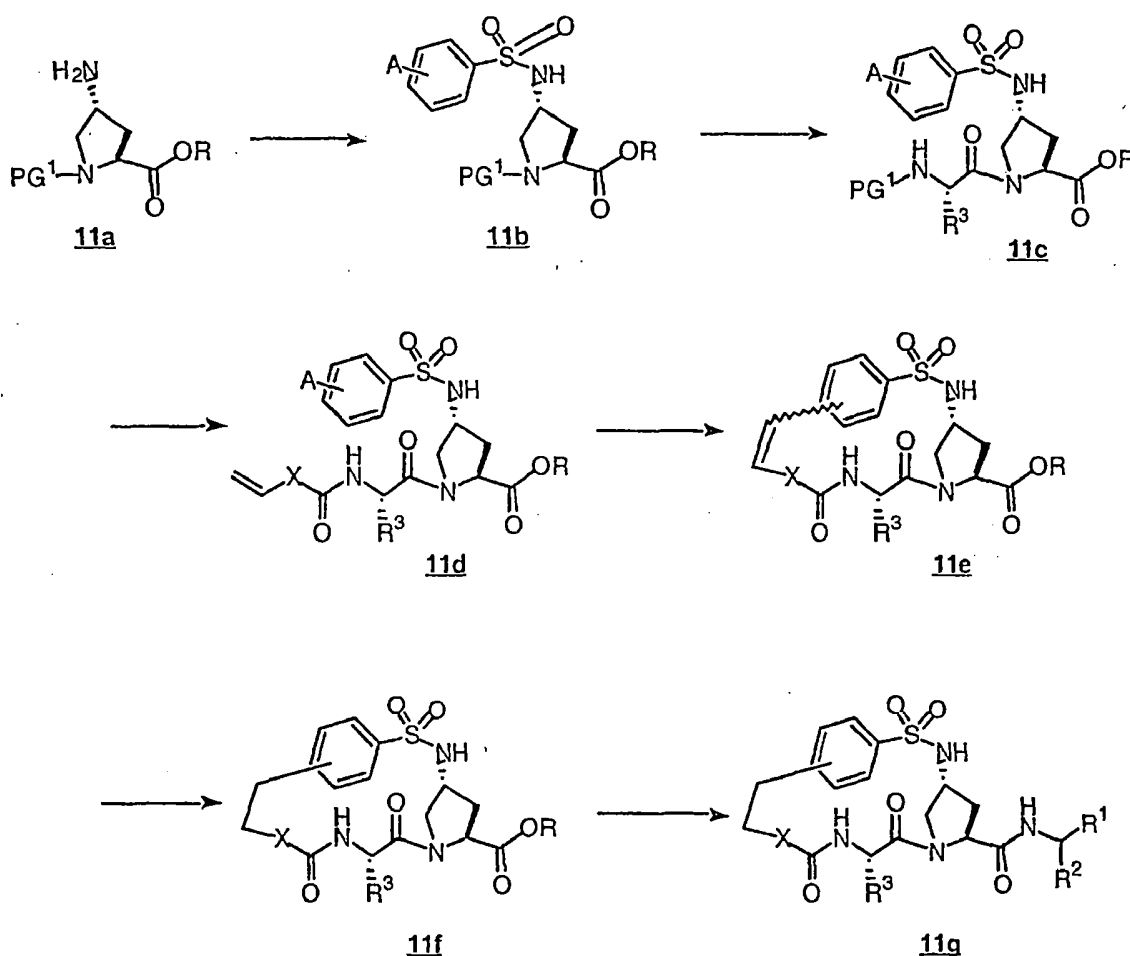
Príprava zlúčeniny všeobecného vzorca 10e, kde R^1 , R^2 , R^3 sú určené vyššie, R' je alkyl, heteroalkyl (OR'' , SR''' , $NR''R'''$, kde R'' a R''' sú alkylové skupiny), halogénový substituent v *orto*, *meta* alebo *para* -polohe ku kyslíkovému atómu; R je alkyl, aryl, alebo alkylarylová skupina; n a q je akákoľvek kombinácia nula až päť; V je kyslíkový atóm, NY , kde Y je vodíkový atóm, alkyl, arylová skupina; W je alkyl, aryl, alkylaryl, heteroaryl; PG^1 a PG^2 sú príslušné ochranné skupiny ($PG^1 = \textit{terc-boc}$, $\textit{cbz}$ a $PG^2 = H$, Bn , atď.), je uvedená v Schéme 10. Chránený 4-hydroxyprolínový derivát 1a sa konvertuje na zlúčeninu 10b, ako je opísané v Schéme 1. Odstránenie ochrannej skupiny (10c), po čom nasleduje pôsobenie s fosgénovým ekvivalentom, vedie k makrocyclickému esteru 10d. Konverzia na požadovanú cieľovú zlúčeninu sa uskutočňuje tak, ako je uvedené v Schéme 1.

Schéma 10



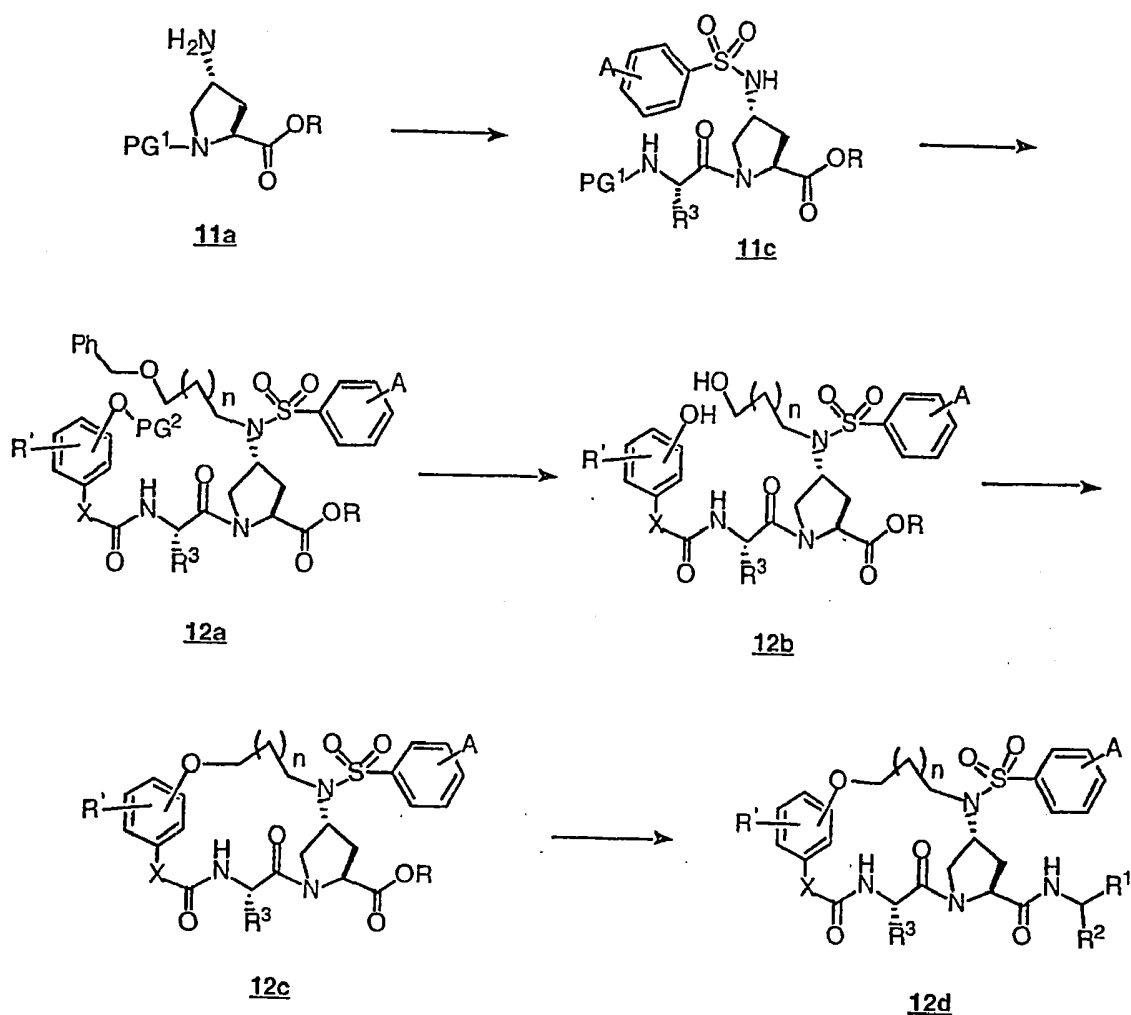
Príprava zlúčeniny všeobecného vzorca 11g, kde R^1 , R^2 , R^3 sú určené vyššie, R je alkyl, aryl, alebo alkylarylová skupina; X je $(CH_2)_m$, $(CH_2)_mO$, $(CH_2)_mNY$, kde m je jedna až päť, a Y je vodíkový atóm, alkyl, arylová skupina; R je vodíkový atóm alebo príslušne umiestnený halogénový atóm; PG^1 je príslušná ochranná skupina ($PG^1 = \text{terc-boc}$, cbz , atď.), je uvedená v Schéme 11. Chránený 4-aminoprolínový derivát 11a sa konvertuje na zlúčeninu 11b pomocou pôsobenia vhodným benzénsulfonylchloridom a zásadou. Odstránenie ochrannej skupiny a kopulácia s chráneným aminokyselinovým derivátom poskytne zlúčeninu 11c. Táto zlúčenina sa konvertuje na zlúčeninu 11d použitím podobnej stratégie deprotektia-kopulácia. Paládium(0) katalyzovaná cyklizácia poskytuje zlúčeninu 11e ako zmes izomérov, ktoré sa hydrogenujú, čím sa získa makrocyclický ester 11f. Následná konverzia na požadovanú cieľovú zlúčeninu 11g sa uskutočňuje tak, ako je uvedené v Schéme 1.

Schéma 11



Príprava zlúčeniny všeobecného vzorca 12d, kde R^1 , R^2 , R^3 sú určené vyššie, R je alkyl, aryl, alebo alkylarylová skupina; n je od nula do päť; X je $(CH_2)_m$, kde m je jedna až päť, kyslíkový atóm, NY, kde Y je vodíkový atóm, alkyl, arylová skupina; R je vodíkový atóm alebo príslušne umiestnený halogénový atóm; a PG^1 a PG^2 sú príslušné ochranné skupiny ($PG^1 = \text{terc-boc}$, cbz a $PG^2 = H$, Bn, atď.), je uvedená v Schéme 12. Chránený 4-aminoprolínový derivát 11a sa konvertuje na zlúčeninu 11c ako je opísané v Schéme 11. Konverzia zlúčeniny 11c na makrocyklický ester 12c a následná konverzia na požadovanú cieľovú zlúčeninu 12d sa uskutočňuje tak, ako je uvedené v Schéme 1.

Schéma 12

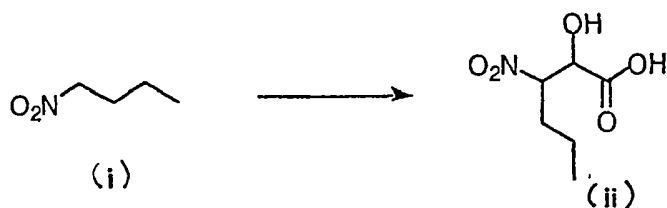


Príklady uskutočnenia vynálezu

Príprava medziproduktov

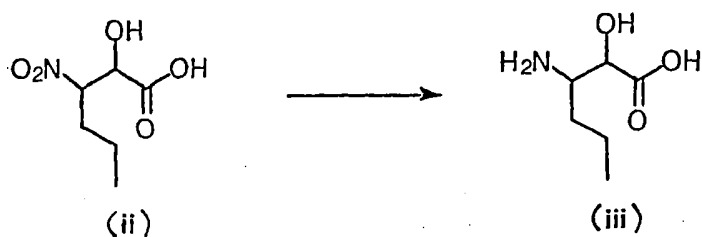
Medziprodukt A

Krok 1



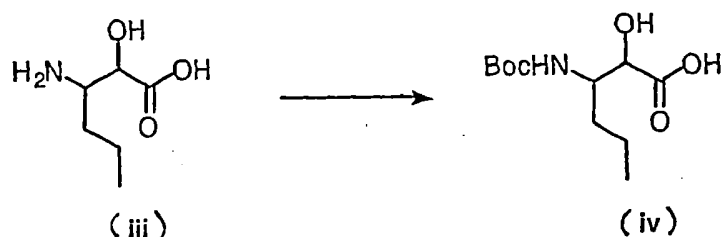
Do premiešavaného roztoku 1-nitrobutánu (16,5 g, 0,16 mol) a kyseliny glyoxylovej v H₂O (28,1 g, 0,305 mol) a MeOH (122 ml) pri 0 °C až 5 °C sa pridával po kvapkách trietylamín (93 ml, 0,667 mol) počas 2 hodín. Roztok sa zahrieval na laboratórnu teplotu, premiešaval počas noci a skoncentroval do sucha, čím sa získal olej. Tento olej sa potom rozpustil v H₂O a okyslil na pH =1 10% HCl, po čom nasledovala extrakcia s EtOAc. Spojený organický roztok sa premyl soľankou, vysušil nad Na₂SO₄, prefiltraval a skoncentroval do sucha, čím sa získal produkt ii (28,1 g, 99% výťažok).

Krok 2



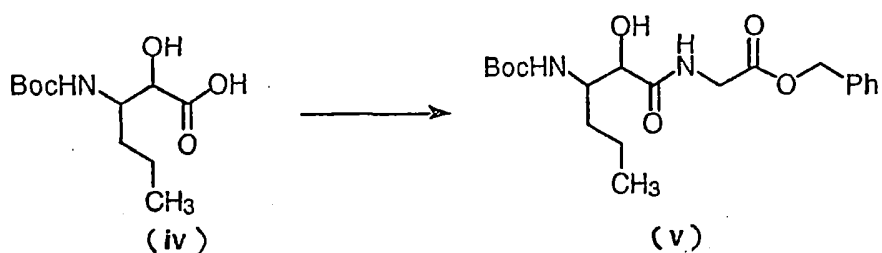
Do premiešavaného roztoku východiskového materiálu ii (240 g, 1,35 mol) v kyseline octovej (1,25 l) sa pridala 10% Pd/C (37 g). Výsledný roztok sa hydrogenoval pri 407 kPa (59 psi) počas 3 hodín a potom pri 414 kPa (60 psi) počas noci. Kyselina octová sa potom odparila a azeotropovala 3 krát s toluénom, potom sa zmes rozotrela s MeOH a éterom. Roztok sa potom prefiltraval a azeotropoval dvakrát s toluénom za vzniku špinavobielej tuhej látky (131 g, 0,891 mol, 66 %).

Krok 3



Do premiešavaného roztoku aminokyseliny iii (2,0 g, 13,6 mmol) v dioxáne (10 ml) a H₂O (5 ml) pri 0 °C sa pridal 1 mol/l NaOH roztok (4,3 ml, 14,0 mmol). Výsledný roztok sa premiešaval počas 10 minút, po čom nasledovalo pridanie di-*tert*-butyldikarbonátu (0,110 g, 14,0 mmol) a zmes sa premiešavala pri 0 °C 15 minút. Roztok sa potom zahrieval na laboratórnu teplotu, premiešaval 45 minút a udržiaval sa v chladničke počas noci a skoncentroval sa do sucha, čím sa získal surový materiál. Do roztoku tohto surového materiálu v EtOAc (100 ml) a ľadu sa pridal KHSO₄ (3,36 g) a H₂O (32 ml) a zmes sa premiešavala 4 až 6 minút. Organická vrstva sa potom oddelila a vodná vrstva sa extrahovala dvakrát s EtOAc a spojené organické vrstvy sa premyli vodou, soľankou, vysušili sa nad Na₂SO₄, prefiltrovali a skoncentrovali do sucha, čím sa získal produkt ako číra guma (3,0 g, 89% výťažok).

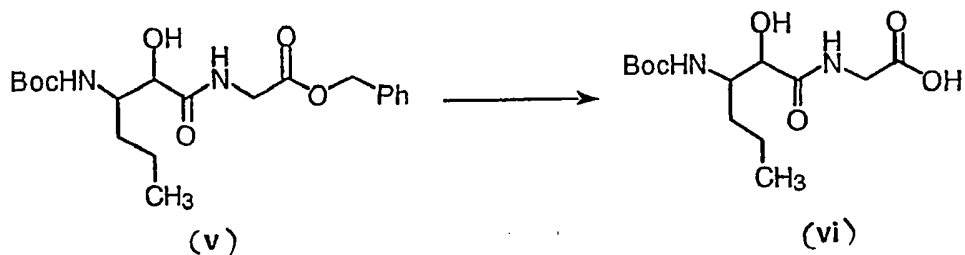
Krok 4



Do premiešavaného roztoku východiskového materiálu (3,00 g, 12,0 mmol) v DMF (15 ml) a CH₂Cl₂ (15 ml) pri -20 °C sa pridal HOObt (1,97 g, 12,0 mmol), *N*-metylmorfolín (4,0 ml, 36,0 mmol) a EDCI (2,79 g, 14,5 mmol) a premiešaval sa počas 10 minút, po čom nasledovalo pridanie HCl.H₂N-Gly-OBn (2,56 g, 13,0 mmol). Výsledný roztok sa premiešaval pri -20 °C počas 2 hodín, potom sa udržiaval v chladničke počas noci a skoncentroval sa do sucha, po čom nasledovalo zriedenie s EtOAc (150 ml). EtOAc roztok sa potom premyl dvakrát nasýteným

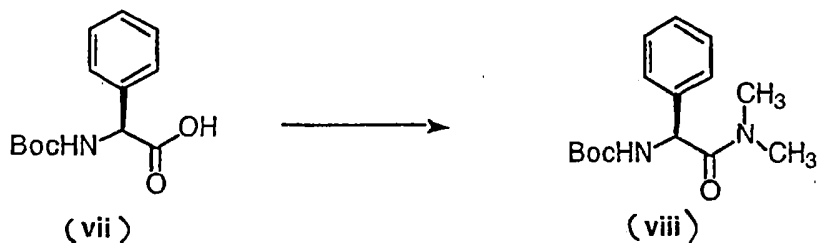
roztokom NaHCO_3 , H_2O , 5 % H_3PO_4 , soľankou, vysušil sa nad Na_2SO_4 , prefiltroval a skoncentroval sa do sucha, čím sa získal produkt (4,5 g, 94 %). LRMS m/z $\text{MH}^+ = 395,1$.

Krok 5



Roztok východiskového materiálu v (7,00 g, 17,8 mmol) v absolútnom etanole (300 ml) sa premiešaval pri laboratórnej teplote pod atmosférou vodíka v prítomnosti Pd-C (300 mg, 10%). Postup reakcie sa monitoroval pomocou TLC. Po 2 hodinách sa zmes prefiltrovala cez vrstvu Celite a výsledný roztok sa skoncentroval vo vákuu, čím sa získal produkt vi (5,40 g, kvantitatívny výťažok). LRMS m/z $\text{MH}^+ = 305,1$.

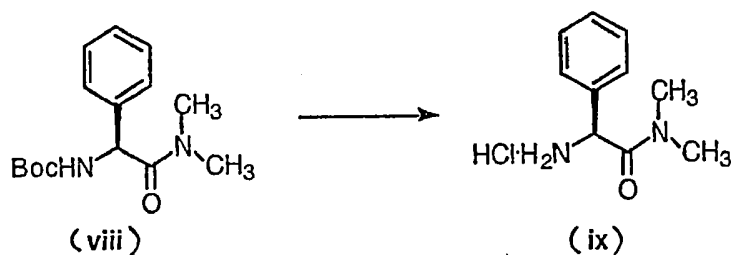
Krok 6



Do roztoku hydrochloridu dimetylamínu (1,61 g, 19,7 mmol), *N*-Bocfenylglycínu (4,50 g, 17,9 mmol), HOObt (3,07 g, 18,8 mmol) a EDCI (4,12 g, 21,5 mmol) v bezvodom DMF (200 ml) a CH_2Cl_2 (150 ml) pri -20°C sa pridával NMM (5,90 ml, 53,7 mmol). Po premiešavaní pri tejto teplote počas 30 minút sa reakčná zmes uschovala v mrazničke počas noci (18 hodín). Potom sa ponechala zahriať sa na laboratórnu teplotu a pridal sa EtOAc (450 ml), soľanka (100 ml) a 5% H_3PO_4 (100 ml). Po tom, ako sa vrstvy oddelili, sa organický roztok premyl 5% H_3PO_4 (100 ml), nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (2x 150 ml), vodou

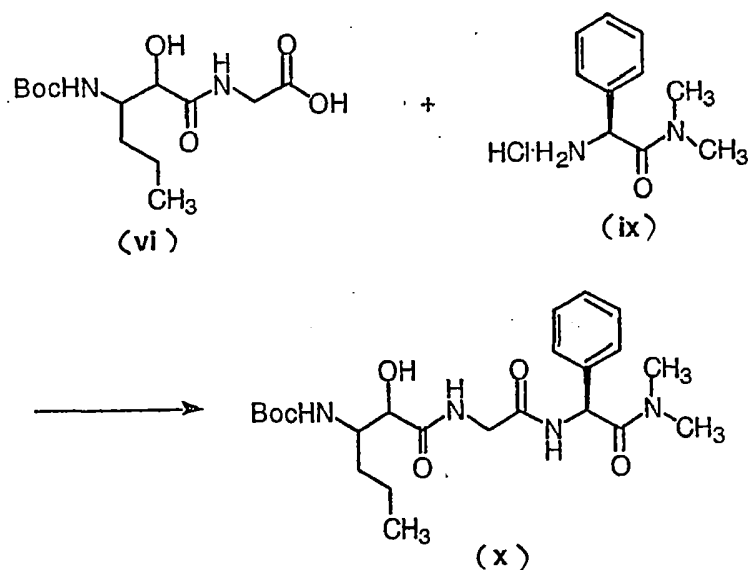
(150 ml) a soľankou (150 ml), vysušil sa (MgSO_4), prefiltroval a skoncentroval sa za vákua, čím sa získal surový produkt viii (4,86 g) ako biela tuhá látka, ktorá sa použila bez ďalšieho čistenia.

Krok 7



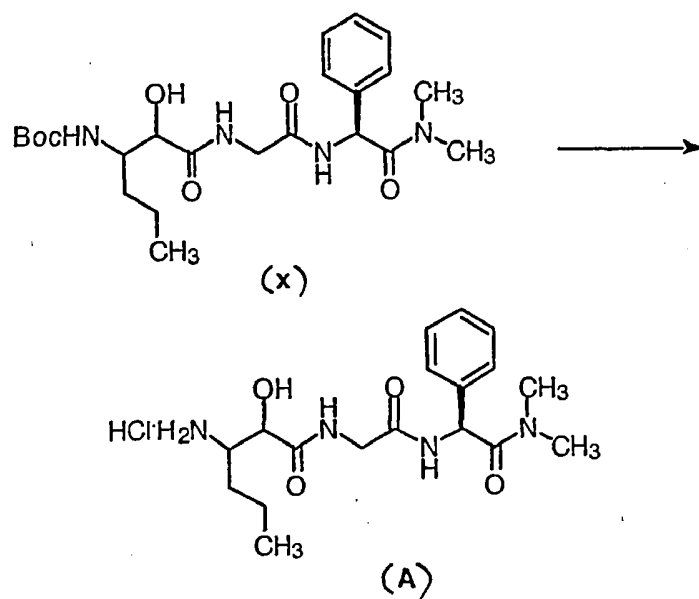
N-Boc-fenylglycín-dimetylamid viii (4,70 g, surový) sa rozpustil v 4 mol/l HCl (60 ml, 240 mmol) a výsledný roztok sa premiešaval pri laboratórnej teplote. Postup reakcie sa monitoroval pomocou TLC. Po 4 hodinách sa roztok skoncentroval za vákua, čím sa získala biela tuhá látka, ktorá sa použila v nasledujúcej reakcii bez ďalšieho čistenia. LRMS m/z MH^+ = 179,0.

Krok 8



Požadovaná zlúčenina x sa pripravila podľa postupu kopulácie opísaného v Kroku 4, LRMS m/z MH^+ = 465,1.

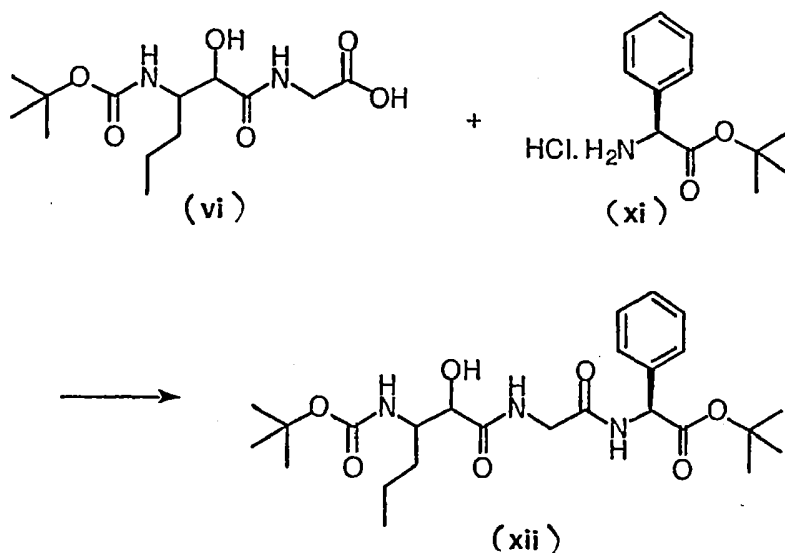
Krok 9



Požadovaný medziprodukt A sa pripravil z tripeptidu x podľa postupov opísaných v Kroku 7, LRMS m/z $MH^+ = 365,1$.

Medziprodukt B

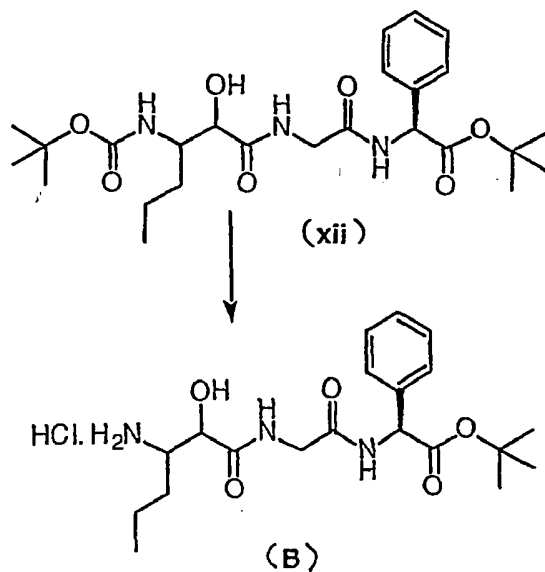
Krok 1



Požadovaný produkt xii sa získal pomocou postupu opísaného pre medziprodukt A Krok 8 použitím komerčne dostupnej látky xi ako kopulačného partnera.

Surový materiál bol dostatočne čistý pre ďalšie štúdium. Podiel produktu sa čistil pomocou rýchlej chromatografie použitím zmesi 97/3 dichlórmetán/MeOH. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{25}H_{40}N_3O_7$: 494,2866 ($M+H$) $^+$. Nájdené: 494,2863.

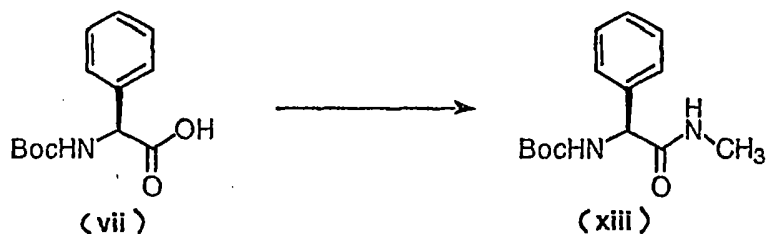
Krok 2



Požadovaný produkt B sa získal pomocou postupu opísaného pre Medziprodukt A Krok 7. Surový materiál bol použitý bez ďalším čistenia.

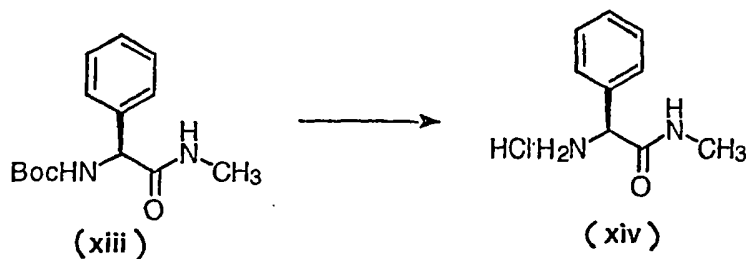
Medziprodukt C

Krok 1



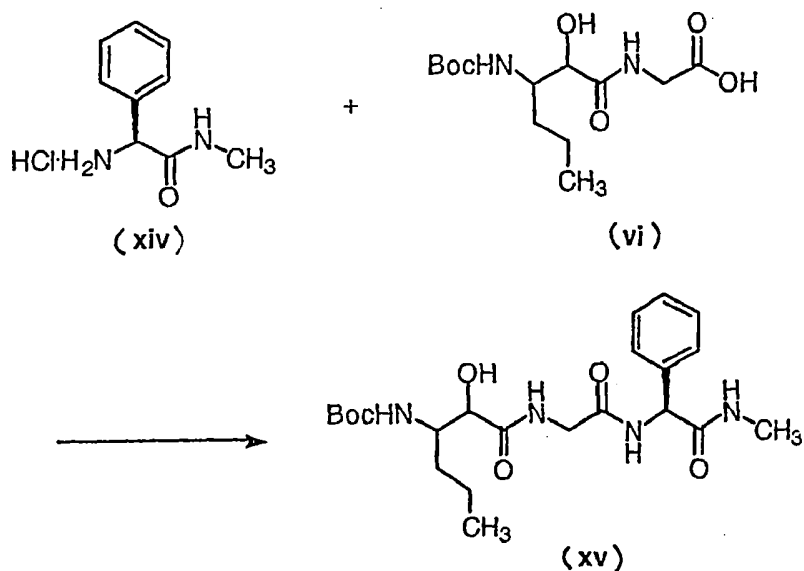
Požadovaná zlúčenina xiii sa pripravila podobne, ako je kopulačný postup opísaný v Kroku 6 pre medziprodukt A s výnimkou nahradenia metylamínu za dimetylamín.

Krok 2



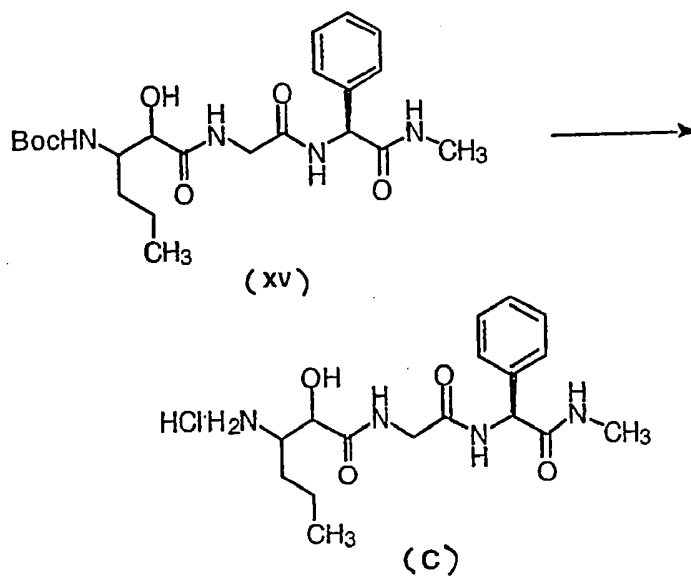
Požadovaná zlúčenina xiv sa pripravila z xiii podľa postupu opísaného v Kroku 7 pre Medziprodukt A.

Krok 3



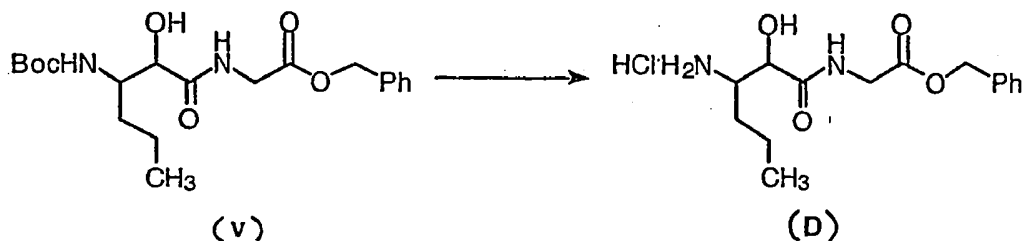
Požadovaná zlúčenina xv sa pripravila podľa kopulačného postupu opísaného v Kroku 6 pre medziprodukt A, s výnimkou nahradenia amínu xiv za amín ix. LRMS m/z MH^+ = 451,1.

Krok 4



Požadovaný medziprodukt C sa pripravil podľa postupu opísaného v Kroku 7 pre medziprodukt A. LRMS m/z MH^+ = 351,1. Bol použitý bez ďalšieho čistenia.

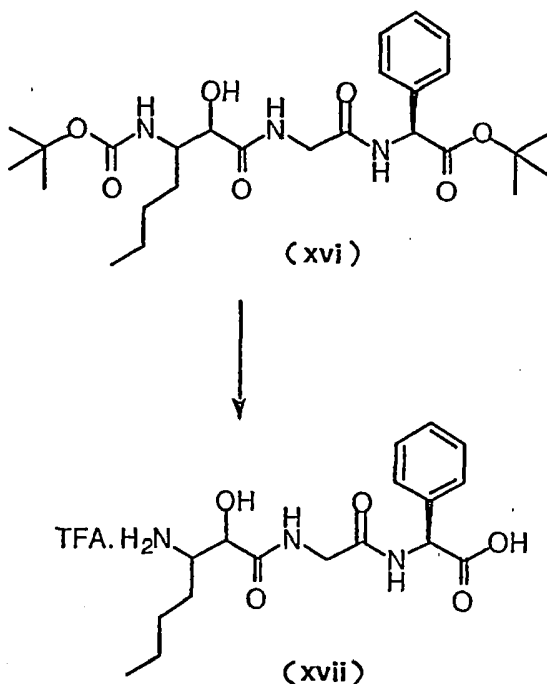
Medziprodukt D



Požadovaný medziprodukt D sa pripravil zo zlúčeniny v podľa postupu opísaného v Kroku 7 pre medziprodukt A. Bol použitý bez ďalšieho čistenia.

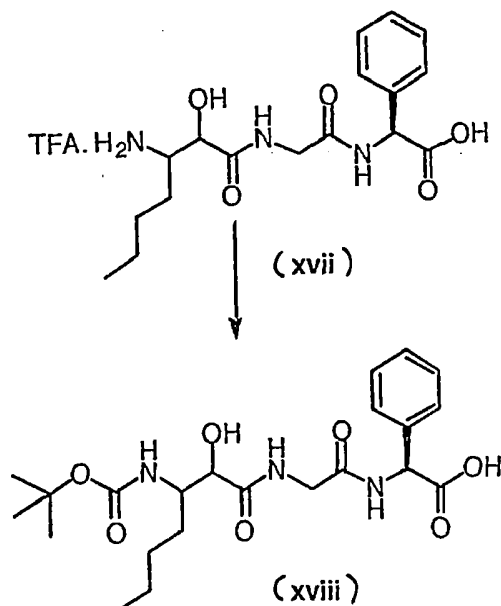
Medziprodukt E

Krok 1



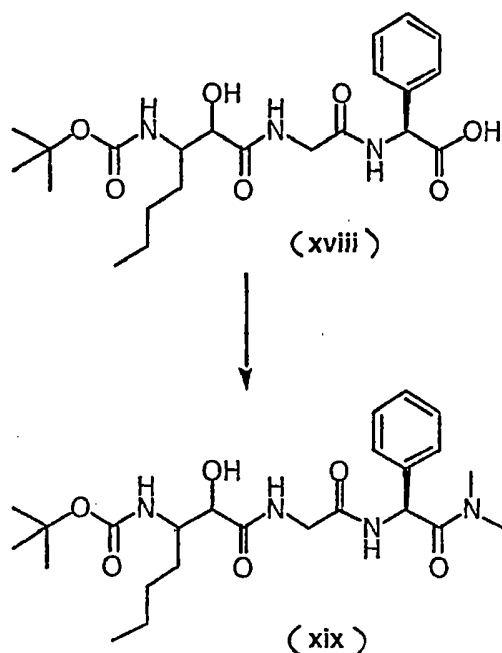
Do roztoku látky xvi (5 g) v dichlórmetáne (20 ml) sa pridával TFA (20 ml) a premiešaval sa pri okolitej teplote počas 4 hodín. Pridal sa ďalší podiel TFA (10 ml) a nechal sa stáť počas ďalších 3 hodín. Všetky prchavé látky sa odparili a roztok sa vysušil za vákua, čím sa získal kvantitatívny výťažok xvii. Tento materiál bol prenesený ďalej. (Poznámka: Východiskový materiál xvi sa získal pomocou podobného postupu, ako je opísané pre B, použitím nitropentánu ako prekursora).

Krok 2



Požadovaná zlúčenina xviii sa získala pomocou spôsobu opísaného pre medziprodukt A Krok 3. Uhličitan sodný sa použil ako zásada namiesto NaOH. Surový materiál xviii sa preniesol ďalej bez čistenia.

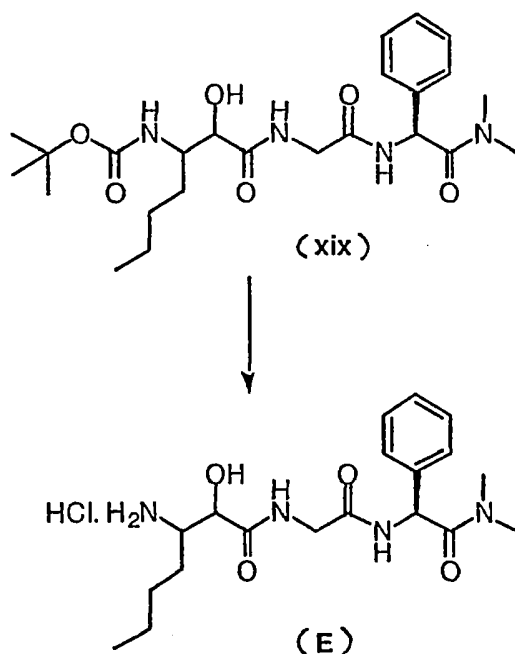
Krok 3



Do studeného (-20 °C) roztoku xviii (4,8 g, 10,7 mmol) v zmesi dichlórmetán/DMF (4/1, 25 ml) sa pridával dimetylamín hydrochlorid (959 mg, 11,77 mmol), diizopropyletylamín (4,2 ml, 24,1 mmol) a BOP (6,14 g, 13,89 mmol). Zmes sa nechala stáť pri -8 °C počas noci. Reakčná zmes sa zriedila dichlórmetánom a

premyla 10% roztokom kyseliny citrónovej, nasýteným NaHCO_3 roztokom a soľankou. Organická vrstva sa vysušila (Na_2SO_4) a skoncentrovala sa. Zvyšok sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 97,5/2,5 dichlórmetán/MeOH, čím sa získalo 2,4 g zlúčeniny xix (47% výťažok). HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{N}_4\text{O}_6$: 479,2870 ($\text{M}+\text{H}$)⁺. Nájdene: 479,2862.

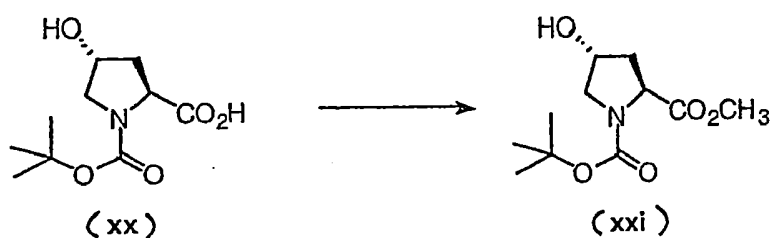
Krok 4



Požadovaný produkt E sa získal pomocou postupu opísaného pre medziprodukt A Krok 7. Surový materiál bol použitý bez ďalšieho čistenia.

Medziprodukt F

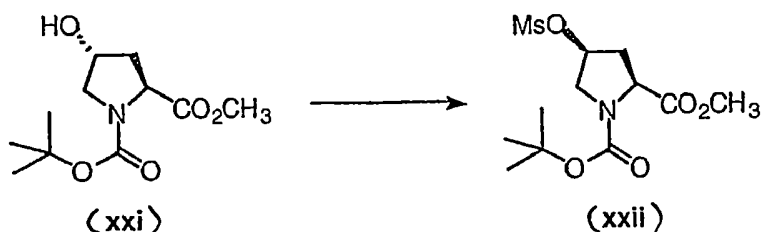
Krok 1



Do studeného (0 °C) roztoku zlúčeniny xx (20,0 g, 86,5 mmol) v benzéne (300 ml) a MeOH (50 ml) sa pridával trimetylsilyl-diazometán (2 mol/l v hexánoch, 55 ml, 112 mmol) po kvapkách, kým roztok zostával žltý. Reakčná zmes sa

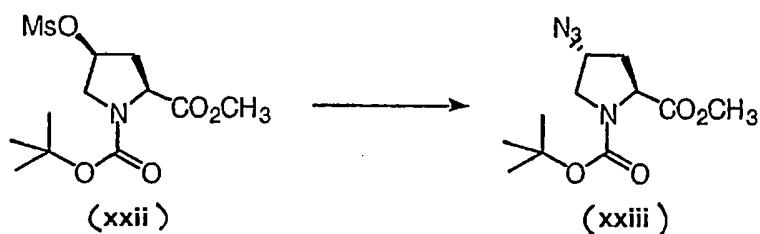
skoncentrovala, čím sa získalo 21 g zlúčeniny xxi (99% výťažok), ktorý bol dosť čistý na to, aby sa použil ďalej HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{11}H_{20}NO_5$: 246,1341 (M+H)⁺. Nájdené: 246,1347.

Krok 2



Do studenej (-5 °C) mechanicky premiešavanej zmesi trifenyľfosfínu (31,97 g, 121,9 mmol) a metánsulfónovej kyseliny (7,66 ml, 118,1 mmol) v toluéne sa pridával DEAD (26,47 g, 152 mmol) pomaly, kým sa udržala reakčná teplota pod 35 °C. Keď pridávanie bolo úplné, reakčná zmes sa ochladila na 20 °C a pridal sa roztok zlúčeniny xxi (23,71 g, 96,8 mmol) v toluéne, po čom nasledoval trietylamin (5,39 ml, 38,7 mmol). Zmes sa zahrievala na 70 až 75 °C počas 6 hodín a ochladila sa na 5 až 10 °C počas 1 hodiny. Všetok tuhý materiál sa odfiltroval a filtrát sa premyl s 5% KH_2PO_4 roztokom a soľankou. Organická vrstva sa vysušila (Na_2SO_4), a skoncentrovala sa. Rýchla kolónová chromatografia zvyšku použitím zmesi 95/5 dichlórmetán/EtOAc poskytla produkt 26 g zlúčeniny xxii (83% výťažok). HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{12}H_{22}NO_7S$: 324,1117 (M+H)⁺. Nájdené: 324,1115.

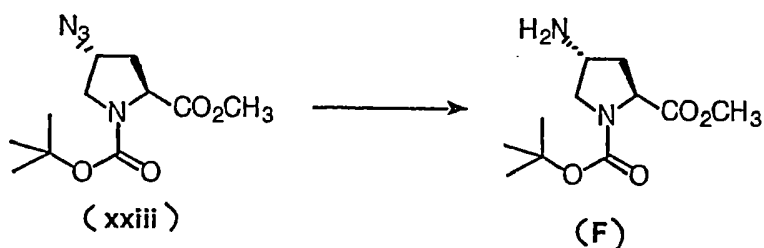
Krok 3



Metylsulfónan xxii (26 g, 80,4 mmol) sa rozpustil v DMF a všetky prchavé látky sa odparili za vákua. (POZOR: Stopové množstvá dichlórmetánu musia byť odstránené pomocou tohto spôsobom). K zostávajúcemu roztoku sa pridal azid sodný (5,75 g, 88,4 mmol) a zahriat sa na 70 °C počas 5 hodín. Reakčná zmes sa

ochladila, zriedila EtOAc a premyla nasýteným roztokom NaHCO_3 . Organická vrstva sa vysušila (Na_2SO_4) a skoncentrovala, čím sa získalo 18 g (83% výťažok) zlúčeniny xxiii, ktorá bola dostatočne čistá pre ďalšie štúdium.

Krok 4

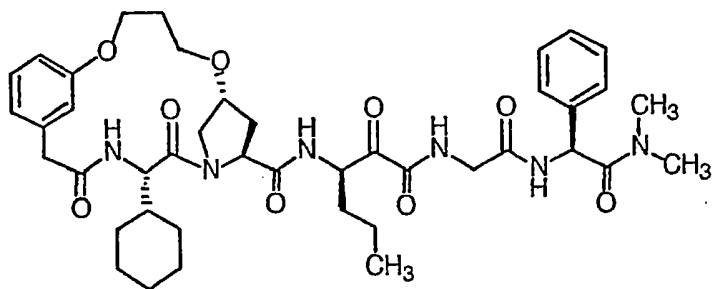


Požadovaný produkt F sa získal pomocou postupu opísaného pre medzi-produkt A Krok 5. Surový materiál bol použitý bez ďalšieho čistenia.

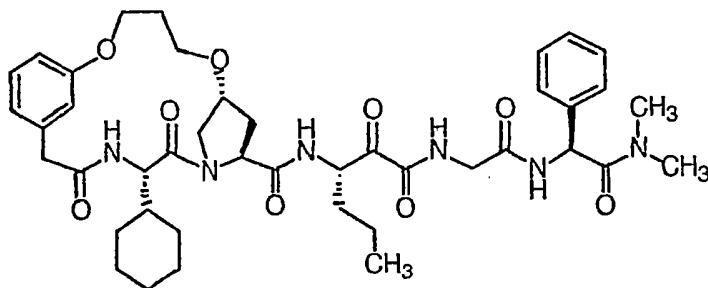
Príprava konečných zlúčenín

Príklad 1

Príprava zlúčenín vzorca 1A a 1B

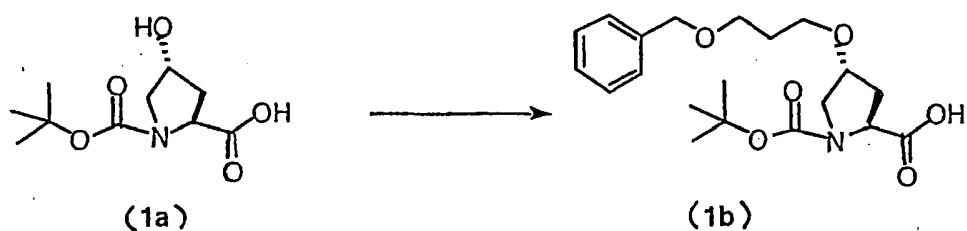


(1A)



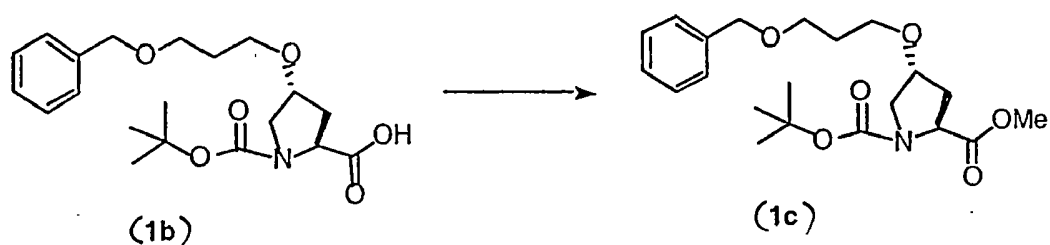
(1B)

Krok A



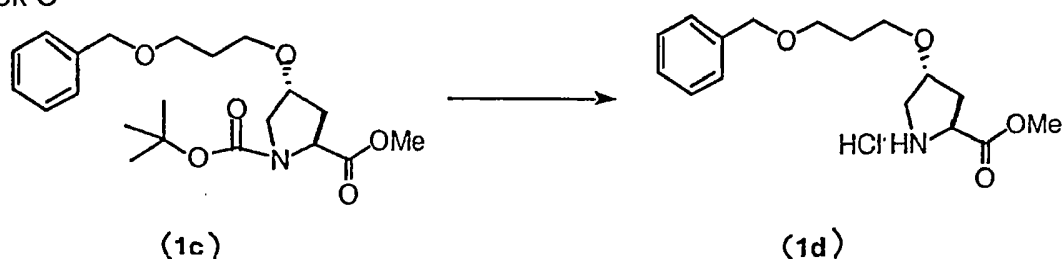
Do roztoku Boc-Hyp-OH (7,0 g, 30,3 mmol) a benzyl-3-brómpropyléteru (7,89, 34,0 mmol) v bezvodom DMF (400 ml) pri laboratórnej teplote sa pridával hydrid sodný (3,5 g, 60% disperzia v minerálnom oleji, 87,5 mmol) a jodid sodný (0,5 g, 3,33 mmol) za premiešavania. Výsledná suspenzia sa prudko premiešavala pri laboratórnej teplote počas noci (18 hodín). Reakcia sa zastavila pozorne pomalým prídavkom vody (50 ml) a zmes sa okyslila 6 mol/l HCl roztokom (20 ml). Po pridaní etylacetátu (800 ml), soľanky (150 ml) a ďalšej vody (150 ml) sa vytvorené dve vrstvy oddelili a organická vrstva sa premyla 5% H_3PO_4 (3x 200 ml). Zmes sa potom vysušila s MgSO_4 , prefiltrovala a skoncentrovala za vákuu, čím sa získal produkt 1b ako olej, ktorý bol použitý v Kroku B bez ďalšieho čistenia.

Krok B



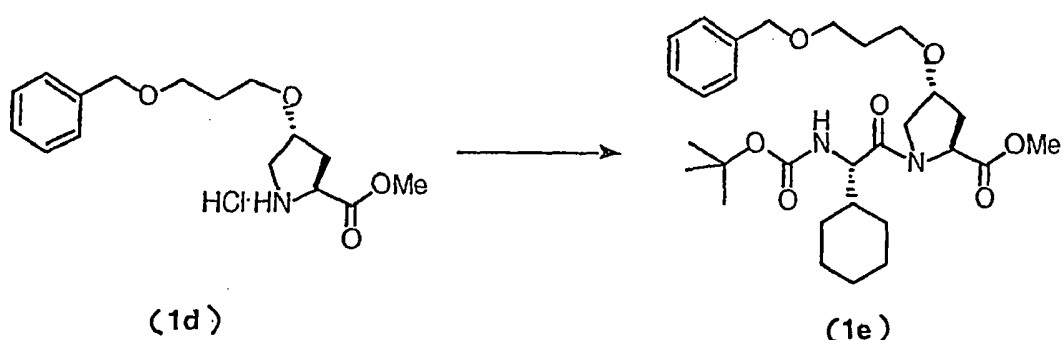
Kyselina 1b z Kroku A sa rozpustila v benzéne (25 ml) a metanole (28 ml). Do tohto roztoku sa pri laboratórnej teplote opatrne pridával roztok trimetylsilyl-diazometánu (27 ml, 2,0 mol/l v cyklohexáne). Po tom, ako sa roztok premiešaval pri laboratórnej teplote počas 1 hodiny, sa skoncentroval vo vákuu, čím sa získal metylester. Rýchla chromatografia (8 až 20 % EtOAc- CH_2Cl_2) poskytla produkt 1c (5,15 g; 13,1 mmol, 43 %, 2 kroky) ako olej.

Krok C



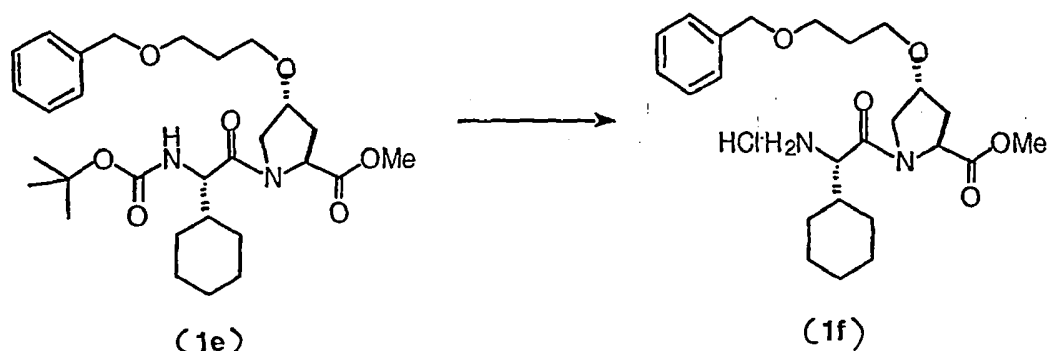
Boc-aminometylester 1c (5,83 g, 14,8 mmol) sa rozpustil v 4 mol/l HCl v dioxáne (80 ml, 320 mmol) a výsledný roztok sa premiešaval pri laboratórnej teplote. Postup reakcie bol monitorovaný pomocou TLC. Po 5 hodinách sa roztok skoncentroval za vákua a zvyšok sa udržiaval pod vákuom počas noci, čím sa získala biela tuhá látka, ktorá bola použitá v nasledujúcej kopulačnej reakcii bez ďalšieho čistenia.

Krok D



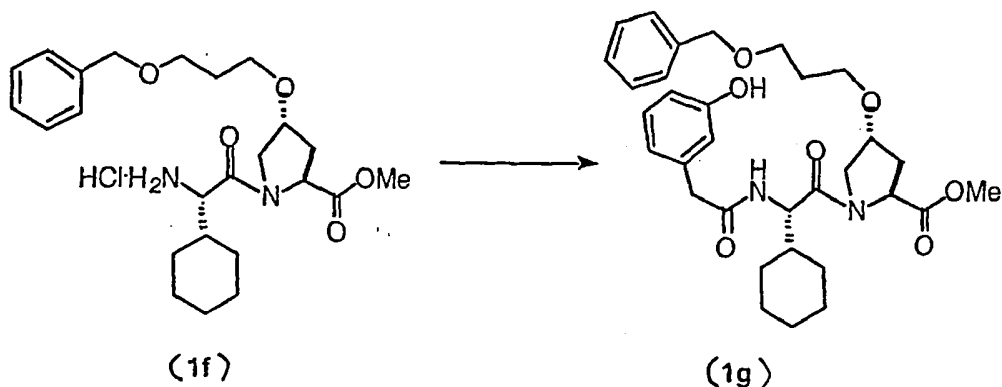
Do roztoku aminového esteru 1d (z Kroku 1B), *N*-Boc-cyklohexylglycínu (4,10 g, 14,9 mmol), HOObt (2,60 g, 15,9 mmol) a EDCI (3,41 g, 17,8 mmol) v bezvodom DMF (150 ml) a CH₂Cl₂ pri -20 °C, sa pridával NMM (6,50 ml, 59,1 mmol). Po tom, ako sa zmes premiešavala pri tejto teplote 30 minút, sa reakčná zmes udržiavala v mrazničke počas noci (18 hodín). Potom sa premiešavala na vzduchu a ponechala sa zahriať na laboratórnu teplotu počas 1 hodiny. Pridal sa EtOAc (450 ml), soľanka (100 ml) a 5% H₃PO₄ (100 ml). Oddelený organický roztok sa premyl 5% H₃PO₄ (100 ml), nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (2x 150 ml), vodou (150 ml) a soľankou (150 ml), vysušil sa síranom horečnatým, prefiltroval a skoncentroval sa za vákua. Rýchla chromatografia (10 až 20% EtOAc-CH₂Cl₂) poskytla produkt 1e (6,60 g, 84 % 2 kroky) ako bielu tuhú látku. ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 7,36 - 7,25 (m, 5H), 6,87 (d, J = 8,9 Hz, 1H), 4,46 - 4,40 (m, 2 H), 4,25 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 4,11 (s, 1H), 4,05 - 4,04 (m, 1H), 4,03 - 3,94 (m, 1H), 3,60 (s, 3H), 3,50 - 3,41 (m, 4 H), 2,25 - 2,20 (m, 1H), 1,95 - 1,88 (m, 1H), 1,77 - 1,55 (m, 9H), 1,35 (s, 9H), 1,19 - 0,90 (m, 4H); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172,0, 170,7, 155,6, 138,8, 128,2, 127,4, 127,3, 78,0, 77,1, 71,9, 66,6, 65,1, 57,4, 56,3, 51,8, 34,5, 29,6, 28,6, 28,2, 25,9, 25,6, 25,5.

Krok E



Boc-aminometyléster 1e (6,53 g, 12,3 mmol) sa rozpustil v 4 mol/l HCl (60 ml, 240 mmol) a výsledný roztok sa premiešaval pri laboratórnej teplote. Postup reakcia bol monitorovaný pomocou TLC. Po 4 hodinách sa roztok skoncentroval za vákua a zvyšok sa udržiaval pod vákuom počas noci, čím sa získala biela tuhá látka, ktorá bola použitá v nasledujúcej kopulačnej reakcii bez ďalšieho čistenia. ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 7,36 - 7,27 (m, 5H), 4,43 (s, 2H), 4,35 - 4,31 (m, 1H), 3,88 (d, J = 11,7Hz, 1H), 3,62 (s, 3H), 3,62 - 3,57 (m, 2H), 3,53 - 3,41 (m, 3H), 2,32 - 2,27 (m, 1H), 1,97 - 1,91 (m, 1H), 1,79 - 1,60 (m, 8H), 1,17 - 1,07 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 171,5, 167,4, 138,6, 133,3, 129,1, 128,8, 128,2, 127,4, 77,1, 71,9, 66,5, 65,3, 57,8; 54,9, 52,4, 52,0, 34,0, 29,6, 27,7, 27,0, 25,6, 25,5, 25,48; HRMS m/z 433,2702 [vypočítané pre $\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_5$, 433,2702].

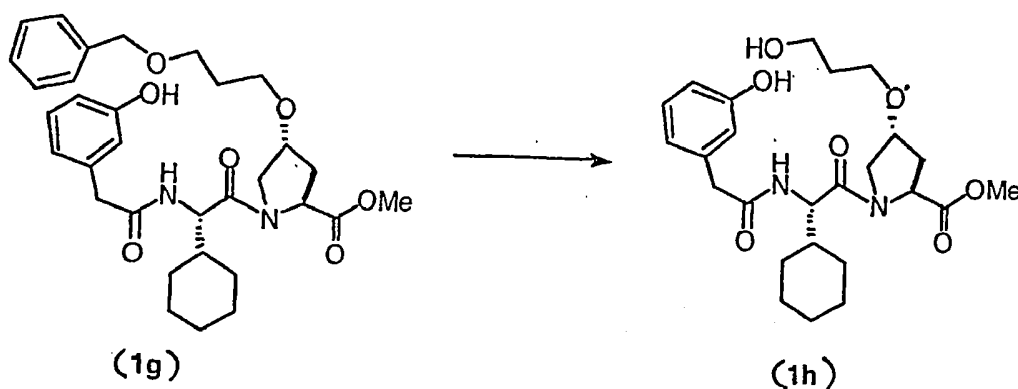
Krok F



Do roztoku amínu 1f (z Kroku 1D), 3-hydroxyfenyloctovej kyseliny (1,90 g, 12,5 mmol), HOBT (2,10 g, 12,9 mmol) a EDCI (2,85 g, 14,9 mmol) v bezvodom DMF (250 ml) a CH_2Cl_2 (100 ml) pri $-20\text{ }^\circ\text{C}$, sa pridával NMM (4,20 ml, 38,2 mmol). Po tom, ako sa zmes premiešavala pri tejto teplote 30 minút, sa reakčná zmes

udržiavala v mrazničke počas noci (18 hodín). Zmes sa potom premiešavala na vzduchu a ponechala sa zahriať na laboratórnu teplotu počas 1 hodiny. Pridali sa EtOAc (500 ml), soľanka (100 ml) a 5% H_3PO_4 (100 ml). Oddelený organický roztok sa premyl 5% H_3PO_4 (100 ml), nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (2x 150 ml), vodou (150 ml) a soľankou (150 ml), vysušil sa síranom horečnatým, prefiltraval a skoncentroval sa za vákua. Rýchla chromatografia (10 až 20% EtOAc/ CH_2Cl_2) poskytla produkt 1g (6,30 g, 11,1 mmol, 90 % (2 kroky)) ako bielu tuhú látku. ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 9,26 (s, 1H), 8,19 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,36 - 7,25 (m, 5H), 7,05 - 7,01 (m, 1H), 6,66 - 6,64 (m, 1H), 6,60 - 6,57 (m, 1H), 4,46 - 4,39 (m, 2H), 4,34 (t, J = 8,3 Hz, 1H), 4,29 - 4,25 (m, 1H), 4,09 - 4,08 (m, 1H), 3,91 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 3,66 - 3,58 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 3,50 - 3,39 (m, 5H), 3,30 (d, J = 13,7 Hz, 1H), 2,24 - 2,18 (m, 1H), 1,95 - 1,89 (m, 1H), 1,74 - 1,57 (m, 8H), 1,18 - 0,89 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 172,0, 170,3, 170,0, 157,1, 138,6, 137,6, 125,9, 128,2, 127,4, 127,3, 119,6, 116,1, 113,2, 76,9, 71,8, 66,6, 65,2, 57,4, 54,7, 51,9, 51,8, 41,8, 34,4, 29,6, 28,5, 28,0, 25,5, 25,5; HRMS m/z 567,3073 [vypočítané pre $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_7$, 567,3070].

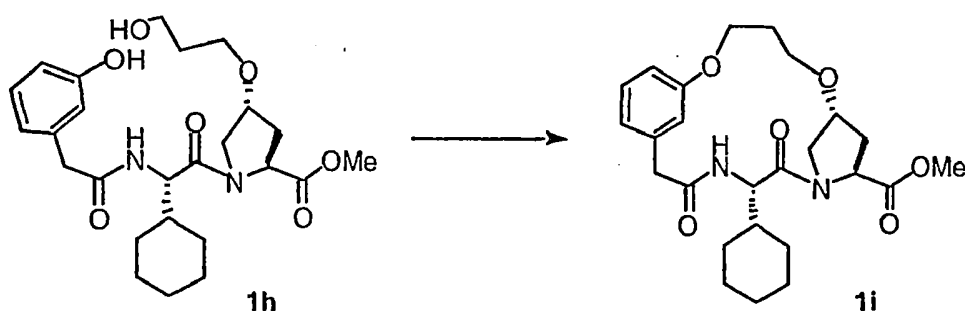
Krok G



Do roztoku benzyléteru 1g (6,23 g, 11,0 mmol) v etanole (200 ml) pod dusíkom pri laboratórnej teplote sa pridával opatrne 10% Pd-C (1,5 g). Výsledná suspenzia sa prudko premiešavala pri laboratórnej teplote pod vodíkom 23 hodín. Po opatrnej filtrácii sa roztok skoncentroval za vákua. Rýchla chromatografia (2 až 5% MeOH- CH_2Cl_2) poskytla produkt 1h (4,54 g, 9,52 mmol, 87 %) ako bezfarebný olej. ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 9,26 (s, 1H), 8,22 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,06 - 7,02 (m, 1H), 6,66 - 6,58 (m, 3H), 4,42 - 4,40 (m, 1H), 4,35 - 4,31 (s, 1H), 4,27 (t, J

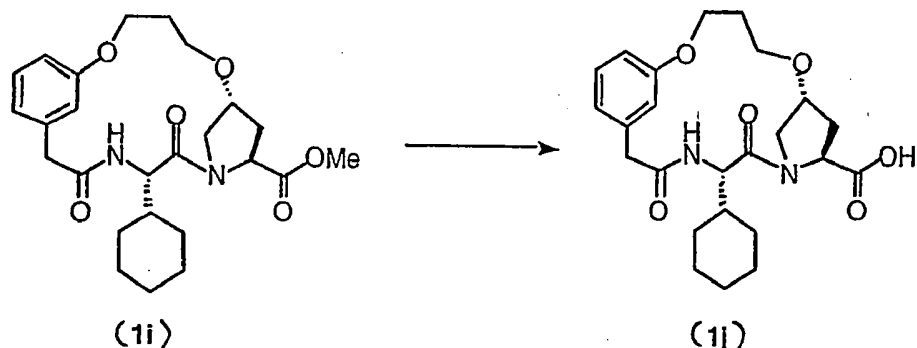
= 8,3 Hz, 1H), 4,10 - 4,09 (m, 1H), 3,92 (d, $J = 11,2$ Hz, 1H), 3,64 (dd, $J = 11,2, 4,3$ Hz, 1H), 3,61 (s, 3H), 3,59 - 3,43 (m, 5H), 3,40 - 3,38 (m, 1H), 2,26 - 2,21 (m, 1H), 1,97 - 1,90 (m, 1H), 1,74 - 1,55 (m, 8H), 1,18 - 0,89 (m, 5H); ^1H NMR (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 172,0, 170,3, 170,1, 157,1, 137,6, 129,0, 119,8, 116,0, 113,3, 76,9, 65,2, 57,6, 57,4, 54,8, 51,9, 51,8, 41,7, 34,4, 32,6, 28,5, 28,0, 25,9, 25,52, 25,49; HRMS m/z 477,2606 [vypočítané pre $\text{C}_{25}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_7$, 477,2601].

Krok H



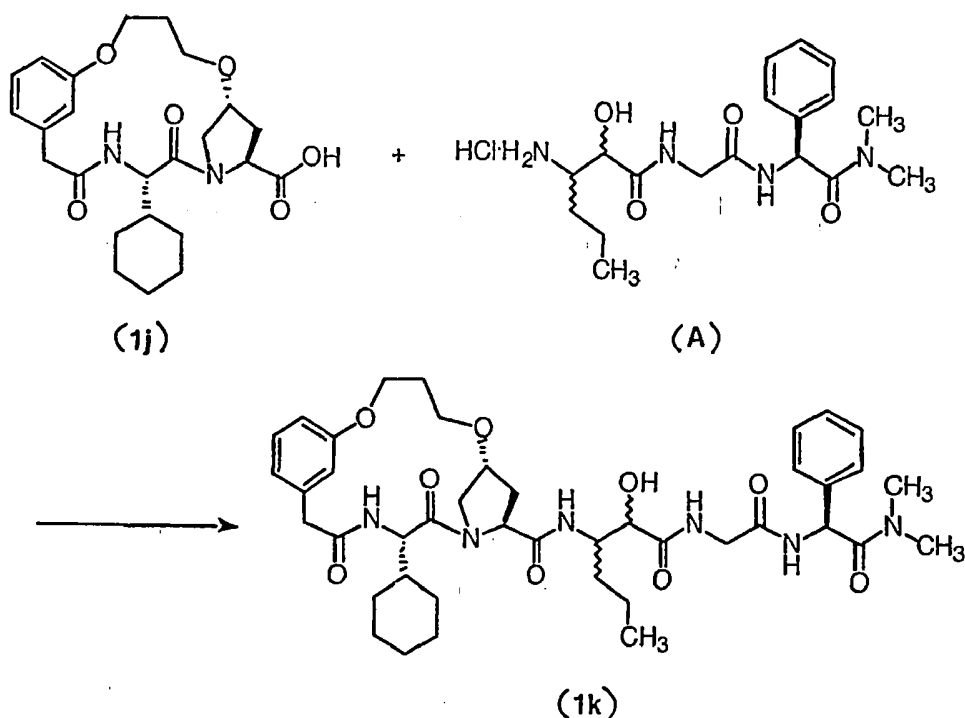
Roztok fenol-alkoholu 1h (4,50 g, 9,43 mmol) a ADDP (6,60 g, 26,2 mmol) v bezvodom CH_2Cl_2 sa prebublával argónom cez premývačku so sklenenou fritou počas 20 minút. Do tohto roztoku pri 0 °C sa pridával trifenyľfosfín (4,10 g, 16,3 mmol). Po premiešavaní pri 0 °C počas 20 minút sa pridal druhý podiel trifenyľfosfínu (3,40 g, 13,5 mmol). Roztok sa potom zahrial na laboratórnu teplotu a premiešaval sa počas noci (24 hodín) pod dusíkom, kým TLC neukázala úplnú spotrebu východiskového materiálu. Po odstránení rozpúšťadla za vákua sa zvyšok čiastočne čistil pomocou rýchlej chromatografie (1 až 2% MeOH v CH_2Cl_2), čím sa získala zmes makrocylu 1i a trifenyľfosfínoxidu. ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,47 (d, $J = 9,7$ Hz; 4H), 7,17 - 7,13 (m, 1H), 6,79 (s, 1H), 6,73 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 6,71 (d, $J = 1,8$ Hz, 1H), 4,50 - 4,45 (m, 1H), 4,24 (dd, $J = 10,3, 7,6$ Hz, 1H), 4,17 - 4,06 (m, 4 H), 8,88 (d, $J = 15,1$ Hz, 1H), 3,63 (s, 3H), 3,60 - 3,51 (m, 2H), 3,37 (d, $J = 15,1$ Hz, 1H), 3,85 - 3,27 (m, 1H), 2,51 - 2,43 (m, 1H), 1,85 - 1,47 (m, 9H), 1,22 - 1,12 (m, 3H), 0,97 - 0,88 (m, 2H); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 172,0, 170,0, 169,8, 158,4, 138,1, 129,1, 121,8, 115,4, 112,2, 77,0, 64,9, 63,6, 57,0, 54,3, 53,4, 51,8, 41,3, 33,2, 28,9, 28,5, 28,2, 26,0, 25,2; HRMS m/z 459,2495 [vypočítané pre $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6$, 459,2495].

Krok I



Vodný roztok hydroxidu lítneho (0,45 g v 30 ml H₂O) sa pridal do 0 °C roztoku metylesteru **1i** v THF (30 ml) a metanole (30 ml). Zmes sa premiešavala v ľadovom kúpeli a zahriala sa na laboratórnu teplotu počas 4 hodín. Postup reakcie bol monitorovaný pomocou TLC. Po tom, ako sa prchavé látky odstránili za vákua, pridal sa EtOAc (150 ml) a voda (30 ml) a oddelili sa dve vrstvy. Vodný roztok sa extrahoval znova s CH₂Cl₂ (150 ml), po čom sa okyslil na pH = 1. Potom sa pridal EtOAc (200 ml) a vodný roztok sa nasýtil tuhým chloridom sodným. Po oddelení vrstiev sa vodná vrstva extrahovala s EtOAc (2x 150 ml). Organické roztoky sa spojili, vysušili síranom horečnatým, prefiltrovali a skoncentrovali za vákua, čím sa získal produkt **1j** (1,45 g, 3,26 mmol, 35 %, 2 kroky) ako bledo žltá pena. ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 12,32 (bs, 1H), 8,45 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 7,17 - 7,13 (m, 1H), 6,73 - 6,70 (m, 1H), 6,79 (s, 1H), 6,73 - 6,70 (m, 2H), 4,47 (t, J = 9,7 Hz, 1H), 4,17 - 4,00 (m, 5H), 3,68 (d, J = 15,1 Hz, 1H), 3,58 - 3,45 (m, 2H), 3,39 - 3,21 (m, 2H), 2,47 - 2,41 (dd, J = 13,4, 7,6 Hz, 1H), 1,85 - 1,56 (m, 9H), 1,19 - 1,11 (m, 3H), 0,93 - 0,87 (m, 2H); ¹H NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 173,2, 170,2, 170,0, 158,4, 138,1, 129,3, 122,0, 115,5, 112,2, 77,3, 65,12 63,8, 57,3, 54,2, 53,7, 41,6, 38,6, 29,0, 28,6, 28,4, 26,1, 25,4; HRMS *m/z* 445,2335 [vypočítané pre C₂₄H₃₂N₂O₆, 445,2339].

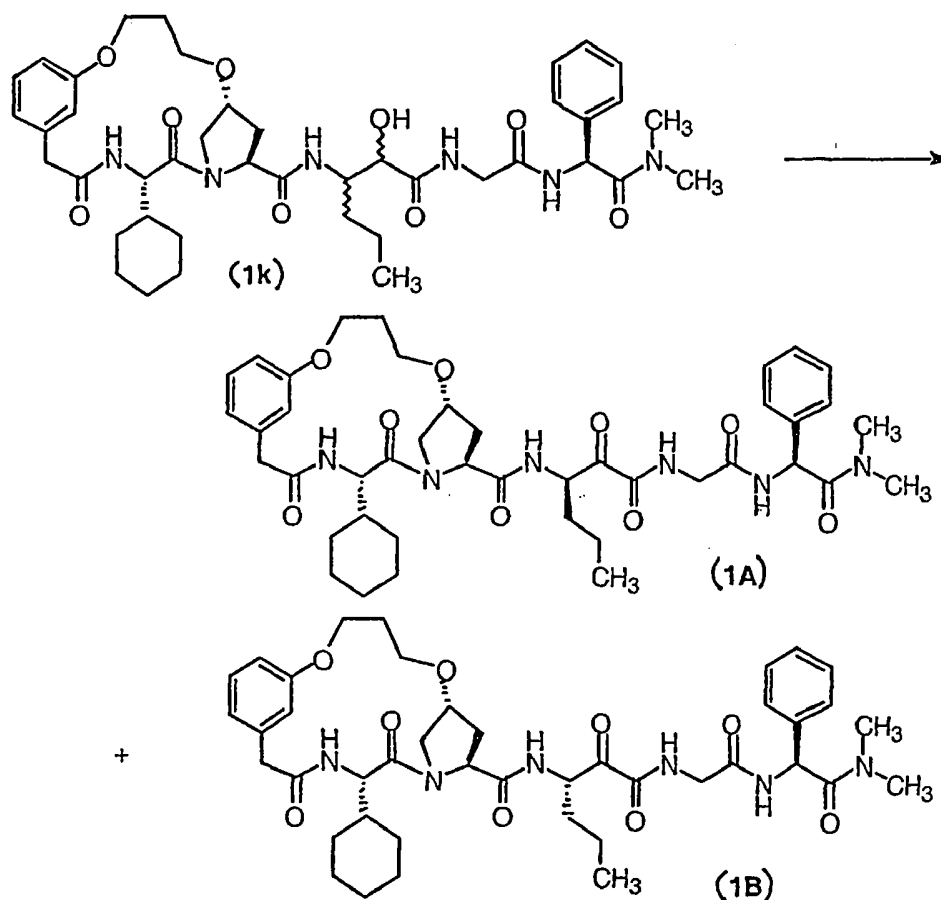
Krok J



Do roztoku kyseliny 1j (0,59 g, 1,33 mmol), amínu A ($\text{H}_2\text{N-NVa-CH(OH)-CO-Gly-Phg-NMe}_2$, 0,55 g, 1,37 mmol), HOObt (250 mg, 1,53 mmol) a EDCI (315 mg, 1,64 mmol) v bezvodom DMF (50 ml) a CH_2Cl_2 (50 ml) pri -20°C sa pridával NMM (0,50 ml, 4,55 mmol). Po premiešavaní pri tejto teplote počas 30 minút sa reakčná zmes udržiavala v mrazničke počas 40 hodín. Potom sa pridali EtOAc (200 ml), soľanka (50 ml) a 5% H_3PO_4 (50 ml). Oddelený organický roztok sa premyl postupne 5% H_3PO_4 (80 ml), nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (2x 80 ml), vodou (80 ml) a soľankou (80 ml), vysušil sa síranom horečnatým, prefiltroval sa a skoncentroval za vákua. Rýchla chromatografia (4 až 7,5% $\text{MeOH-CH}_2\text{Cl}_2$) poskytla produkt 1k ako zmes štyroch diastereomérov (0,59 g, 0,75 mmol, 56 %) ako bielu tuhú látku. ^1H NMR (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 8,54 - 8,35 (m, 2H), 7,95 - 6,98 (m, 8H), 6,79 - 6,77 (m, 1H), 6,72 - 6,70 (m, 2H), 5,96 - 5,73 (m, 2H), 4,53 - 4,45 (m, 1H), 4,35 - 3,61 (m, 11H), 3,54 - 3,41 (m, 1H), 3,40 - 3,22 (m, 1H), 2,93 - 2,92 (m, 3H), 2,84 (s, 3H), 2,42 - 2,17 (m, 1H), 1,87 - 1,55 (m, 10H), 1,49 - 1,06 (m, 7H), 0,98 - 0,75 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 172,1, 171,9, 171,8, 170,8, 170,7, 170,4, 170,4, 170,3, 170,0, 169,8, 169,7, 169,6, 169,2, 169,2, 167,9, 167,8, 167,8, 158,4, 158,3, 138,2, 138,15, 138,11, 138,07, 137,6, 137,50, 137,48, 129,1, 128,5, 128,3, 127,8, 127,7, 121,7, 121,6, 115,4, 115,3, 112,09, 112,07, 112,0, 111,9, 76,9, 76,8, 73,3, 72,1, 71,9, 64,9, 64,8, 63,2, 58,7.

58,5, 57,9, 57,8, 54,6, 54,5, 54,48, 53,8, 53,78, 53,7, 53,66, 53,0, 52,9, 51,0, 50,8, 50,7, 41,6, 41,5, 41,4, 41,3, 36,6, 35,3, 33,9, 33,86, 33,5, 32,9, 32,1, 29,9, 29,0, 28,9, 28,5, 28,4, 28,3, 26,0, 25,9, 25,3, 25,25, 25,2, 18,6, 18,56, 18,5, 13,8, 13,7; HRMS m/z 791,4339 [vypočítané pre $C_{42}H_{58}N_6O_9$, 791,4344, chyba 1 ppm].

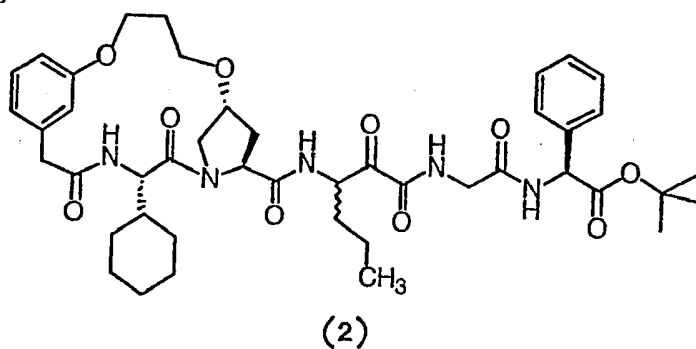
Krok K



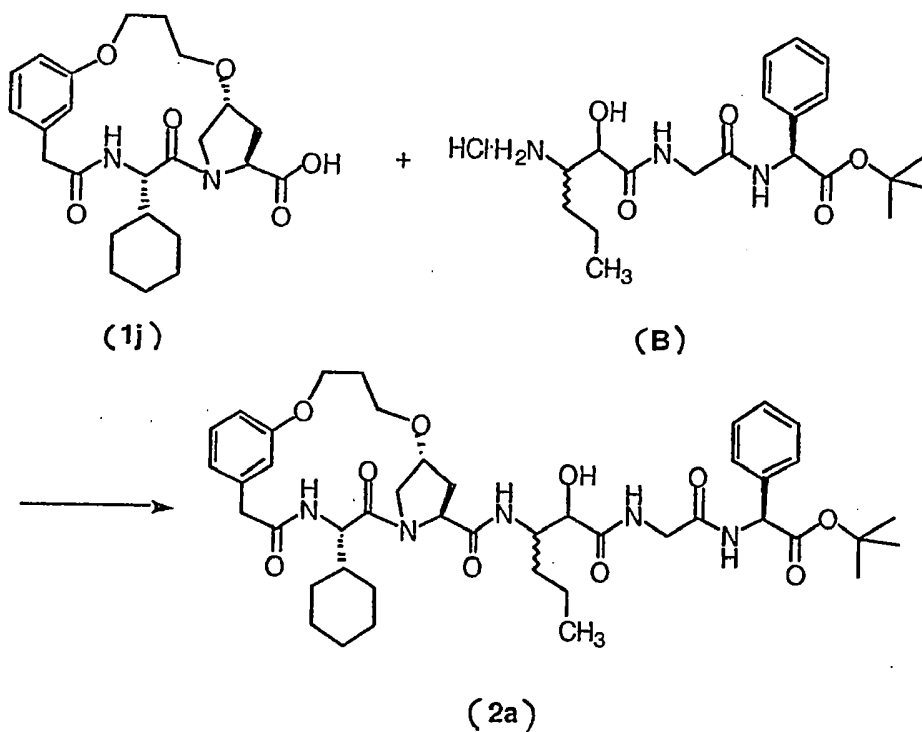
Do zmesi hydroxyamidu 1k (0,579, 0,72 mmol) a Dess-Martinovho činidla (0,76 g, 1,8 mmol) pri 0 °C sa pridával bezvodý CH_2Cl_2 . Výsledná biela suspenzia sa prudko premiešavala pri 0 °C a zahriala sa na laboratórnu teplotu s ľadovým kúpeľom počas 4 hodín. Pridal sa nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného a roztok hydrogensiričitanu sodného (po 50 ml) a zmes sa prudko premiešavala počas 10 minút pred tým, ako sa vrstvy oddelili. Vodný roztok sa extrahoval s (2x 150 ml). Spojené organické roztoky sa vysušili síranom horečnatým, prefiltrovali a skoncentrovali sa za vákua. Rýchla chromatografia (2 až 4 % MeOH- CH_2Cl_2) poskytla dva diastereoméry 1A (250 mg, 0,32 mmol) a 1B (217 mg, 0,28 mmol, 82% kombinovaný výťažok) ako biele tuhé látky.

Príklad 2

Príprava zlúčeniny 2

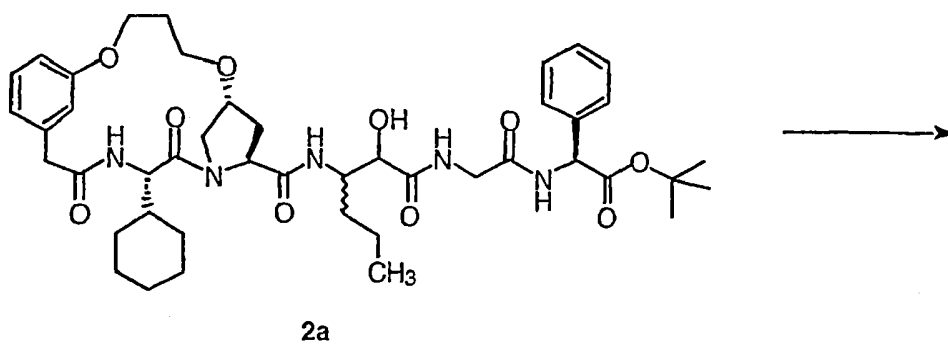


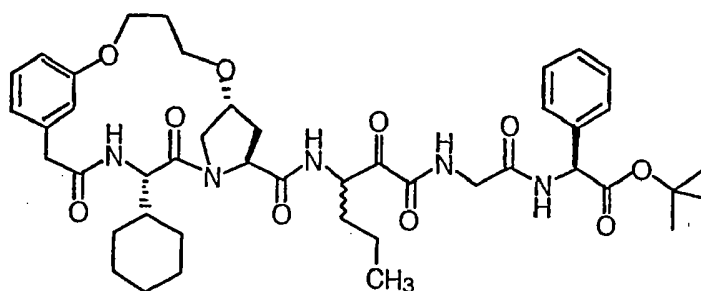
Krok A



Požadovaná zlúčenina 2a sa pripravila podľa spôsobu Príkladu 1 Krok J, s výnimkou nahradenia amínu B za amín A. Hydroxy-amid sa získal ako zmes neoddeliteľných diastereomérov vo forme bielej tuhej látky v 60% výťažku.

Krok B



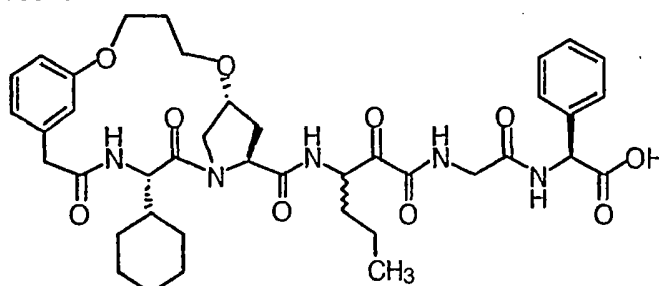


(2)

Požadovaný ketoamid bol pripravený z hydroxyamidu 2a podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok K. Produkt sa získal ako zmes neoddeliteľných diastereomérov vo forme bielej tuhej látky v 78% výťažku. ^1H NMR (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 8,69 - 8,57 (m, 1H), 8,45 - 8,36 (m, 1H), 7,95 - 7,72 (m, 1H), 7,64 - 7,53 (m, 1H), 7,41 - 7,31 (m, 5H), 7,16 - 6,97 (m, 1H), 6,79 - 6,70 (m, 3H), 5,97 - 5,75 (m, 1H), 5,31 - 5,27 (m, 1H), 4,52 - 4,44 (m, 1H), 4,35 - 3,61 (m, 11H), 3,54 - 3,41 (m, 1H), 3,39 - 3,21 (m, 1H), 2,42 - 2,16 (m, 1H), 1,85 - 1,54 (m, 9H), 1,49 - 1,05 (m, 16H), 0,95 - 0,70 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 172,5, 172,2, 172,0, 171,9, 170,9, 170,7, 170,5, 170,5, 170,4, 170,1, 169,9, 169,7, 169,5, 168,6, 168,5, 158,5, 158,4, 138,2, 138,2, 138,1, 136,7, 132,1, 131,6, 131,5, 129,2, 129,1, 128,8, 128,7, 128,1, 127,7, 127,6, 127,6, 127,5, 127,4, 127,4, 121,7, 116,4, 115,4, 115,4, 113,3, 112,1, 112,1, 112,0, 81,3, 77,0, 76,9, 76,9, 73,4, 72,3, 72,0, 64,9, 64,8, 63,3, 58,8, 56,9, 56,8, 54,7, 54,6, 54,6, 53,9, 53,9, 53,8, 51,1, 50,8, 41,6, 41,4, 41,3, 34,0, 33,9, 29,1, 29,0, 28,6, 28,5, 28,4, 28,4, 28,3, 27,5, 26,0, 28,0, 25A, 25,3, 25,2, 18,7, 18,6, 18,5, 13,9, 13,8; HRMS m/z 820,4493 [vypočítané pre $\text{C}_{44}\text{H}_{61}\text{N}_5\text{O}_{10}$, 820,4497].

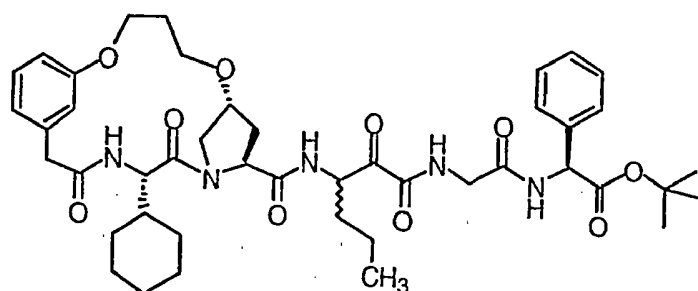
Príklad 3

Príprava zlúčeniny vzorca 3

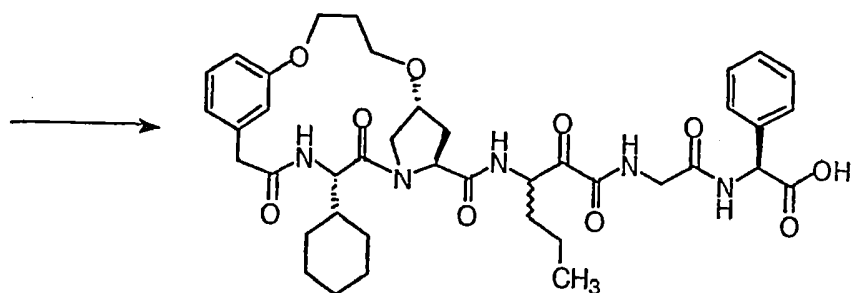


(3)

Krok A



(2)

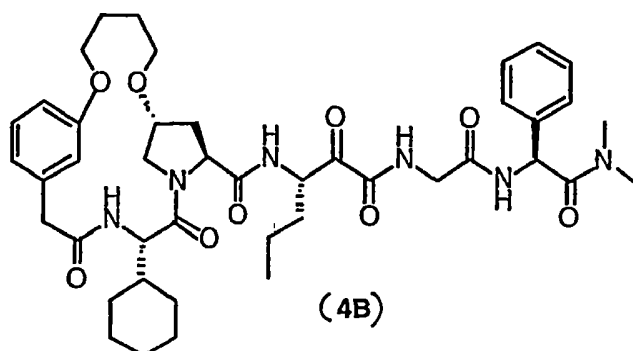
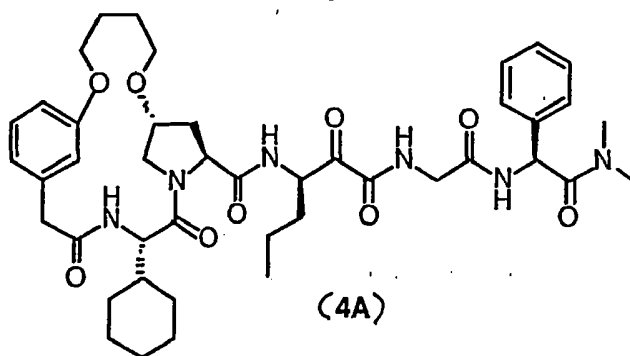


(3)

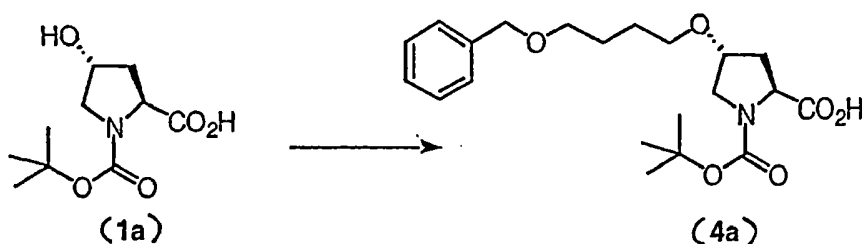
Roztok *tert*-butylesteru 2 (26 mg, 0,032 mmol) v trifluóroctovej kyseline (2 ml) a CH_2Cl_2 (2 ml) sa premiešaval pri laboratórnej teplote počas 3 hodín. Po tom, ako sa prchavé látky odstránili za vákua sa zvyšok rozpustil v zmesi 50% MeOH- CH_2Cl_2 , a skoncentroval sa do sucha za vákua, čím získala špinavo biela tuhá látka (24 mg, 0,082 mmol, kvantitatívne). ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,73 - 8,65 (m, 2H), 8,40 (dd, J = 9,5, 2,6 Hz, 1H), 8,24 - 8,05 (1H), 7,64 - 7,55 (m, 1H), 7,41 - 7,32 (m, 5H), 7,15 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 6,80 - 6,71 (m, 3H), 5,35 (dd, J = 7,5, 1,9 Hz, 1H), 5,04 - 4,90 (m, 1H), 4,48 - 4,43 (m, 1H), 4,37 - 4,22 (m, 1H), 4,16 - 3,27 (m, 11H), 2,35 - 2,31 (m, 1H), 1,84 - 0,70 (m, 21H); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 196,7, 171,7, 171,4, 171,3, 170,0, 169,7, 167,5, 161,0, 160,7, 158,5, 158,5, 158,4, 135,2, 138,2, 137,1, 137,0, 122,1, 132,1, 131,6, 131,5, 131,5, 129,2, 128,8, 128,7, 128,7, 128,6, 128,0, 127,7, 127,5, 127,5, 121,8, 115,4, 112,2, 76,9, 76,8, 65,0, 64,9, 63,4, 63,3, 58,2, 57,4, 55,3, 56,2, 56,2, 54,6, 54,5, 53,8, 53,4, 53,2, 41,5, 41,5, 41,4, 40,2, 33,9, 33,7, 31,9, 31,7, 29,2, 29,0, 28,6, 28,3, 26,1, 25,3, 18,7, 18,6, 13,5; HRMS m/z 762,3705 [vypočítané pre $\text{C}_{40}\text{H}_{51}\text{N}_5\text{O}_{10}$, 762,3714].

Príklad 4

Príprava zlúčeniny vzorca 4A a 4B

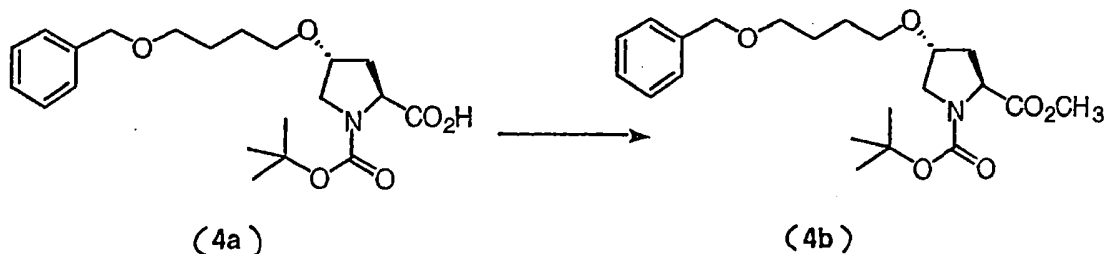


Krok A



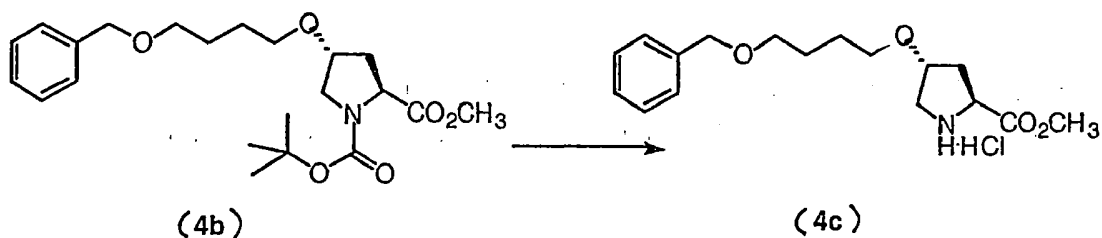
Požadovaný produkt 4a sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok A. Surový materiál sa preniesol do nasledujúceho kroku bez úpravy.

Krok B



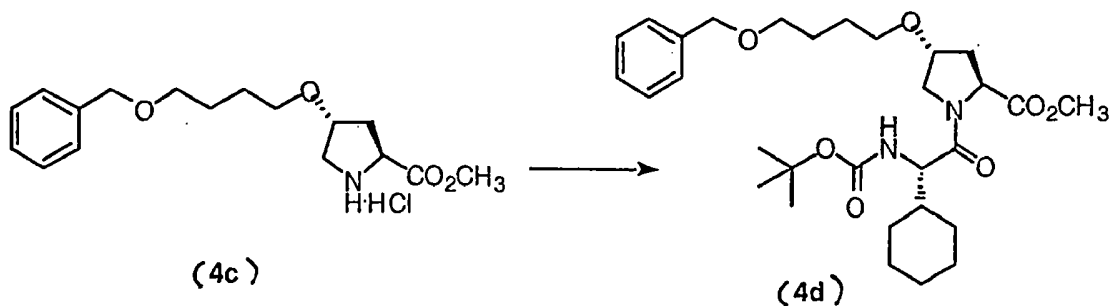
Požadovaný produkt 4b sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok B. Tento materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 80/20 až 75/25 hexán/etylacetát, čím sa získal produkt 4b v 50% výťažku ako bezfarebný olej.

Krok C



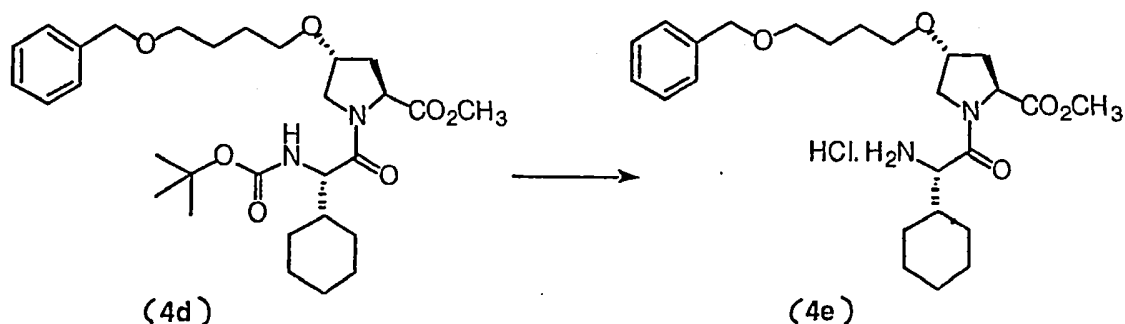
Požadovaná zlúčenina 4c sa pripravila pomocou postupu opísaného v Príklade 19 Krok C. Tento materiál bol prenesený ďalej bez úpravy.

Krok D



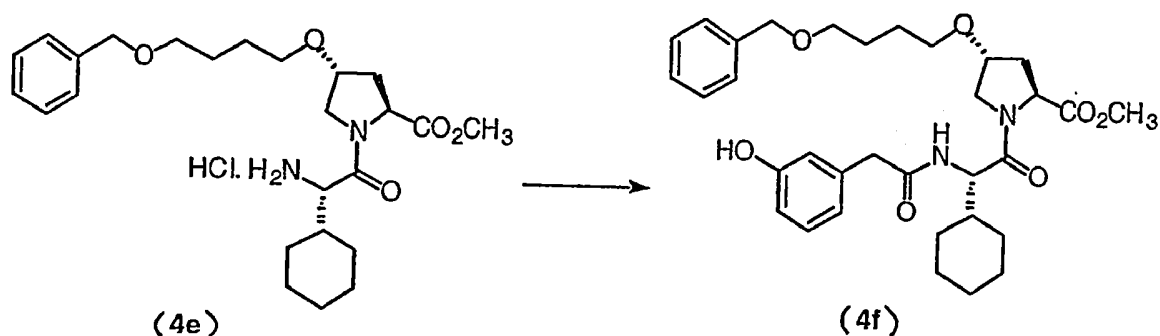
Požadovaný produkt 4d sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok D. Tento materiál po spracovaní bol dostatočne čistý na to, aby sa preniesol do nasledujúceho kroku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{30}H_{47}N_2O_7$: 547,3383 $(M+H)^+$. Nájdené: 547,3372.

Krok E



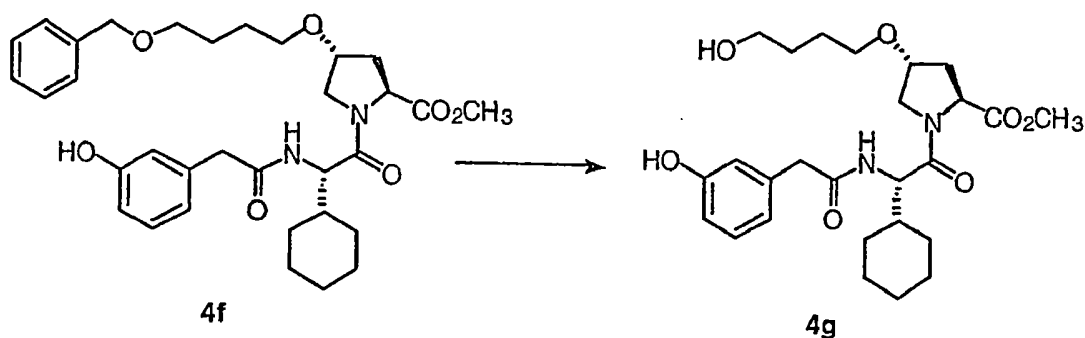
Požadovaný produkt 4e sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok E. Surový materiál sa preniesol do nasledujúceho kroku bez úpravy.

Krok F



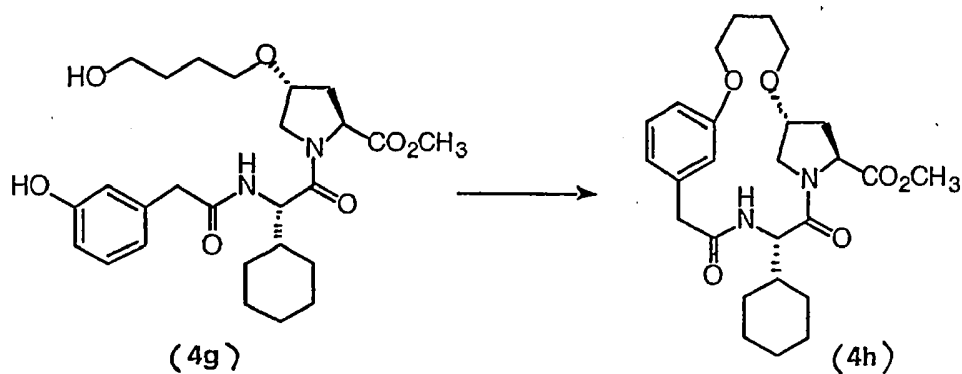
Požadovaný produkt 4f sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok F. Tento materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 80/20 až 80/40 dichlórmétán/etylacetát, čím sa získal produkt 4f v 85% výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre C₃₃H₄₅N₂O₇: 581,3227 (M+H)⁺. Nájdene: 581,3222.

Krok G



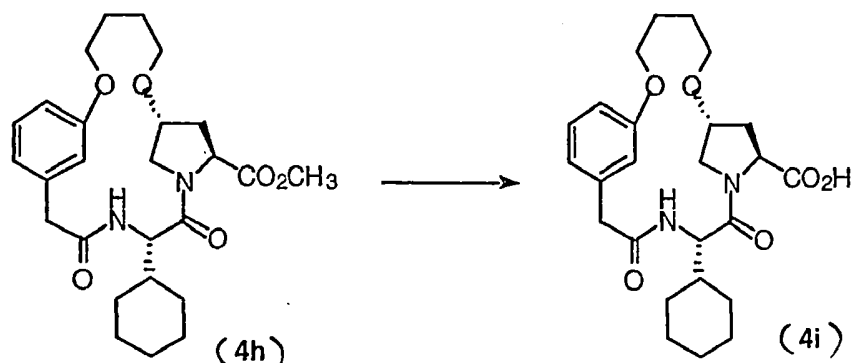
Požadovaný produkt 4g sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok G. Surový materiál sa preniesol do nasledujúceho krok bez úpravy. HRMS (FAB) vypočítané pre C₂₆H₃₉N₂O₇: 491,2757 (M+H)⁺. Nájdene: 491,2761.

Krok H



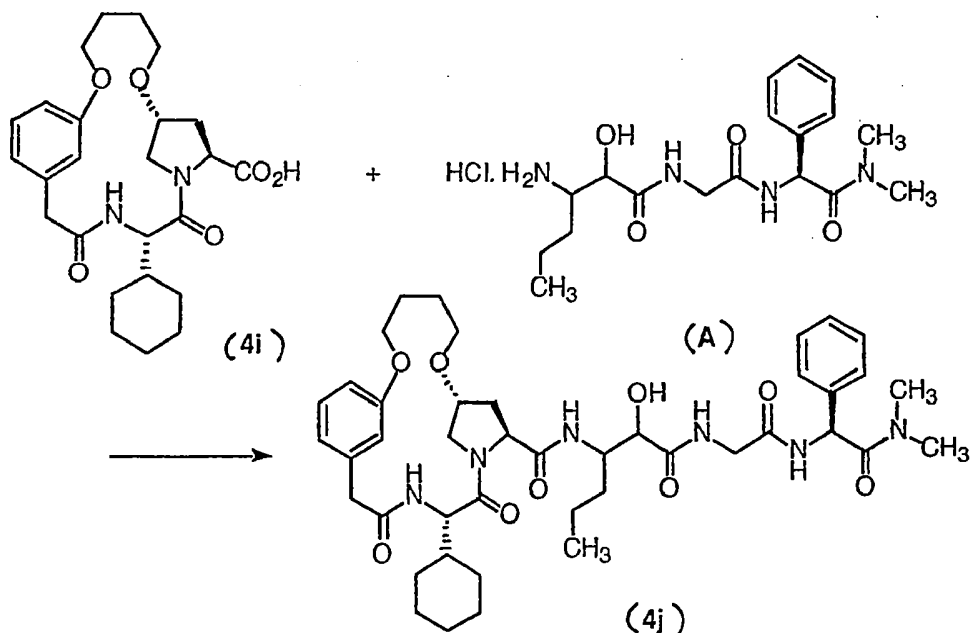
Požadovaný produkt 4h sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok H. Čistenie pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 99/1 dichlórmetán/metanol poskytlo produkt 4h spolu s trifenyľfosfín-oxidom. Táto zmes sa vzala do nasledujúceho kroku.

Krok I



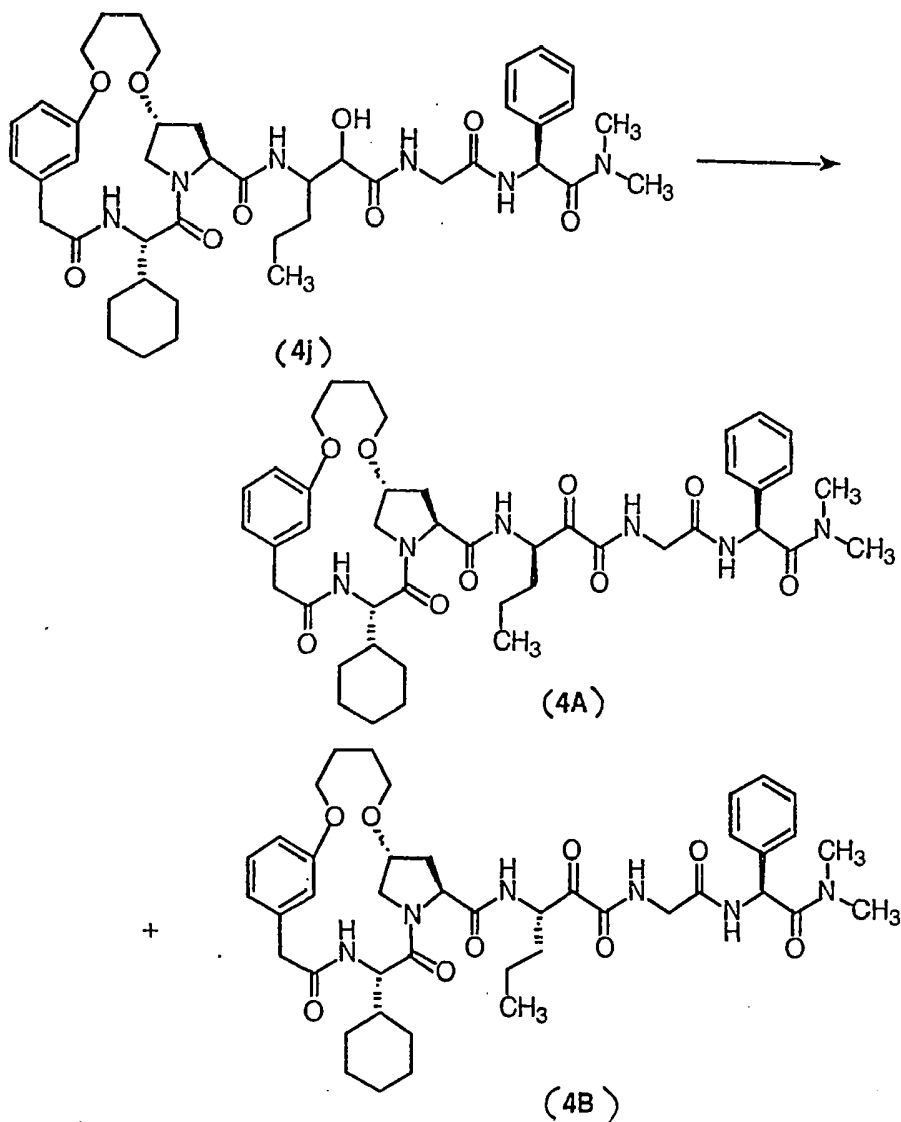
Požadovaný produkt sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok I. Výťažok produktu 4i (pre 2 kroky) = 24 %. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 0,90 - 0,95 (m, 2H), 1,10 - 1,16 (m, 3H), 1,51 - 1,79 (m, 11H), 2,43 (dd, 1H), 3,29 - 3,32 m, 2H), 3,50 - 3,54 (m, 1H), 3,62 - 3,68 (m, 2H), 3,91 - 3,99 (m, 3H), 4,04 - 4,08 (m, 2H), 4,46 (t, 1H), 8,67 - 6,72 (m, 3H), 7,13 (zdanlivý t, 1H), 8,36 (d, 1H), 12,40 (široký s, 1H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ 25,26, 25,31, 25,97, 26,62, 28,42, 33,28, 39,75, 41,49, 53,50, 54,28, 57,45, 67,57, 67,98, 77,25, 111,07, 115,23, 121,48, 129,11, 137,99, 158,33, 170,07, 172,92; HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_6$: 459,2495 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Nájdené: 459,2494.

Krok J



Očakávaný produkt 4j sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 1 Krok J. Tento materiál po spracovaní bol dostatočne čistý na to, aby sa preniesol do nasledujúceho kroku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{43}H_{61}N_6O_9$: 805,4500 ($M+H$)⁺. Nájdene: 805,4492,

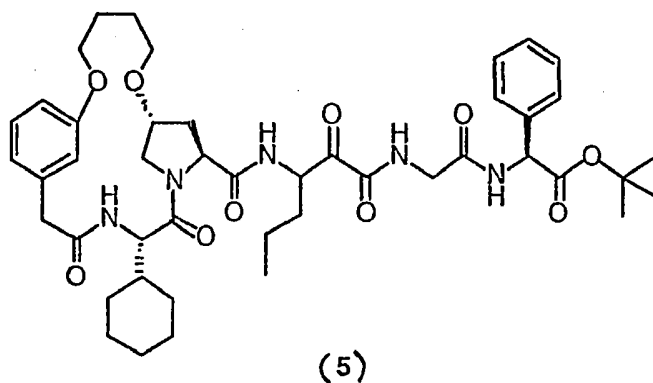
Krok K



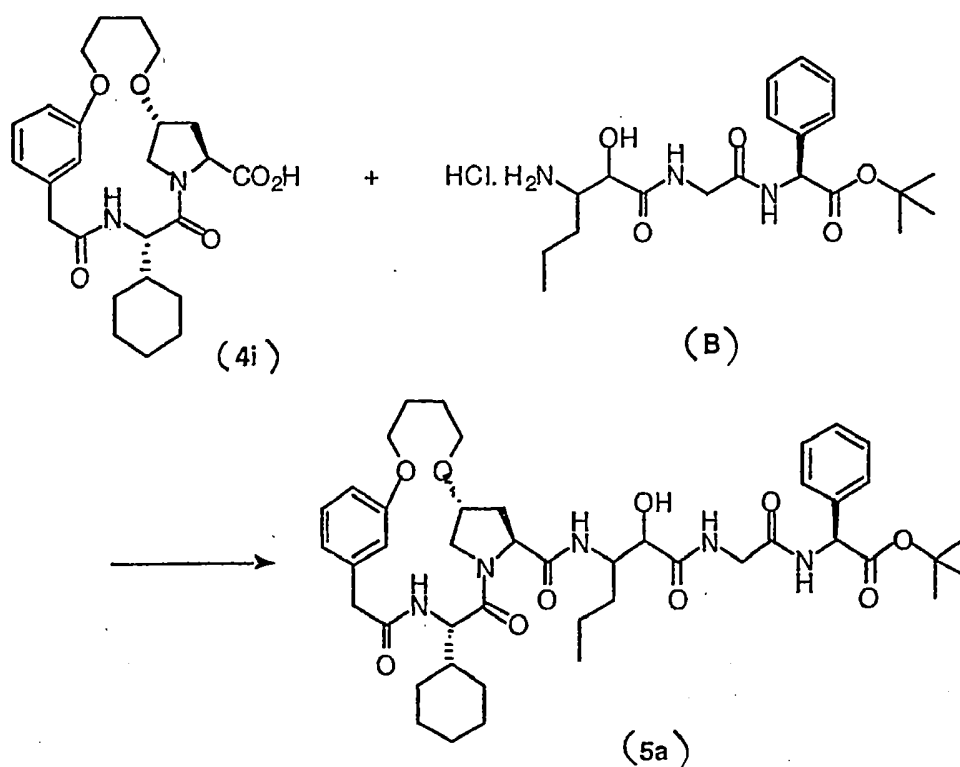
Požadované produkty 4A a 4B sa získali pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím 100/0 až 99/1 dichlórmetán/metanol poskytlo oddelené izoméry 4A a 4B, a ich zmes. Spojený výťažok = 34 % (pre 2 kroky). HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{43}H_{59}N_5O_9$: 803,4344 ($M+H$)⁺. Nájdene: 803,4339 (4A), 808,4347 (4B).

Príklad 5

Príprava Zlúčeniny 5

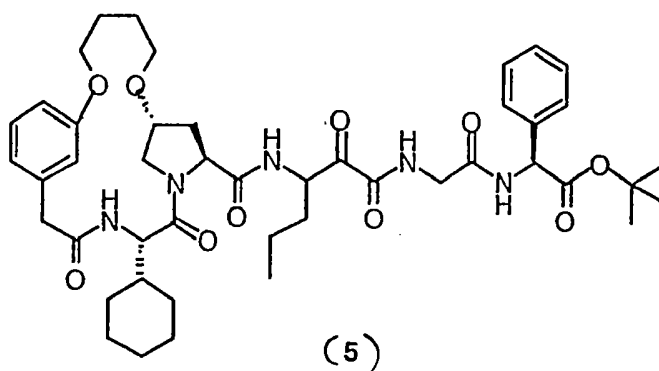
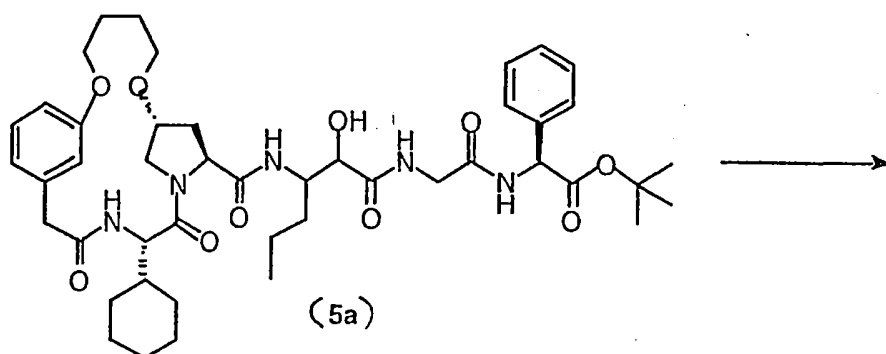


Krok A



Očakávaný produkt 5a sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 2 Krok A. Tento materiál po spracovaní bol dostatočne čistý na to, aby sa preniesol do nasledujúceho kroku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{45}H_{64}N_5O_{10}$: 834,4053 ($M+H$)⁺. Nájdené; 834,44648.

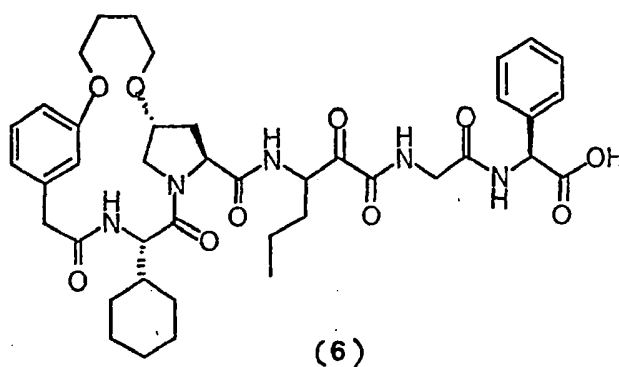
Krok B



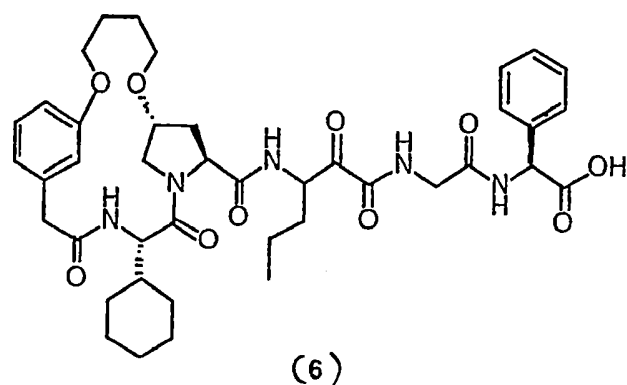
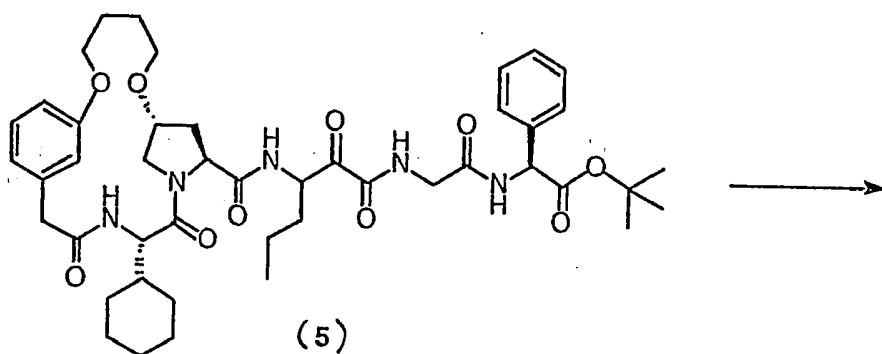
Požadovaný produkt 5 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 99/1 dichlórmetán/metanol poskytlo produkt 5 ako zmes diastereo-
mérov v 31% výťažku (pre 2 kroky). HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{45}H_{62}N_5O_{10}$:
832,4497 ($M+H$)⁺. Nájdené: 832,4497.

Príklad 6

Príprava zlúčeniny 6



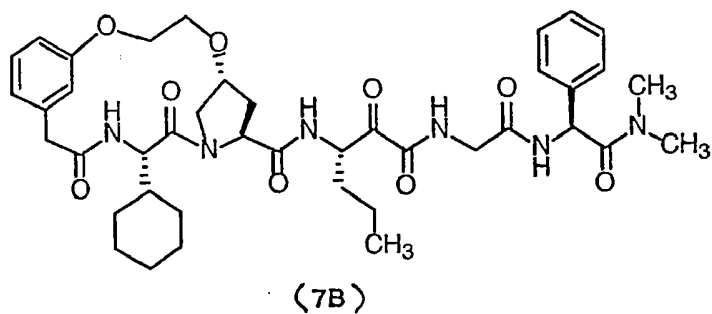
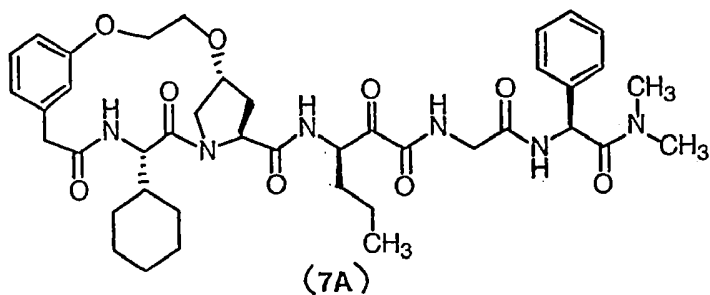
Krok A



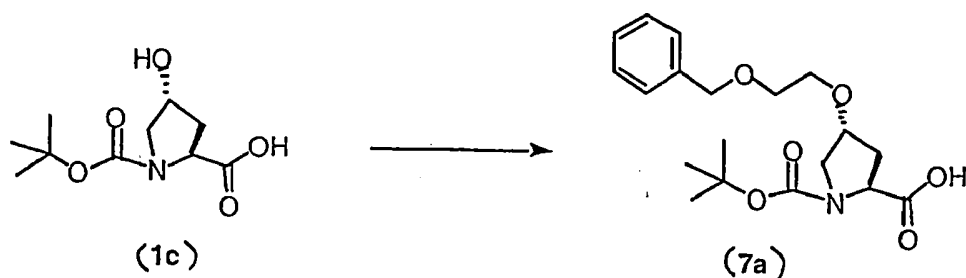
Očakávaný produkt 6 sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 3 Krok A v kvantitatívnom výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{41}H_{54}N_5O_{10}$: 778,3871 (M+H)⁺. Nájdené: 776,3865.

Príklad 7

Príprava zlúčeniny 7A a 7B

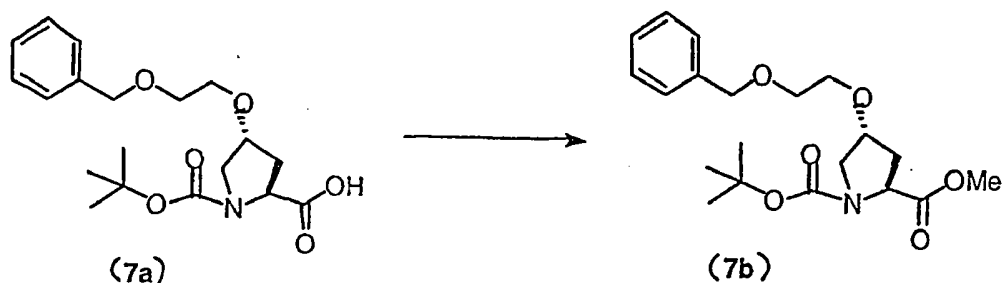


Krok A



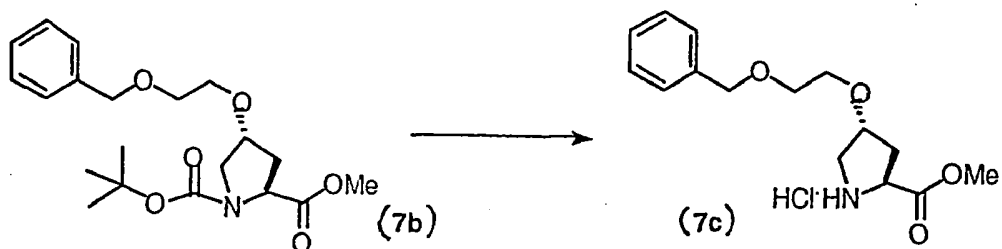
Požadovaná zlúčenina 7a sa pripravila z produktu 1c podľa postupu z Príkladu 1 Krok A. Surový produkt bol použitý v Kroku B bez ďalšieho čistenia.

Krok B



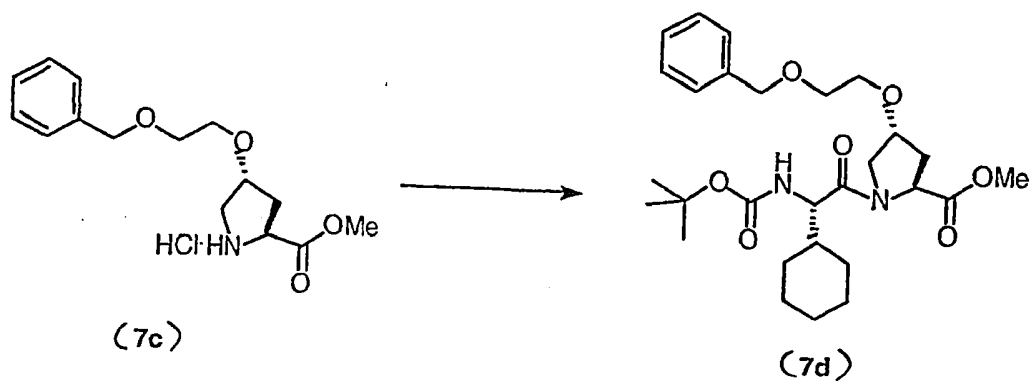
Požadovaná zlúčenina 7b sa pripravila z produktu 7a podľa postupu z Príkladu 1 Krok B.

Krok C



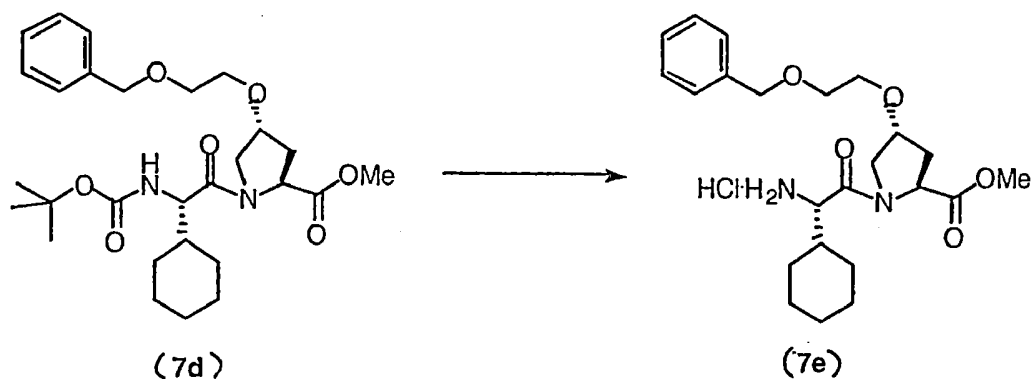
Požadovaná zlúčenina 7c sa pripravila z produktu 7b podľa postupu z Príkladu 1 Krok C. Produkt bol použitý v Kroku D bez ďalšieho čistenia.

Krok D



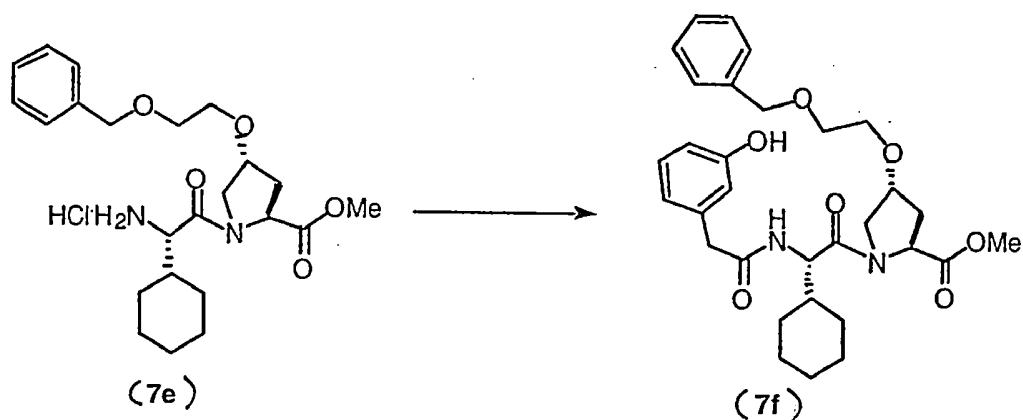
Požadovaná zlúčenina 7d sa pripravila z produktu 7c podľa postupu z Príkladu 1 Krok D.

Krok E



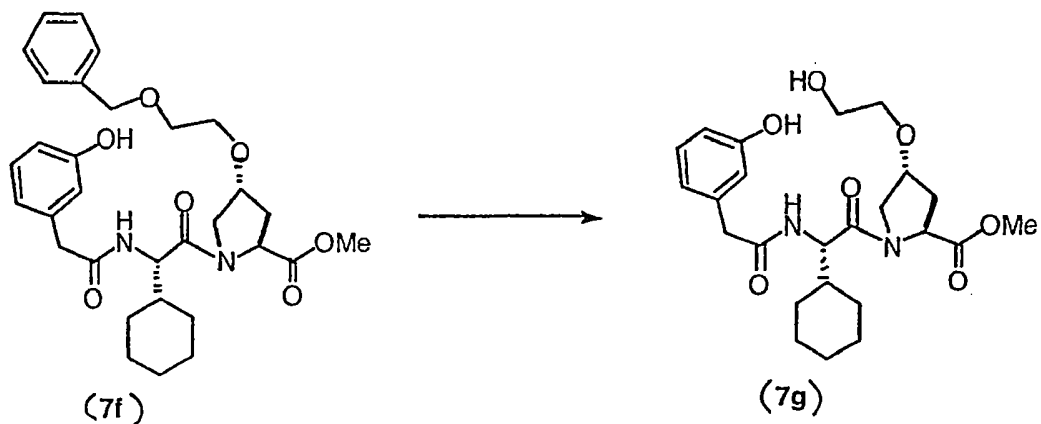
Požadovaná zlúčenina 7e sa pripravila z produktu 7d podľa postupu z Príkladu 1 Krok E. Produkt bol použitý v Kroku F bez ďalšieho čistenia.

Krok F



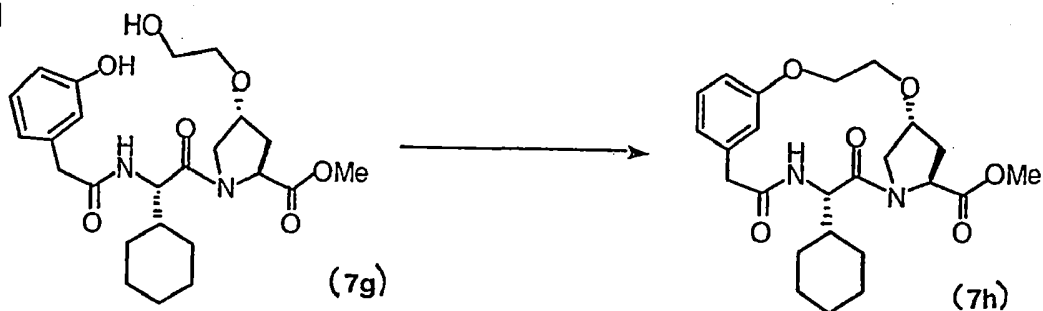
Požadovaná zlúčenina 7f sa pripravila z produktu 7e podľa postupu z Príkladu 1 Krok F.

Krok G



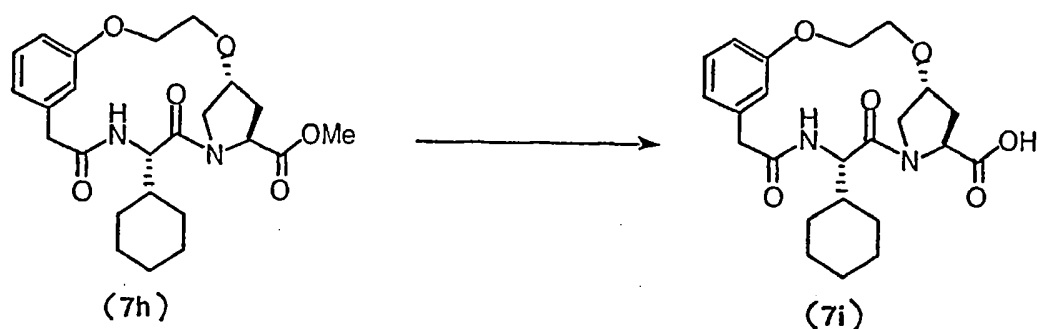
Požadovaná zlúčenina 7g sa pripravila z produktu 7f podľa postupu z Príkladu 15 Krok F.

Krok H



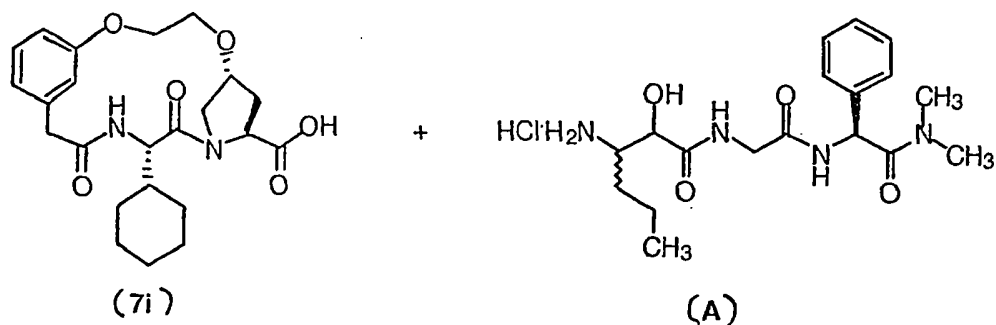
Roztok fenol-alkoholu 7g (830 mg, 1,79 mmol) a ADDP (1,36 g, 5,39 mmol) v bezvodom CH_2Cl_2 (200 ml) sa prebublával argónom cez premývačku so sklenenou fritou počas 20 minút. Do tohto roztoku pri 0 °C sa pridával trifenylyfosfín (1,41 g, 5,38 mmol). Po premiešavaní pri 0 °C počas 20 minút sa roztok zahrial na laboratórnu teplotu a premiešaval počas noci (20 hodín) pod dusíkom. Po odstránení rozpúšťadla za vákua sa zvyšok čistil pomocou rýchlej chromatografie (1 až 3% MeOH v CH_2Cl_2), čím sa získala zmes požadovaného produktu 7h a trifenylyfosfínoxid, ktorý bol použitý v Kroku I bez ďalšieho čistenia.

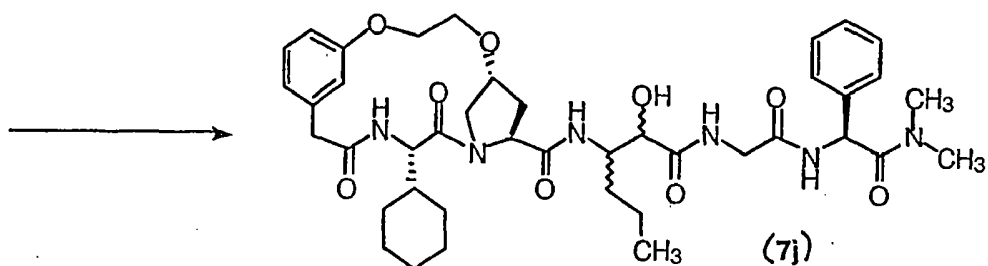
Krok I



Požadovaná zlúčenina 7i sa pripravila z produktu 7h v 36% výťažku (2 kroky) podľa postupu z Príkladu 1 Krok I.

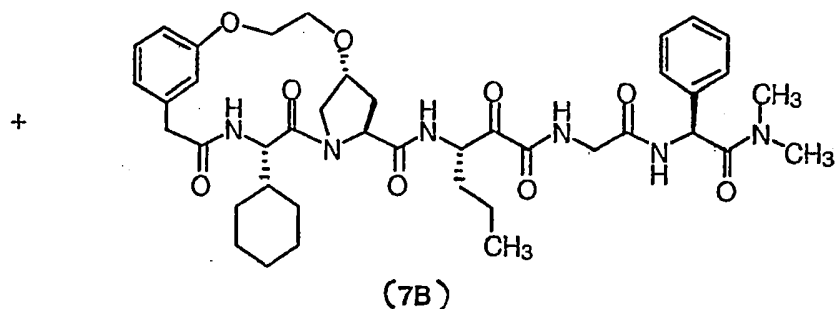
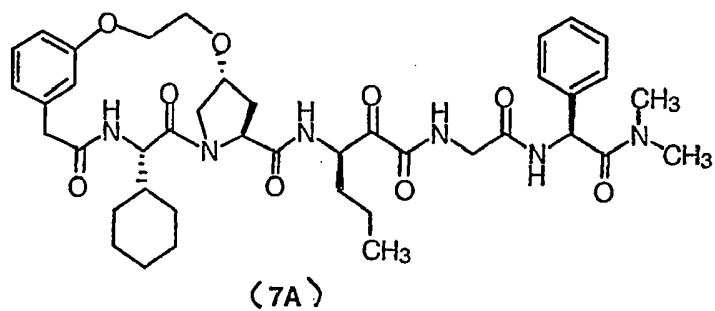
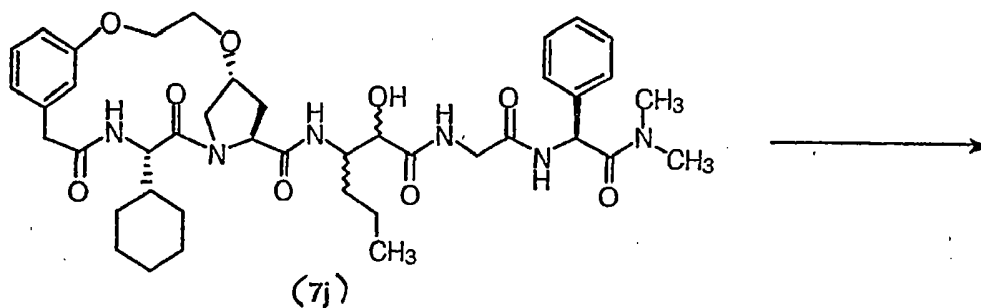
Krok J





Požadovaná zlúčenina 7j sa pripravila z produktu 7i a A v 56% výťažku podľa postupu z Príkladu 1 Krok J.

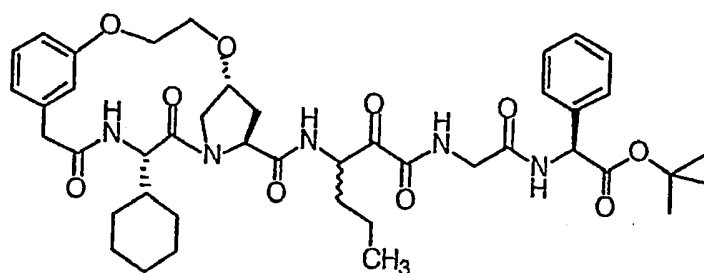
Krok K



Požadovaná zlúčenina 7A a 7B sa pripravila z produktu 7j podľa postupu z Príkladu 1 Krok K.

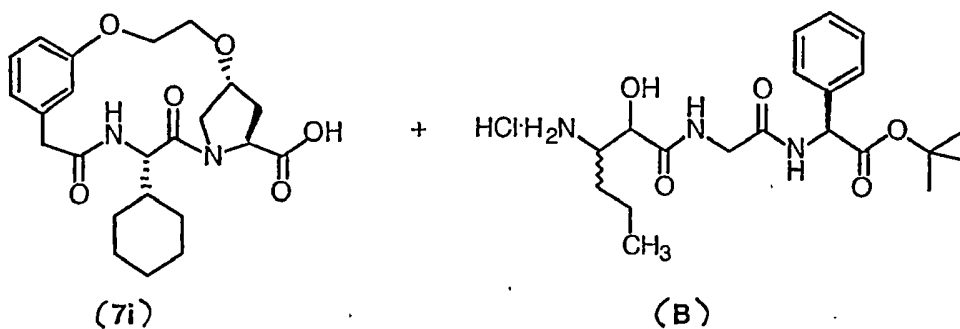
Príklad 8

Príprava zlúčeniny vzorca 8



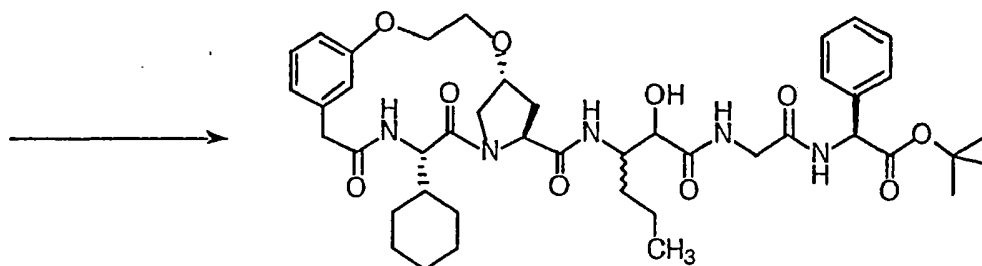
(8)

Krok A



(7i)

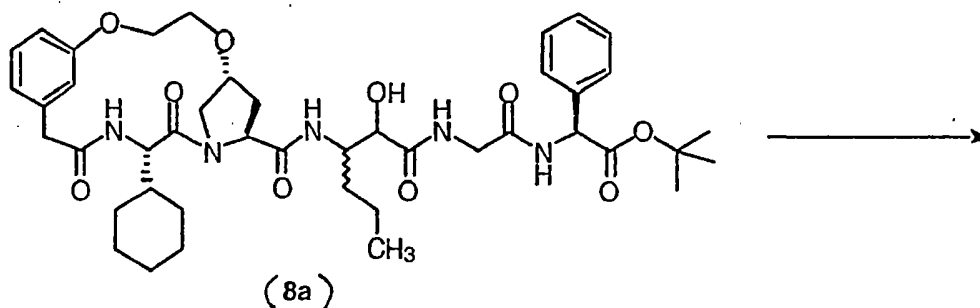
(B)



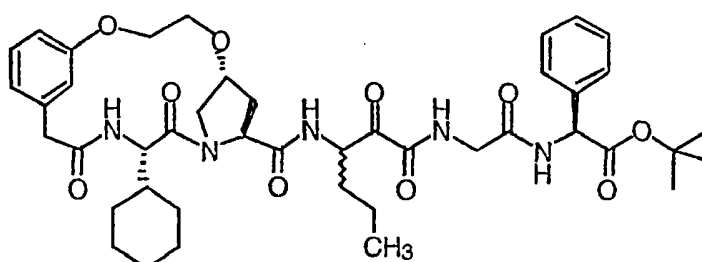
(8a)

Požadovaná zlúčenina 8a sa pripravila podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok J, s výnimkou nahradenia amínu B za amín A. Produkt sa získal ako zmes neoddeliteľných diastereomérov vo forme bielej tuhej látky v 57% výťažku.

Krok B



(8a)

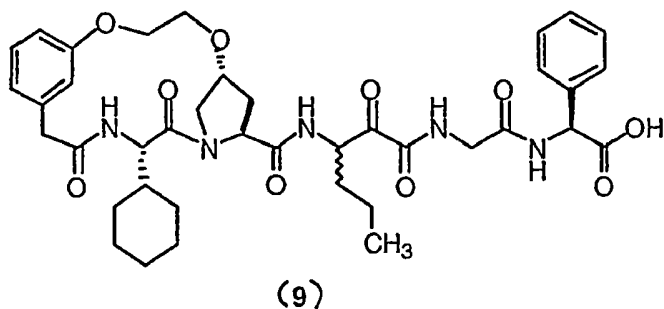


(8)

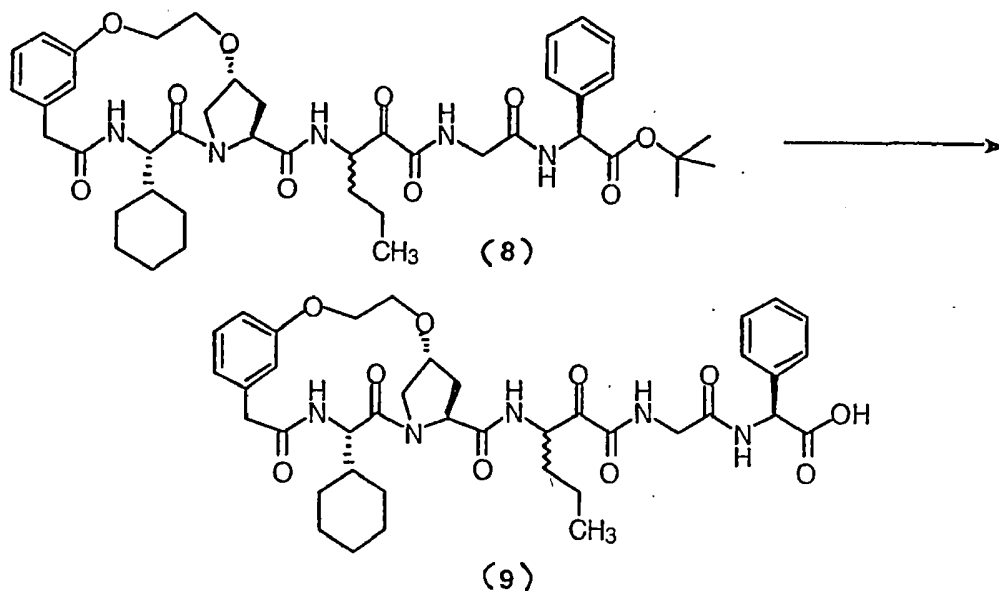
Požadovaná zlúčenina 8 sa pripravila v 72% výťažku z produktu 8a podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok K.

Príklad 9

Príprava zlúčeniny vzorca 9



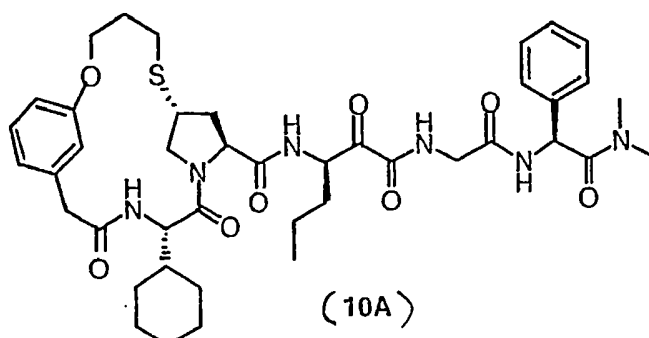
Krok A

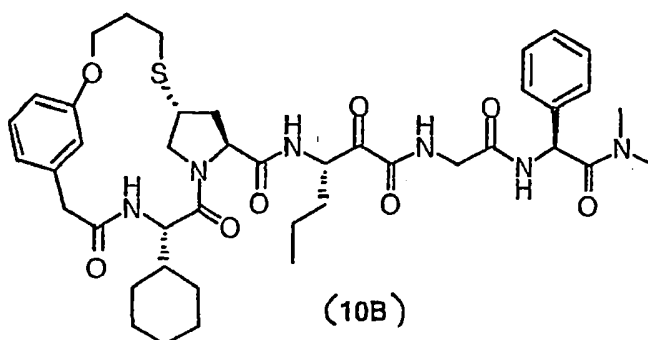


Požadovaná zlúčenina 9 sa pripravila v kvantitatívnom výťažku z produktu 8 podľa spôsobu z Príkladu 3 Krok A.

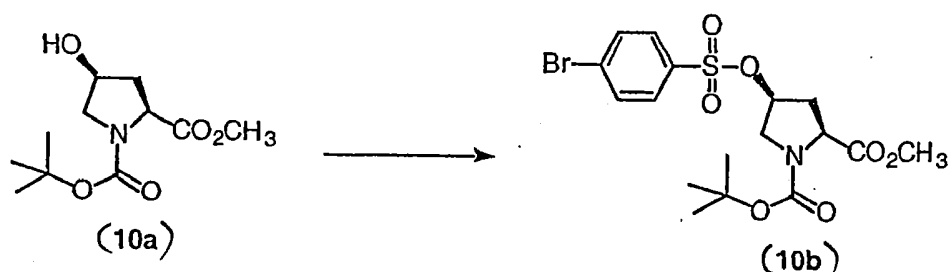
Príklad 10

Príprava zlúčenín vzorca 10A a 10B



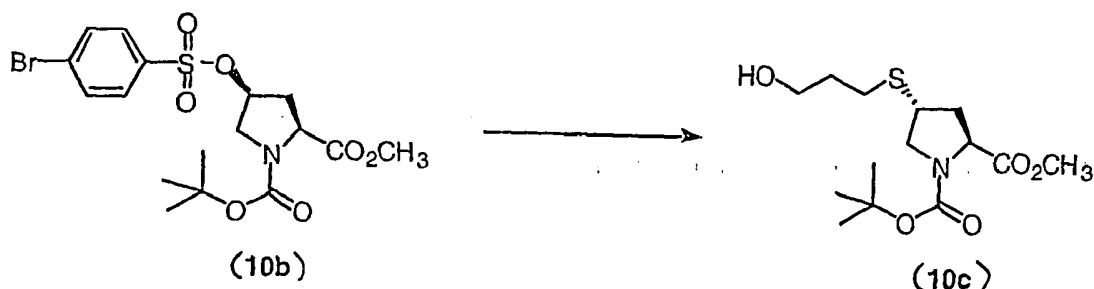


Krok A



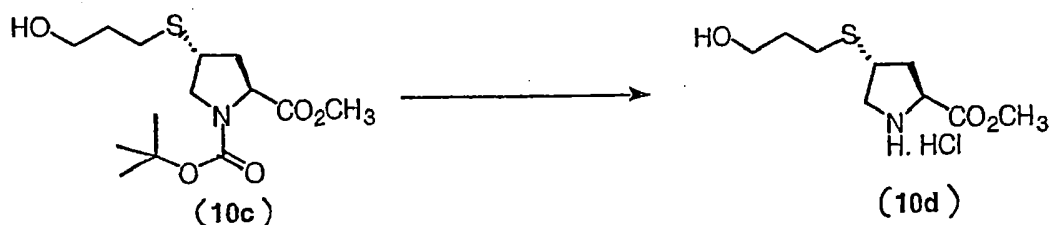
Do 0 °C roztoku 10a (10 g, 41 mmol) v dichlórmetáne (60 ml) sa pomaly pridal trietylamin (28,68 ml, 204 mmol). Potom sa pridal 4-brómbenzénsulfonylchlorid (20,91 g, 82 mmol) a DMAP (niekoľko kryštálov) a teplota sa udržiavala pri 0 °C počas 30 minút. Reakčná zmes sa nechala stáť v chladničke (~5 °C) počas noci, po čom nasleduje pomalé zahriatie na okolitú teplotu počas dvoch hodín. V tomto čase TLC analýza ukázala úplnú spotrebu východiskového materiálu. Reakčná zmes sa zriedila dichlórmetánom, premyla nasýteným roztokom hydrogenuhličitanu sodného a 10% vodným roztokom kyseliny citrónovej. Organická vrstva sa vysušila (Na_2SO_4) a skoncentrovala sa. Surová zmes sa čistila pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 100/0 až 95/5 dichlórmetán/etylacetát, čím sa získalo 18,4 g (97% výťažok) brosylátu 10b ako biela tuhá látka; ^1H NMR (zmes rotamérov, CDCl_3) δ 1,41 a 1,45 (2s, 9H), 2,40 - 2,50 (m, 2H), 3,59 - 3,69 (m, 5H), 4,33 - 4,37 a 4,46 (2dd, 1H), 5,11 (m, 1H), 7,72 - 7,74 (m, 4H); ^{13}C NMR (zmes rotamérov, ODCl_3) δ 28,18, 28,27, 36,01, 36,98, 51,59, 52,03, 52,20, 52,35, 56,95, 57,22, 57,28, 78,35, 79,53, 80,66, 129,10, 129,26, 132,66, 135,66, 135,81, 153,25, 153,64, 171,45, 171,78; HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_7\text{SBr}$: 464,0379 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Nájdené: 464,0375.

Krok B



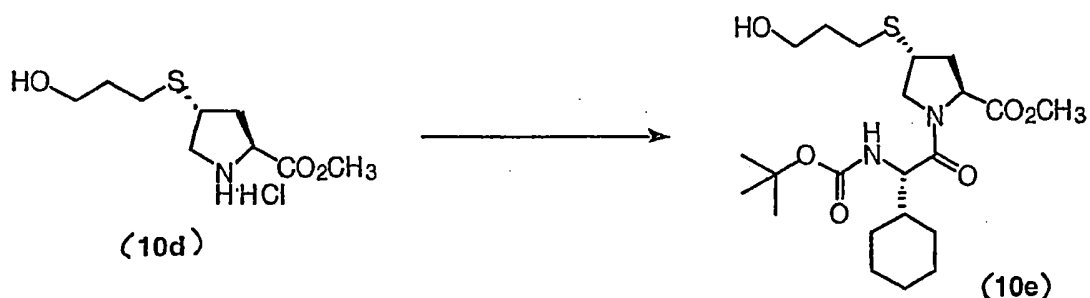
Do suspenzie hydridu sodného (60% disperzia v minerálnom oleji, 187 mg, 4,68 mmol) v DMF pri 0 °C sa pridával 3-merkaptopropanol (0,42 ml, 4,85 mmol) pod argónovou atmosférou. Zmes sa premiešavala počas 30 minút za udržiavania teploty. Roztok brosylátu 10b (1,5 g, 3,23 mmol) v DMF (celkový objem = 10 ml) sa pridával pomaly a zmes sa zahriala na okolitú teplotu počas 2 hodín. Reakcia sa zastavila vyliatím do studeného 10% roztoku kyseliny citrónovej. Vodná vrstva sa extrahovala etylacetátom, organická vrstva sa vysušila (Na_2SO_4) a skoncentrovala. Surový materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 85/15 dichlórmétán/etylacetát, čím sa získalo 800 mg (78% výťažok) sulfidu 10c ako olej; ^1H NMR (zmes rotamérov, CDCl_3) δ 1,41 a 1,47 (2s, OH), 1,83 - 1,89 (m, 2H), 2,13 - 2,34 (m, 2H), 2,69 (t, 2H), 3,23 - 3,49 (m, 2H), 3,73 - 3,78 (m, 5H), 3,86 - 3,95 (m, 1H), 4,33 - 4,37 a 4,42 - 4,46 (2dd, 1H); ^{13}C NMR (zmes rotamérov, CDCl_3) δ 28,21, 28,30, 32,15, 32,23, 36,65, 37,27, 40,45, 40,89, 52,16, 52,35, 52,50, 52,84, 58,32, 58,55, 61,22, 61,41, 80,35, 153,49, 153,99, 173,05, 173,23; HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{NO}_5\text{S}$: 320,1532 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Nájdene: 320,1528.

Krok C



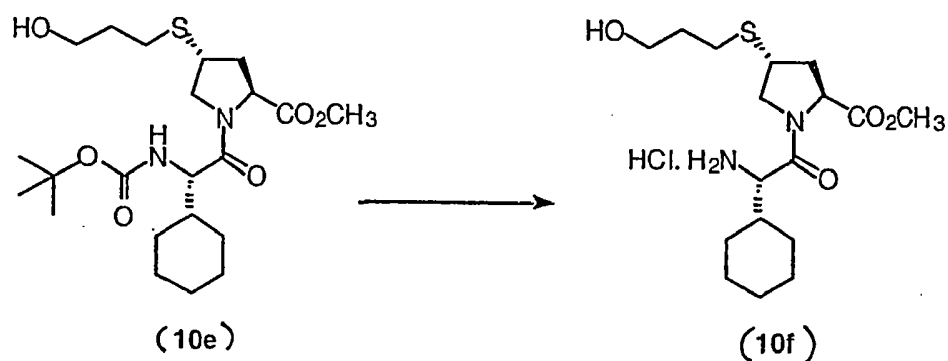
Požadovaná zlúčenina 10d sa pripravila pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok C. Reakčné podmienky boli 0 °C, 1 hodina. Tento materiál sa preniesol do nasledujúceho kroku bez úpravy.

Krok D



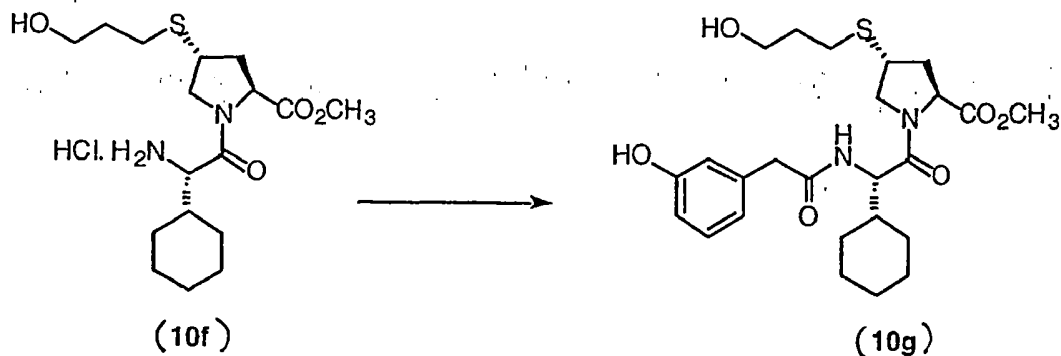
Požadovaná zlúčenina 10e sa pripravila pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok D. Kopulačná reakcia sa uskutočnila pri -8°C počas 2 dní. Po spracovaní bol produkt 10e dostatočne čistý podľa TLC a získal sa v 80% výťažku; HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{22}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$: 459,2529 ($\text{M}+\text{H}^+$). Nájdené: 459,2523,

Krok E



Požadovaná zlúčenina 10f sa pripravila pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok E. Tento materiál bol prenesený ďalej bez úpravy.

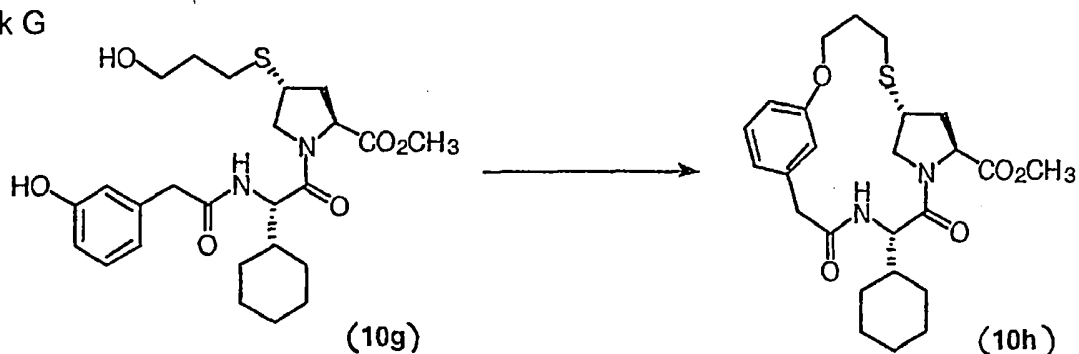
Krok F



Požadovaná zlúčenina 10g sa pripravila pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok F. Surový produkt sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 dichlórmetán/metanol, čím sa získal produkt 10 g v 40%

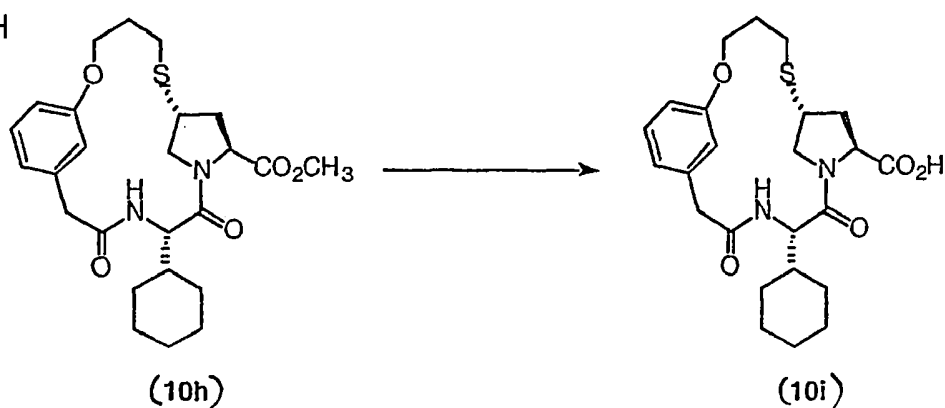
výťažku ako biela tuhá látka; ^1H NMR (zmes rotamérov, CDCl_3) δ 0,90 - 1,26 (m), 1,66 - 1,88 (m), 2,22 - 2,31 (m, 2H), 2,73 (t, 2H), 3,47 (s), 3,5 - 3,55 (m), 3,65 - 3,75 (m), 3,88 - 3,94 (dd, 1H), 4,07 - 4,12 (dd, 1H), 4,53 (t, 1H), 4,62 (t, 1H), 6,73 - 6,80 (m, 4H), 7,17 (t, 1H); ^{13}C NMR (zmes rotamérov, CDCl_3) δ 25,80, 25,89, 26,14, 27,71, 28,55, 29,22, 31,88, 35,46, 40,58, 42,44, 43,16, 52,32, 52,90, 55,49, 58,46, 60,30, 114,59, 116,27, 121,01, 130,02, 135,90, 156,73, 171,25, 171,87, 171,96; HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$: 493,2372 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Nájdene: 493,2364.

Krok G



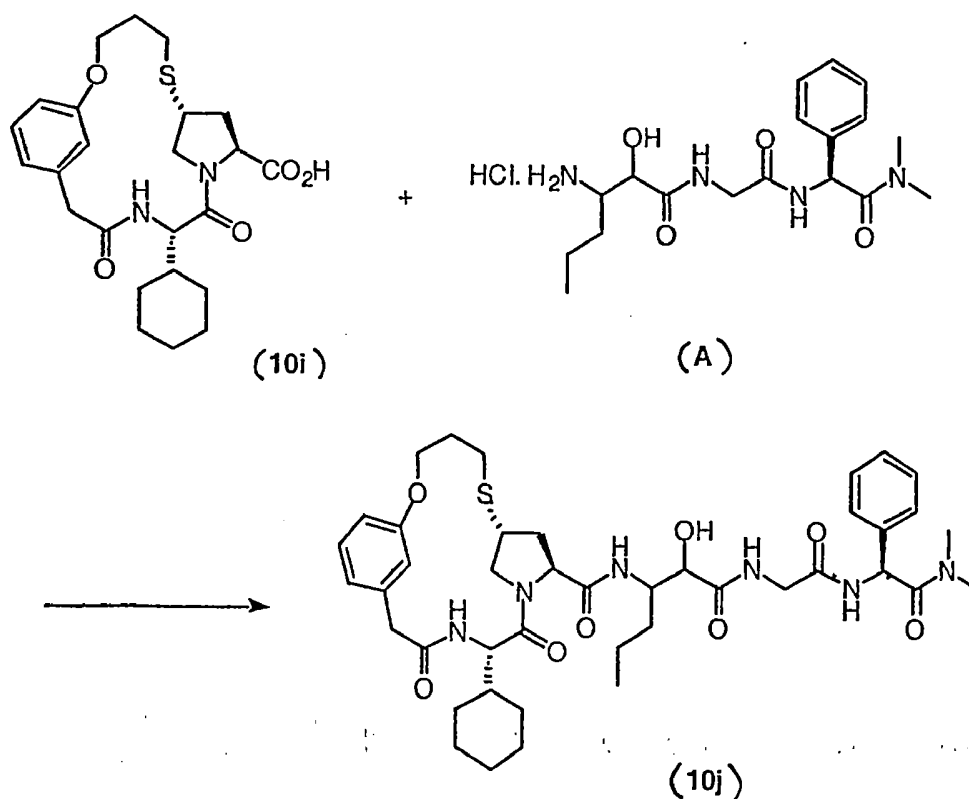
Požadovaná zlúčenina 10h sa pripravila pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok G. Surový produkt sa suspendoval v zmesi 80/20 etylacetát/hexán a tuhý materiál sa odfiltroval. Filtrát sa skoncentroval a čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 80/20 hexán/acetón, čím sa získalo 22 % produktu 10h ako tuhá látka. ^1H NMR (CDCl_3) δ 0,98 - 1,30 (m), 1,64 - 1,90 (m), 2,06 - 2,14 (m, 1H), 2,16 - 2,21 (dd, 2H), 2,62 - 2,70 (m, 2H), 3,38 - 3,46 (m, 2H), 3,60 - 3,66 (m, 3H), 3,71 (s, 3H), 3,88 - 3,94 (dd, 1H), 4,07 - 4,15 (m, 1H), 4,22 - 4,29 (m, 1H), 4,48 (t, 1H), 4,60 (t, 1H), 5,97 (široký t, 1H), 6,76 - 6,81 (m, 2H), 6,99 (široký s, 1H), 7,20 (dd, 1H); HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: 475,2267 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Nájdene: 475,2260.

Krok H



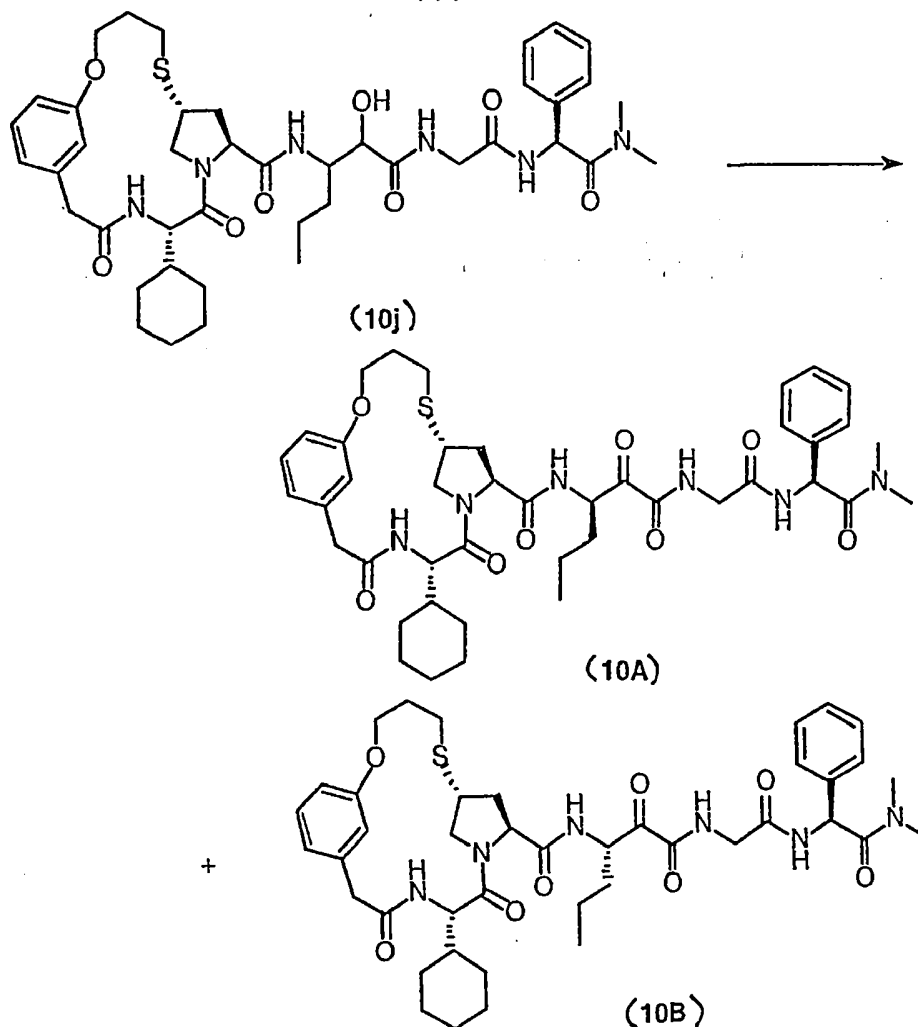
Uvedený medziprodukt 10i sa syntetizoval tak, ako je opísané v Príklade 1 Krok H v kvantitatívnom výťažku ako biela tuhá látka; ^1H NMR (DMSO- d_6) δ 0,88 - 0,96 (m, 2H), 1,10 - 1,14 (m, 3H), 1,59 - 1,76 (m, 7H), 1,88 - 1,94 (m, 1H), 2,09 (zdanlivý t, 1H), 2,61 (dd, 1H), 3,32 (zdanlivý d, 1H), 3,40 - 3,45 (m, 2H), 3,61 (zdanlivý d, 1H), 3,83 (q, 1H), 4,13 (zdanlivý t, 1H), 4,19 (t, $J = 7,32$ Hz, 1H), 4,40 (t, $J = 9,52$ Hz, 1H), 6,76 - 6,79 (m, 2H), 6,89 (s, 1H), 7,16 (zdanlivý t, 1H), 8,39 (d, 1H), 12,5 (široký s, 1H); ^{13}C NMR (DMSO- d_6) δ 25,33, 25,41, 26,01, 26,44, 28,09, 28,62, 29,24, 34,90, 39,50, 41,40, 42,30, 53,18, 54,44, 58,06, 66,94, 114,88, 115,25, 122,28, 129,20, 137,84, 157,90, 169,25, 170,29, 172,59; HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$: 461,2110 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Nájdené: 461,2104.

Krok I



Požadovaná zlúčenina 10j sa pripravila tak, ako je opísané skôr v Príklade 1 Krok I v kvantitatívnom výťažku ako bledo žltá tuhá látka. Tento materiál získaný po spracovaní bol dostatočne čistý podľa TLC na ďalšie použitie; HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{42}\text{H}_{59}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$: 807,4115 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Nájdené: 807,4103.

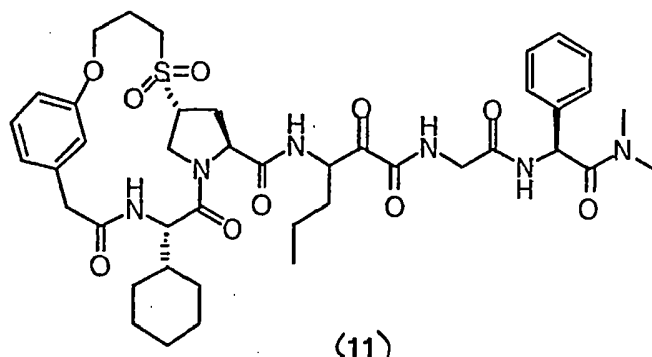
Krok J



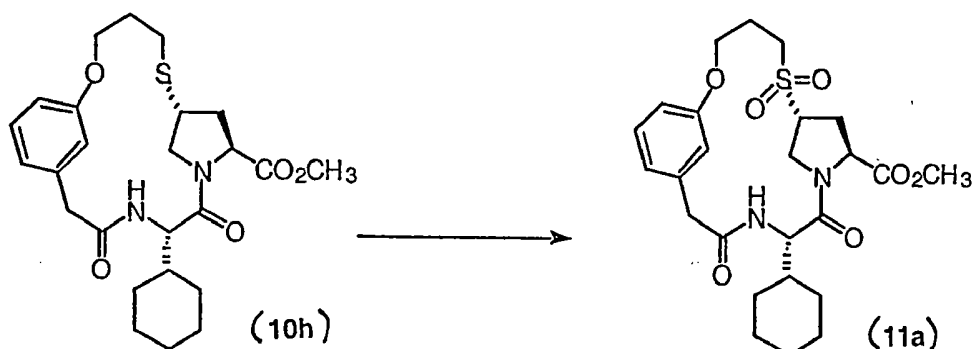
Do roztoku produktu 10j (180 mg, 0,22 mmol) v dichlórmetáne sa pridával postupne DMSO (0,313 ml, 4,4 mmol), DCC (908 mg, 4,4 mmol) a dichlóroctová kyselina (36,4 μ l, 0,44 mmol). Reakčná zmes sa premiešavala počas noci pri okolitej teplote. Reakcia sa zastavila pridaním 5%-ného vodného roztoku kyseliny citrónovej (5 ml) a MeOH (1 ml) a zmes sa premiešavala 30 minút. Tuhý materiál sa odfiltroval a filtrát sa premyl nasýteným roztokom hydrogenuhličitanu sodného a soľankou. Organická vrstva sa vysušila nad Na_2SO_4 a rozpúšťadlo sa odstránilo za vákua. Surový materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 100/0 až 98/2 dichlórmetán/metanol, čím sa získalo 105 mg (60 %) 10A a 10B ako zmes diastereomérov. Časť zmesi (36 mg) sa podrobila kolónovej chromatografii znova, čím sa získal čistý izomér 10A (polárnejší, biela tuhá látka, 8 mg) a čistý izomér 10B (menej polárny, biela tuhá látka, 8 mg), zvyšok je zmes. HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{42}\text{H}_{57}\text{N}_6\text{O}_8\text{S}$: 805,3959 ($\text{M}+\text{H}$)⁺. Nájdené: 805,8958 (10A), 805,3950 (10B).

Príklad 11

Príprava zlúčeniny vzorca 11

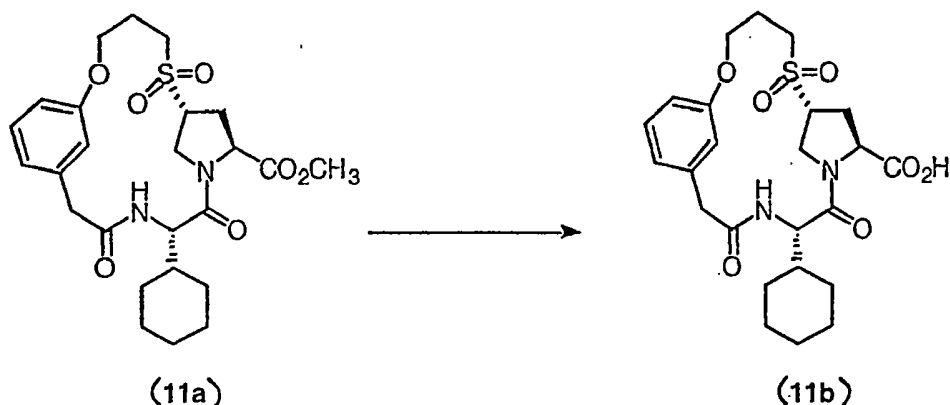


Krok A



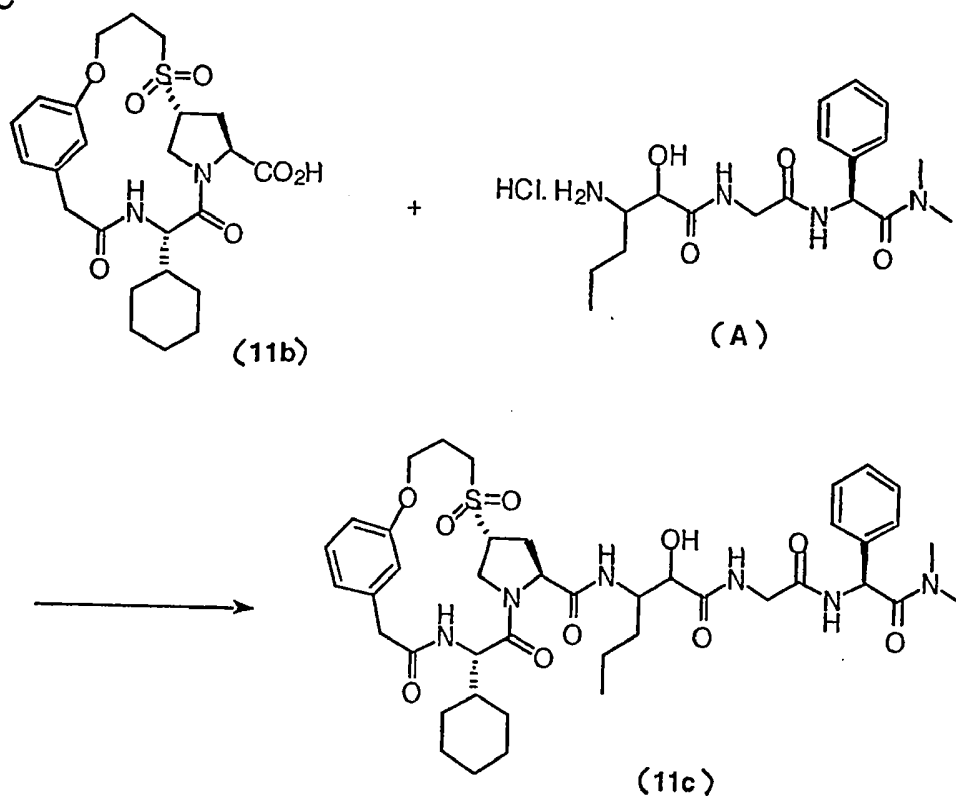
Do studeného (0 °C) roztoku produktu 10h (200 mg, 0,42 mmol) v dichlórmetáne (10 ml) sa pridával MCPBA (60%, 364 mg, 1,20 mmol). Reakčná zmes sa pomaly zahriala na okolitú teplotu počas 18 hodín. Reakčná zmes sa zriedila dichlórmetánom a premyla nasýteným roztokom hydrogenuhličitanu sodného a roztokom hydrogensiričitanu sodného. Organická vrstva sa vysušila (Na₂SO₄) a skoncentrovala sa. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 dichlórmetán/metanol poskytlo produkt 11a (138 mg, 65 % výťažok). HRMS (FAB) vypočítané pre C₂₅H₃₅N₂O₇S: 507,2185 (M+H)⁺. Nájdené: 507,2158.

Krok B



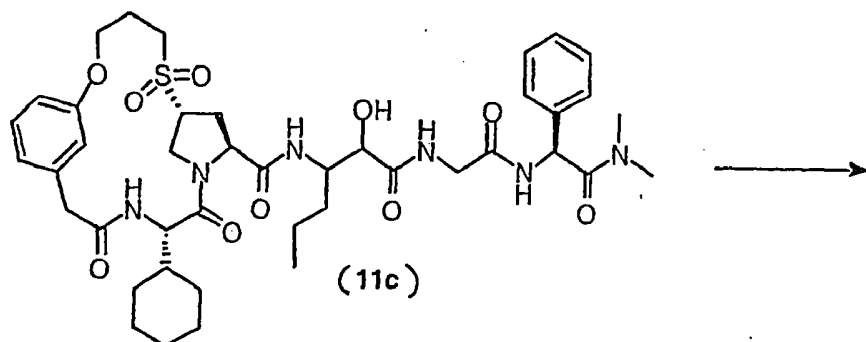
Očakávaný produkt 11b sa syntetizoval tak, ako je opísané v Príklade 1 Krok I v 90% výťažku ako biela tuhá látka; HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{24}H_{33}N_2O_7S$: 493,2008(M+H)⁺. Nájdené: 493,2012.

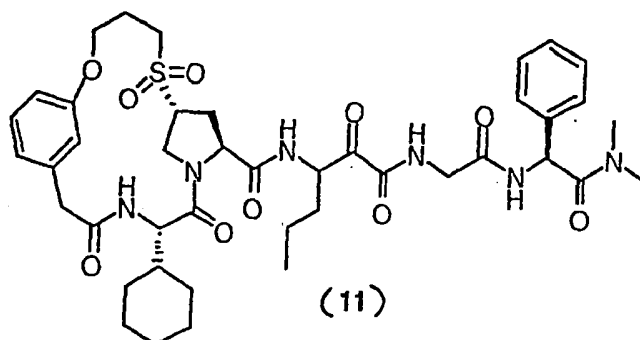
Krok C



Požadovaná zlúčenina 11c sa pripravila tak, ako je opísané skôr v Príklade 1 Krok J v kvantitatívnom výťažku. Tento materiál získaný po spracovaní bol dostatočne čistý podľa TLC na ďalšie spracovanie. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{42}H_{59}N_6O_{10}S$: 839,4013 (M+H)⁺. Nájdené: 839,4019.

Krok D

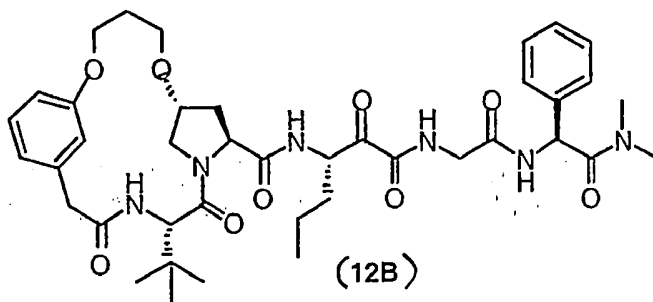
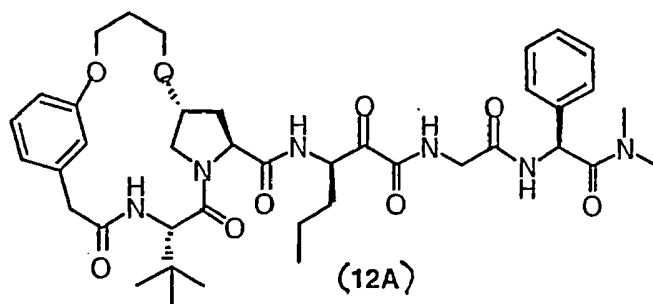




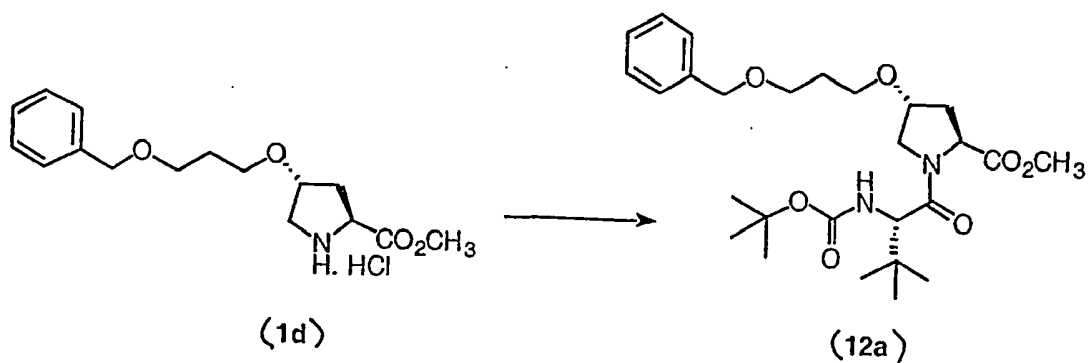
Požadovaný produkt 11 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 dichlórmetán/metanol poskytlo produkt 11 v 4% výťažku (2 kroky). HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{42}H_{57}N_6O_{10}S$; 837,3857 (M+H)⁺. Nájdené: 837,3865.

Príklad 12

Príprava zlúčenín vzorcov 12A a 12B

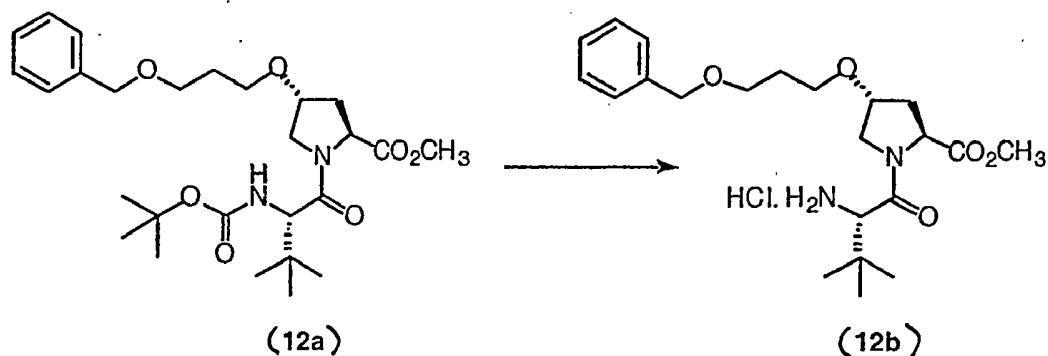


Krok A



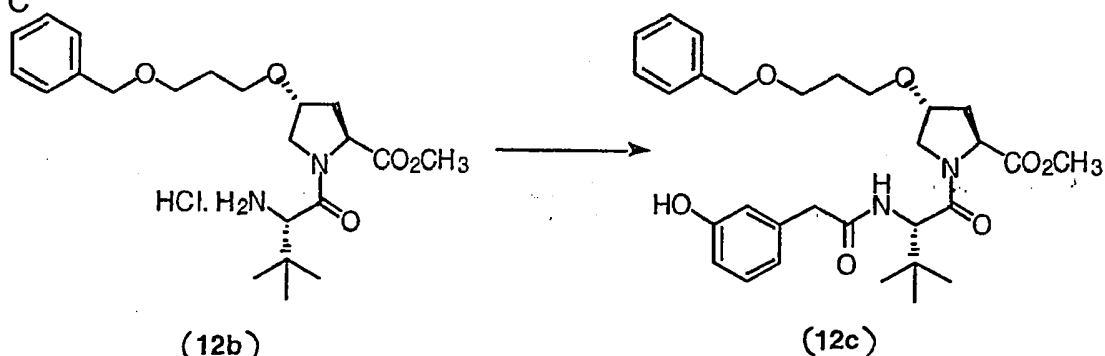
Požadovaný produkt 12a sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok D použitím *N*-*boc*-*tert*-butylglycínu ako kopulačného partnera. Tento materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 90/10 dichlórmétán/etylacetát, čím sa získala zlúčenina 12a v 73% výťažku. ^{13}C NMR (zmes rotamérov, CDCl_3) δ 26,20, 28,31, 29,07, 30,06, 34,94, 35,86, 37,06, 51,21, 52,16, 52,84, 57,78, 58,33, 65,95, 66,92, 72,97, 75,48, 79,45, 127,55, 127,66, 128,35, 138,45, 155,62, 165,06, 171,18, 172,54; HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{27}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{O}_7$: 507,3070 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Nájdené: 507,3077.

Krok B



Požadovaná zlúčenina 12b sa pripravila pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok E. Tento materiál bol prenesený ďalej do nasledujúceho kroku.

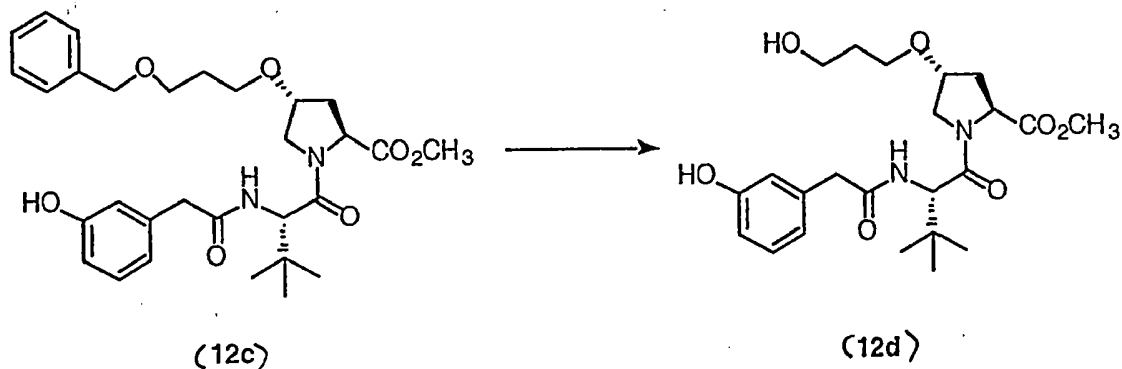
Krok C



Požadovaný produkt 12c sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok F. Tento materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 99/1 dichlórmétán/metanol, čím sa získal produkt 12c v 91% výťažku. ^{13}C NMR (CDCl_3) δ 26,24, 29,93, 34,95, 35,96, 43,48, 52,18, 53,09, 57,06, 58,06, 66,10, 66,92, 72,93, 77,43, 114,59, 116,14, 120,87, 127,58, 127,64, 127,74,

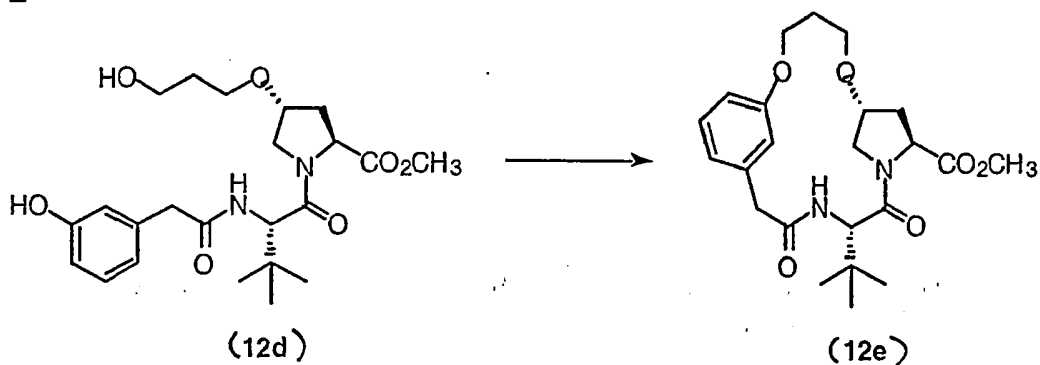
128,37, 130,02, 135,95, 138,39, 156,90, 170,65, 171,06, 172,38; HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{30}H_{41}N_2O_7$: 541,2914 ($M+H$)⁺. Nájdené: 541,2921.

Krok D



Požadovaný produkt 12d sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok G. Produkt sa získaný po odfiltrovaní katalyzátora bol dostatočne čistý na ďalšie spracovanie. ^{13}C NMR ($CDCl_3$) δ 26,27, 32,09, 35,44, 35,67,43,19, 52,21, 52,74, 57,60, 58,21, 58,75, 65,78, 77,74, 114,74, 116,02, 120,68, 130,07, 135,66, 157,11, 170,59, 172,05, 172,51; HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{23}H_{35}N_2O_7$, 451,2444 ($M+H$)⁺. Nájdené; 451,2436.

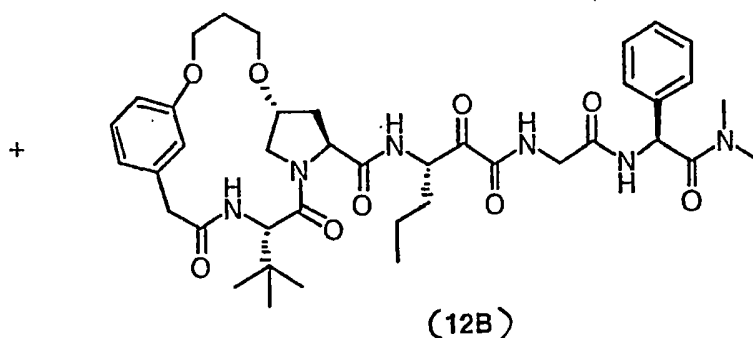
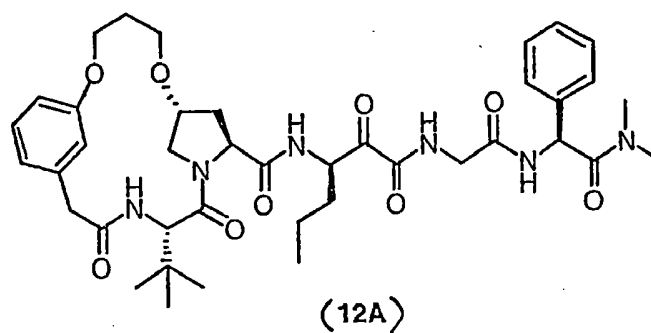
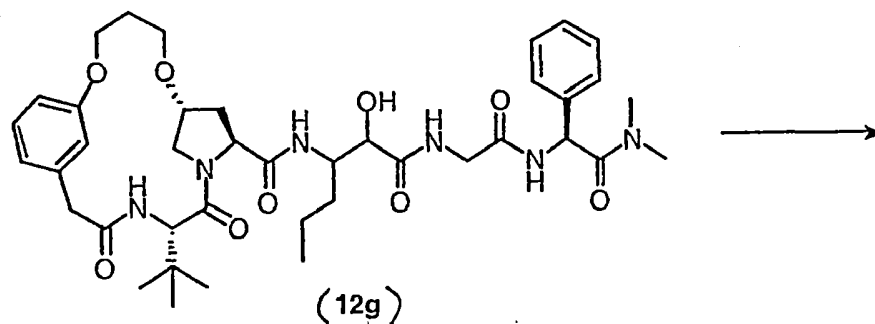
Krok E



Požadovaný produkt 12e sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok H. Surový materiál bol suspendovaný v zmesi etylacetát/hexán (približne. 1/1) a nerozpustený tuhý materiál sa odfiltraval. Tento postup sa opakoval ešte raz, filtrát sa skoncentroval a aplikoval do kolóny ako dichlórmetánový roztok. Kolóna sa eluovala zmesou 75/25 hexán/acetón, čím sa získal výťažok 29 % produktu 12e. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{23}H_{33}N_2O_6$: 433,2339 ($M+H$)⁺. Nájdené: 433,2339,

do nasledujúceho kroku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{40}H_{57}N_6O_9$: 765,4187 $(M+H)^+$. Nájdené: 765,4175.

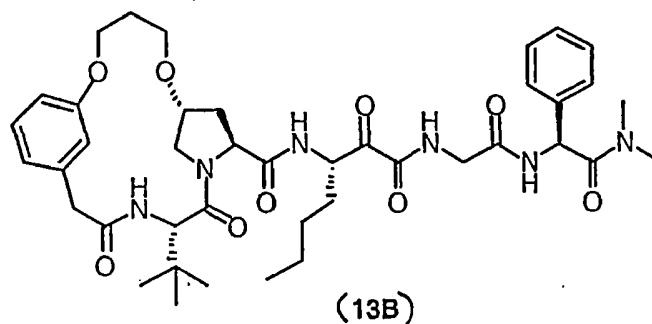
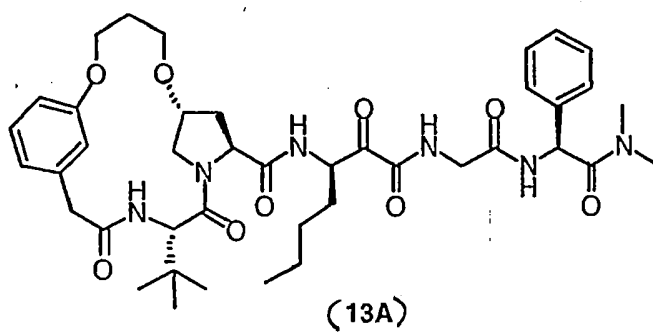
Krok H



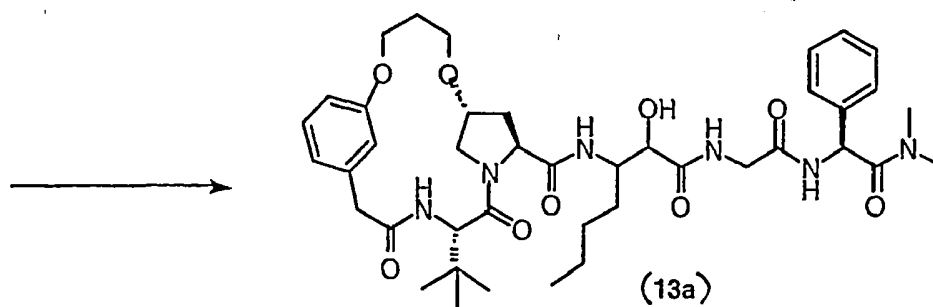
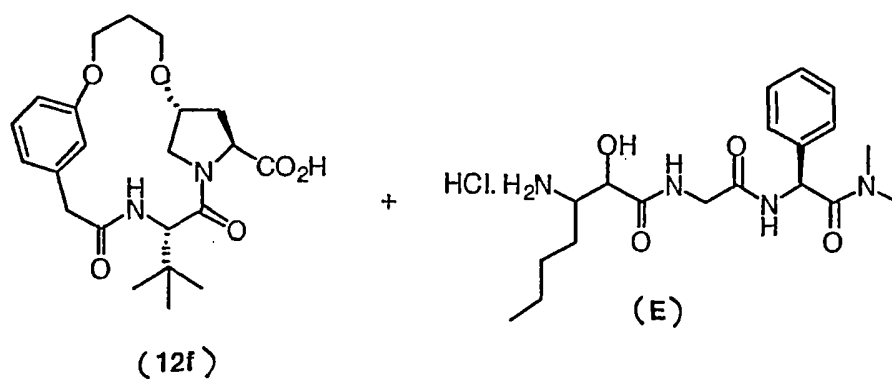
Požadované produkty 12A a 12B sa získali pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 až 96/4 dichlórmetán/metanol poskytlo oddelené izoméry 12A a 12B, a ich zmes. Kombinovaný výťažok 57 % (pre 2 kroky). HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{40}H_{55}N_6O_9$: 763,4031 $(M+H)^+$. Nájdené: 763,4040 (12A), 763,4047 (12B).

Príklad 13

Príprava zlúčenín 13A a 13B



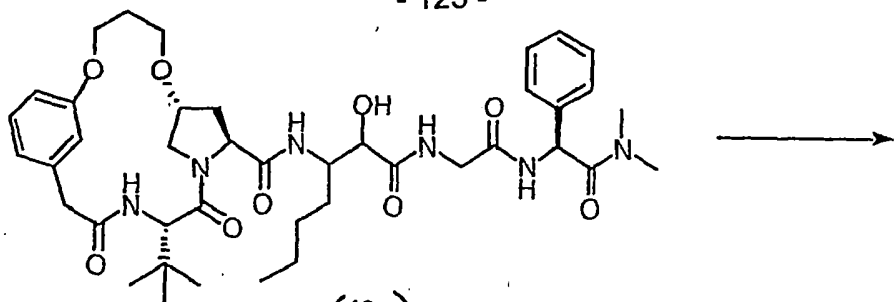
Krok A



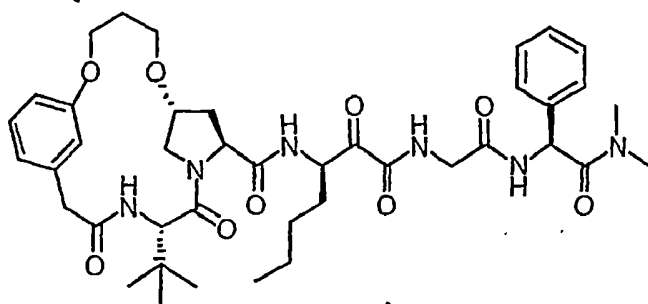
Očakávaný produkt 13a sa syntetizovaný tak, ako je opísané skôr v Príklade 1 Krok J. Tento materiál po spracovaní bol dostatočne čistý na to, aby sa preniesol do nasledujúceho kroku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{41}H_{59}N_5O_9$; 779,4344 (M+H)⁺, Nájdené; 779,4350.

Krok B

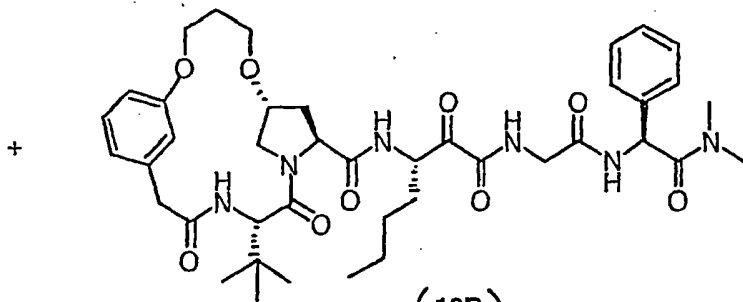
- 123 -



(13a)



(13A)

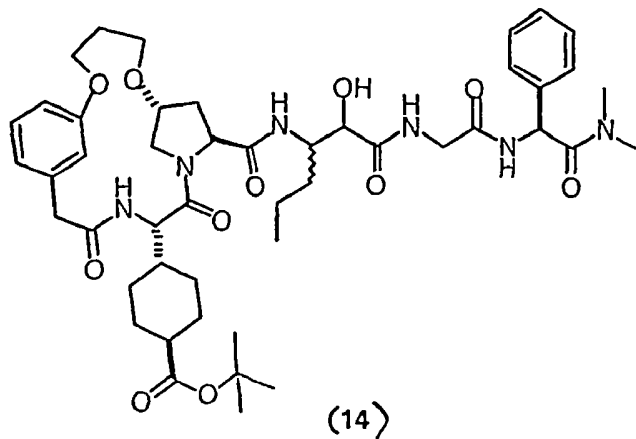


(13B)

Požadované produkty 13A a 13B sa získali pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 100/0 až 96/4 dichlórmetán/metanol poskytlo oddelené izoméry 13A a 13B, a ich zmes. Kombinovaný výťažok = 50 % (pre 2 kroky). HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{41}H_{57}N_6O_9$: 777,4187 (M+H)⁺. Nájdené: 777,4177 (13A), 777,4185 (13B).

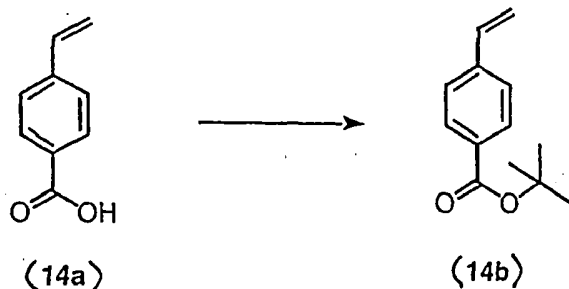
Príklad 14

Príprava zlúčeniny 14



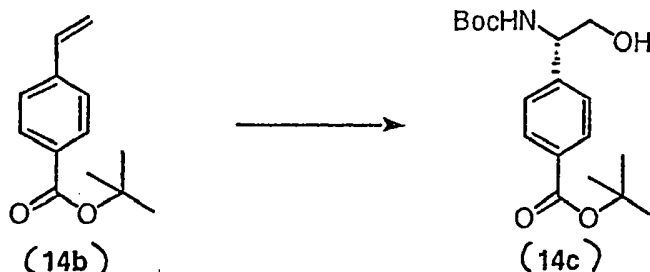
(14)

Krok A



Na roztok kyseliny vinyl-benzoovej 14a (10 g, 68 mmol) v suchom benzéne (150 ml) sa pôsobilo di-*tert*-butylacetátom DMF (69 g, 340 mmol, 5,0 ekvivalentov) a roztok sa zahrieval pod refluxom 4 hodiny. Reakčná zmes sa skoncentrovala za vákua a zriedila vodným roztokom NaOH (1 mol/l, 300 ml). Reakčná zmes sa extrahovala dietyléterom (3x 100 ml). Spojené organické vrstvy sa extrahovali vodným roztokom NaOH (1 mol/l, 100 ml), H₂O (2x 100 ml), soľankou (1x 100 ml), vysušili sa (Na₂SO₄), prefiltrovali a skoncentrovali za vákua. Zvyšok sa destiloval za zníženého tlaku, čím sa získal produkt 14b 9,2 g (66,2 %) ako bezfarebný olej.

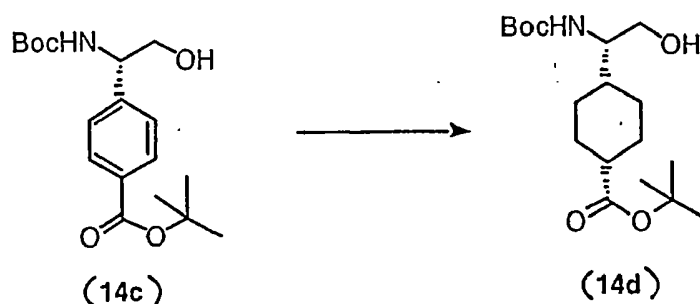
Krok B



Na roztok *tert*-butylkarbamátu (5,069, 50,9 mmol) v 1-PrOH (68 ml) sa pôsobilo vodným roztokom NaOH (128 ml, 0,41 mol/l) a *tert*-butylchlórnanom (5,5 g, 50,9 mmol). Reakčná zmes sa potom ochladila na 0 °C a pridal sa (DHQ)₂Phal (780 mg, 1,00 mmol) v 1-PrOH (64 ml). Pridal sa roztok *tert*-butyl-4-vinylbenzoátu 14b v 1-PrOH (119 ml), po čom nasleduje K₂OsO₄·H₂O (248 mg, 0,7 mmol) a reakčná zmes sa premiešavala pri 0 °C počas 4 až 5 hodín. Reakčná zmes ozelenela a všetok východiskový materiál zmizol, pričom sa tvoril nový produkt. Reakčná zmes sa skoncentrovala za vákua a zvyšok sa zriedil s H₂O (300 ml) a extrahoval s EtOAc (3x 100 ml). Spojené organické vrstvy sa extrahovali vodným roztokom HCl (200 ml), soľankou (100 ml), vysušili sa (Na₂SO₄), prefiltrovali, skoncentrovali za vákua a produkt sa čistil pomocou chromatografie (SiO₂,

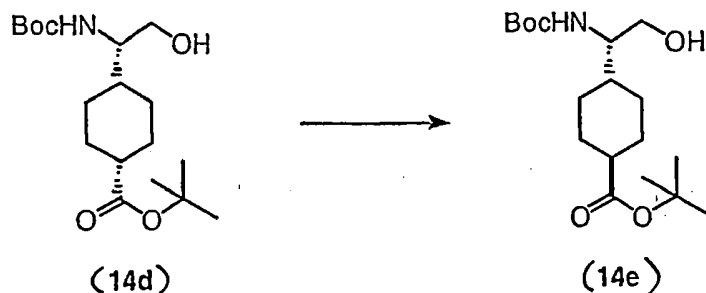
EtOAc/hexány 1:2), čím sa získal produkt 14c ako bezfarebná tuhá látka (4,6 g, 82 %). ^1H NMR (CD_3OD , δ) 7,90 (d, 2 H, $J = 6,0$ Hz), 7,40 (d, 2 H, $J = 6,3$ Hz), 7,22 (bd, 1 H, $J = 5,7$ Hz), 4,69 (bs, 1H), 3,71 - 3,62 (m, 2H), 1,58 (s, 9H), 1,39 (s, 9 Hz); ^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz) 169,7, 160,5, 149,8, 134,5, 132,9, 130,4, 84,7, 82,9, 68,7, 60,7, 31,25, 30,9 MS (FAB) 675,2 ($[\text{2M}+1]^+$, 15), 338 ($[\text{M}+1]^+$, 15), 282 (65), 225 (50), 165 (100); HRMS vypočítané pre $\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{NO}_5$ ($\text{M}+1$): 338,1887; nájdené 338,1967.

Krok C

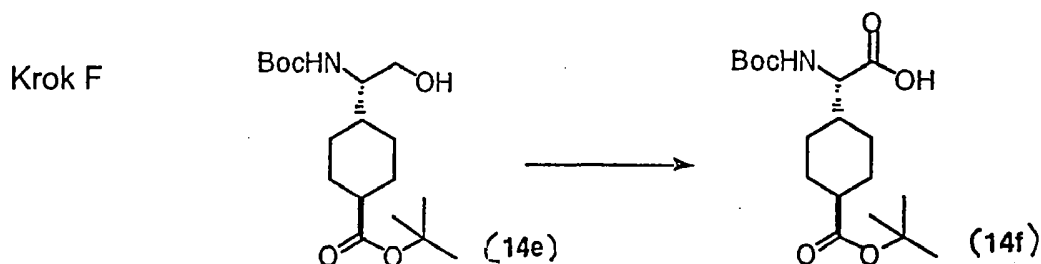


Na roztok aromatickej zlúčeniny 14c (1,0 g, 2,98 mmol) v CH_3OH (20 ml) sa pôsobilo Rh/C (10% (hmotn.), 100 mg) a zmes sa hydrogenovala (414 kPa (60 psi)) 2 dni. Reakčná zmes sa prefiltrovala cez vrstvu Celite a zvyšok sa skoncentroval za vákua, čím sa získal produkt 14d. Surový produkt sa čistil pomocou chromatografie (SiO_2 , EtOAc/hexán 2:3), čím sa získala *cis* zlúčenina 14d (830 mg, 83 %), ktorá sa ďalej čistila pomocou kryštalizácie z hexánov. ^1H NMR (CD_3OD , δ) 6,31 (d, 1H, $J = 6,9$ Hz), 3,58 - 3,49 (s, 2H), 3,40 (bd, 1H, $J = 4,8$ Hz), 2,48 - 2,46 (m, 1H), 2,1 - 1,98 (m, 2H), 1,61 - 1,2 (m, 7H), 1,45 (s, 9H), 1,42 (s, 9H); ^{13}C NMR (CD_3OD , 75 MHz) 176,2, 158,5, 81,2, 79,8, 63,1, 57,2, 41,8, 38,8, 28,8, 28,3, 27,76, 27,5, 25,9, MS (FAB) 687,2 ($[\text{2M}+1]^+$, 5), 344 ($[\text{M}+1]^+$, 20), 232 (40), 188 (100), 107 (13); HRMS vypočítané pre $\text{C}_{18}\text{H}_{34}\text{NO}_5$ ($\text{M}+1$): 344,2437; Nájdené: 344,2444, CHN vypočítané pre $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{NO}_5$ C = 64,07 %, H 8,07 %, N = 4,15 %; Nájdené C = 64,32 %, H = 8,21 %, N = 4,32 %.

Krok E



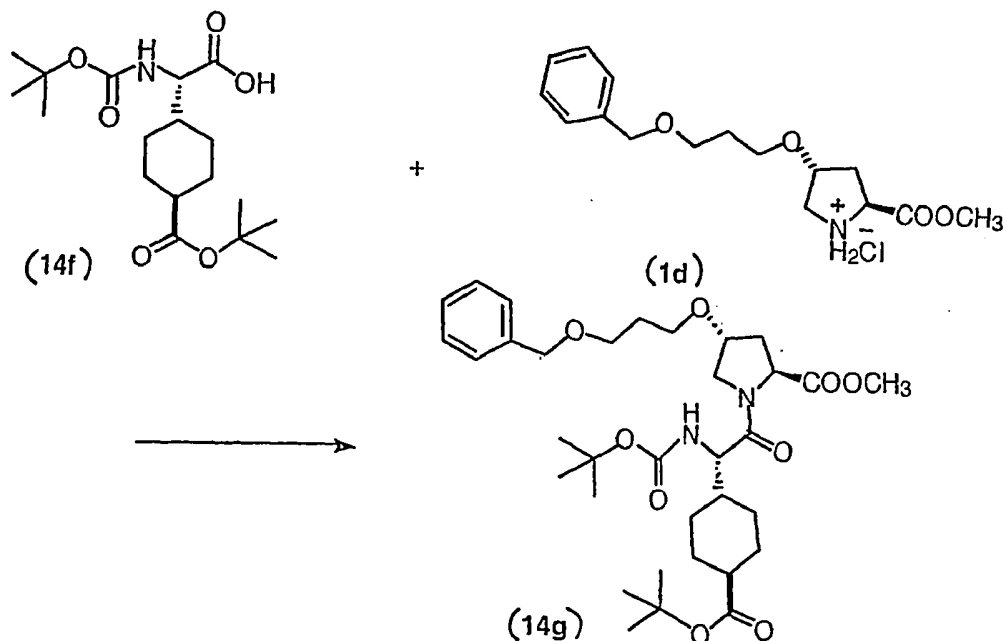
Roztok amino-alkoholu 14d (3,3 g, 11,08 mmol) v suchom THF (200 ml) sa ochladil na -78°C (suchý ľad/acetón, interná teplota -68°C), pôsobilo sa naň LDA (44 ml, 2 mol/l roztok v heptánoch, 88 mmol, 8,0 ekvivalentov). Reakčná zmes sa premiešavala pri 78°C počas 2 hodín a reakcia sa zastavila s CH_3OH (20 ml). Na reakčnú zmes sa pôsobilo vodným roztokom HCl (150 ml, 1 mol/l) a zmes sa extrahovala éterom (3x 100 ml). Spojené éterové vrstvy sa extrahovali soľankou (50 ml), vysušili (MgSO_4), skoncentrovali sa za vákua a čistili pomocou kryštalizácie z vriacich hexánov. Tuhá látka oddelená z materského lúhu bola prevládajúco *cis* stereoizomér, pričom skoncentrovanie materského lúhu poskytlo čistý *trans* izomér. Vyššie uvedená sekvencia sa opakovala ešte dvakrát, čím sa získalo 2,7 g *trans* zlúčeniny a 600 mg *cis/trans* zmesi. ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz) 175,3, 156,6, 79,8, 63,6, 57,0, 44,1, 38,3, 37,7, 28,9, 28,6, 28,4, 28,1, 26,6, 26,1, MS (elektro-rozprašovanie) 344 (M^+ , 50), 288 (50) 232 (90), 188 (100).



Na roztok alkoholu 14e (2,6 g, 7,6 mmol) v CH_3CN (150 ml) a CCl_4 (150 ml) sa pôsobilo H_2O (22 ml), potom sa ochladil na 0°C a pôsobilo sa naň kyselinou jodistou (7,05 g, 30,92 mmol, 4,0 ekvivalenty) a $\text{RuCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (60 mg, 0,3 mmol, 4 % molové). Reakčná zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote 3 hodiny a skoncentrovala sa za vákua. Zvyšok sa zriedil vodou (150 ml) a extrahoval s EtOAc (3x 100 ml). Spojené organické vrstvy sa extrahovali H_2O (100 ml) a vodným roztokom NaOH (1 mol/l, 3x 100 ml). Spojené vodné vrstvy sa okyslili s HCl (6 mol/l, pH 1) a extrahovali sa s EtOAc (3x 100 ml). Etylacetátové vrstvy sa spojili,

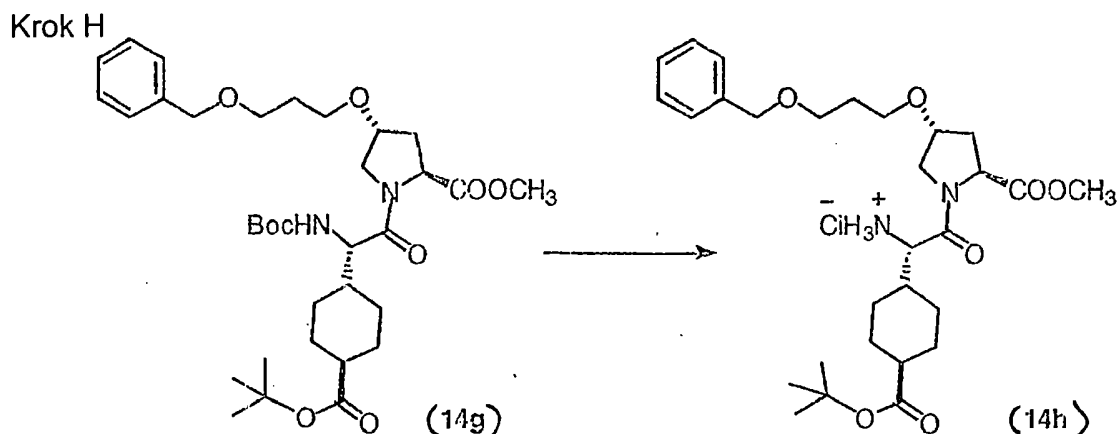
extrahovali sa soľankou (100 ml) vysušili sa (Na_2SO_4), prefiltrovali, skoncentrovali sa za vákua, čím sa získala kyselina 14f (1,8 g, 66 %) použitá na ďalšiu kopuláciu bez ďalšieho čistenia. MS (FAB) 380,2 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, 30) 358 ($[\text{M}+1]^+$, 5), 302 (20), 258 (20), 246 (100), 202 (70), 200 (20).

Krok G

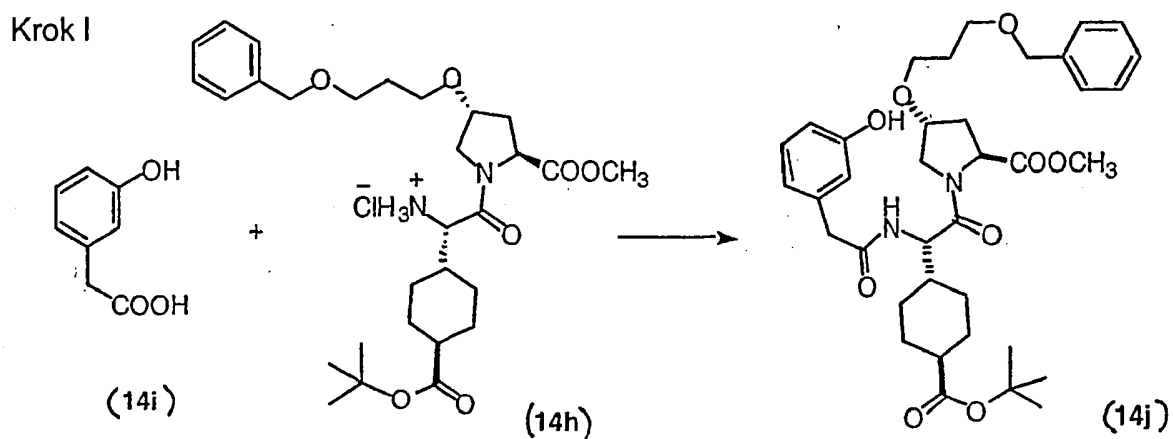


Na roztok Boc-*trans*-4-*tert*-butylkarboxyl-cyklohexylglycínu 14f (1,9 g, 5,3 mmol) v CH_2Cl_2 (30 ml) sa pôsobilo prolínovou zlúčeninou 1d (1,92 g, 5,85 mmol, 1,1 ekvivalentu) a zmes sa ochladila na 0 °C. Na reakčnú zmes sa pôsobilo Hünigovou zásadou (1,51 g, 11,7 mmol, 2,2 ekvivalentu, 2,15 ml), po čom nasledoval prídavok BOP činidla (2,69, 5,85 mmol, 1,1 ekvivalentu). Reakčná zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote 12 hodín, zriedila sa vodným roztokom HCl (1 mol/l, 100 ml) a extrahovala sa s EtOAc (3x 100 ml). Spojené etyl-acetátové vrstvy sa extrahovali vodným roztokom NaOH (1 mol/l, 100 ml), soľankou (100 ml) vysušili sa (Na_2SO_4), prefiltrovali, skoncentrovali sa za vákua a čistili pomocou chromatografie (SiO_2 , EtOAc/hexány 2:3), čím sa získal produkt 14 g ako bezfarebná pena (1,8 g, 54 %); ^1H NMR (CD_3OD , δ , zmes rotamérov) 7,32 - 7,23 (m, 5H), 6,64 (d, 1H, $J = 9,0\text{Hz}$), 4,47 - 4,39 (m, 3H), 4,19 - 4,04 (m, 3H), 3,74 (s, 3H), 3,66 - 3,56 (m, 4 H), 2,55 - 2,10 (m, 2H), 1,99 - 1,00 (m, 12H), 1,42 (s, 9H), 1,40 (s, 9H). ^{13}C NMR (CD_3OD , δ , zmes rotamérov), 175,6, 174,6, 172,4, 172,0, 158,4, 138,5, 128,1, 127,5, 127,4, 127,3, 79,8, 79,7, 79,0, 77,5, 72,5, 66,7, 65,4,

58,1, 56,6, 52,1, 51,3, 43,9, 40,4, 89,4, 38,6, 34,6, 29,8, 28,4, 27,9, 27,3, 26,1, 25,4, 24,5; MS (FAB) 633 ($[M+1]^+$, 11), 533 (55), 477 (24), 428 (5), 294 (100), 234 (12), 156 (40), 128 (39); CHN vypočítané pre $C_{34}H_{52}NO_9$ C 64,53 %, H 8,28%, N 4,43%; Nájdene C 64,41%, H 8,00%, N 4,19%.



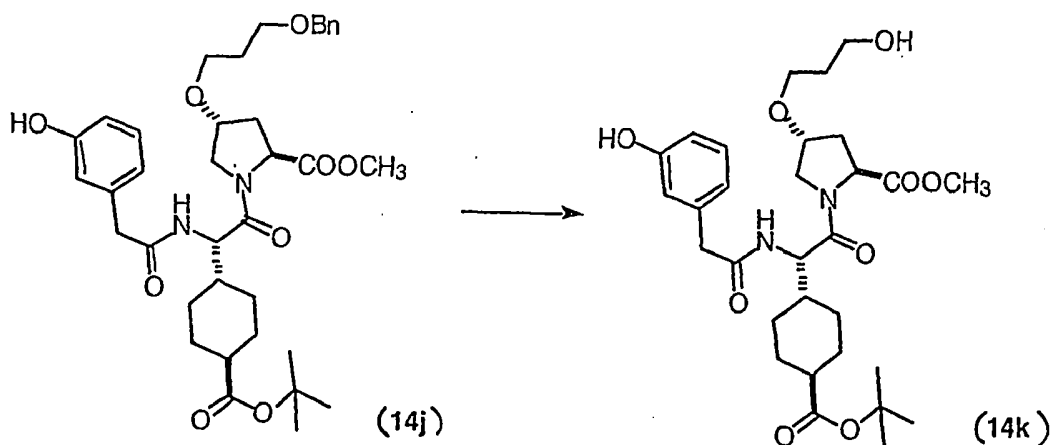
Roztok Boc-*trans*-4-*tert*-butylkarboxycyklohexyl-glycínu 14g (1,8 g) v HCl (4 mol/l roztok v dioxáne, 60 ml) sa premiešaval pri laboratórnej teplote počas 4 až 5 hodín. Reakcia sa sledovala pomocou TLC (EtOAc/hexán 3:7) vzhľadom na vymiznutie východiskového materiálu a objavenie sa základného produktu. Reakčná zmes sa skoncentrovala za vákua a zvyšok sa vysušil za vákua počas noci. Tuhá látka 14h bola použitá na kopuláciu bez ďalšieho čistenia.



Na roztok 3-hydroxyfonyloctovej kyseliny 14i (501 mg, 3,29 mmol, 1,8 ekvivalentu) a amín hydrochloridu 14h (1,79 g, 2,99 mmol) v suchom CH_2Cl_2 (30 ml) sa pôsobilo Hünigovou zásadou (850 mg, 6,59 mmol, 2,20 ekvivalentu, 1,2 ml) a BOP činidlom (1,5 g, 3,29 mmol, 1,1 ekvivalentu) pri 0 °C a potom sa roztok

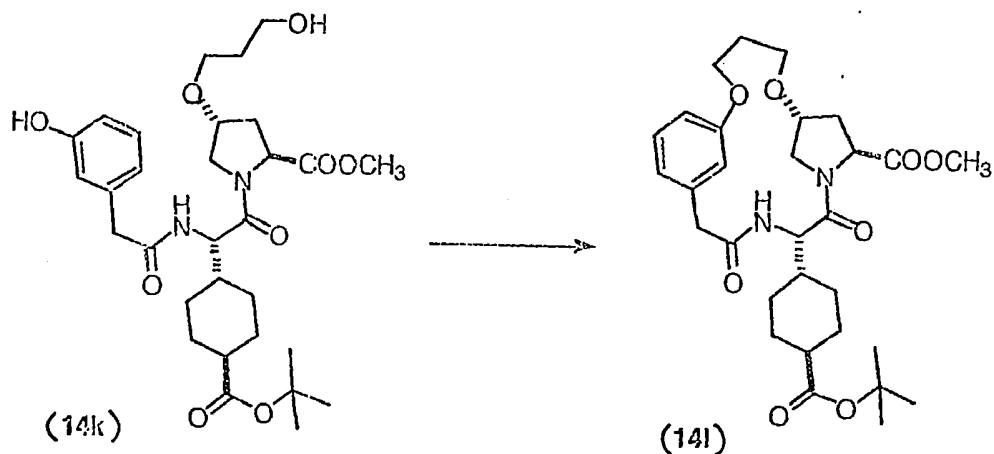
premiešaval pri laboratórnej teplote 24 hodín. Reakčná zmes sa skoncentrovala za vákua a zriedila vodným roztokom HCl (1 mol/l, 250 ml). Vodná vrstva sa extrahovala EtOAc (3x 100 ml). Spojené organické vrstvy sa extrahovali vodným roztokom NaOH (1x 100 ml), soľankou (1x 100 ml), vysušili sa (Na_2SO_4), prefiltrovali, skoncentrovali sa za vákua a čistili pomocou chromatografie (EtOAc/hexány 1:1), čím sa získal produkt 14j ako bezfarebná tuhá látka (710 mg, 36 %).

Krok J



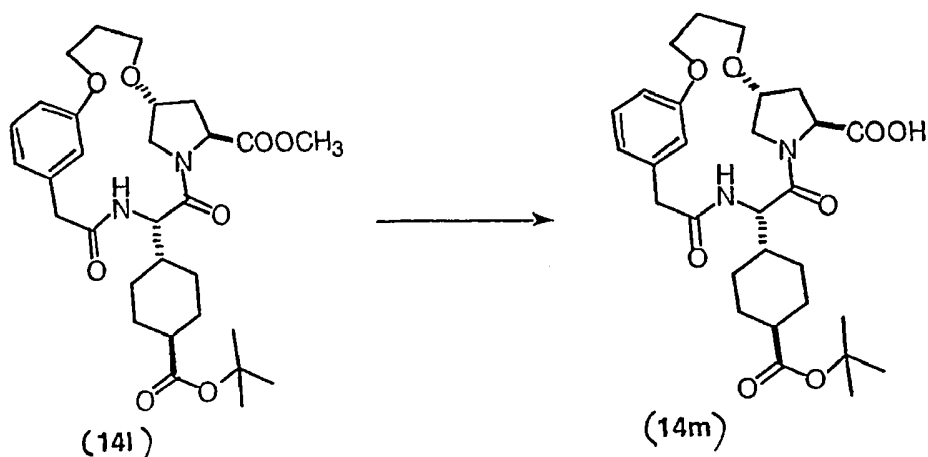
Na roztok kopulovanej zlúčeniny 14j (710 mg, 1,1 mmol) v CH_3OH (50 ml) sa pôsobilo Pearlmansovým katalyzátorom (10% $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$) a potom sa zmes hydrogenovala (H_2 , 276 kPa (40 psi)) 12 hodín. Pd/C sa odfiltroval cez vrstvu Celite a filtrát sa skoncentroval a použil v nasledujúcej cyklizácii bez ďalšieho čistenia R_f 0,12 (acetón/hexány 3:7); ^1H NMR (CD_3OD , δ , zmes rotomérov) 8,25 (bs, 1H), 7,01 (bt, 1H, $J = 7,2$ Hz), 6,72 (bs, 1H), 6,65 (d, 2 H, $J = 7,8$ Hz), 4,79 - 4,70 (bs, 3H), 4,55 - 4,41 (bs, 2H), 4,20 - 4,12 (bs, 2H), 3,77 (s, 3H), 3,66 - 3,44 (bm, 6H) 2,43 - 1,04 (bm, 14H) 1,40 (s, 9H); ^{13}C NMR (CD_3OD , δ , zmes rotomérov): 175,5, 174,6, 172,6, 172,4, 171,3, 161,1, 157,3, 136,8, 136,7, 129,3, 120,0, 115,7, 113,6, 100,0, 94,8, 79,9, 79,8, 77,5, 65,1, 58,5, 58,2, 55,6, 55,5, 54,3, 52,2, 51,5, 43,9, 42,1, 39,4, 35,0, 32,4, 28,6, 28,4, 27,5, 27,2, 27,1, 26,1, 25,2, 25,0; MS (FAB): 577 ($[\text{M}+1]^+$, 70), 521 (10), 443 (10), 387 (10), 374 (10), 318 (15), 290 (100), 248 (30); HRMS vypočítané pre $\text{C}_{30}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_9$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$: 577,3125; Nájdené 577,3133.

Krok K



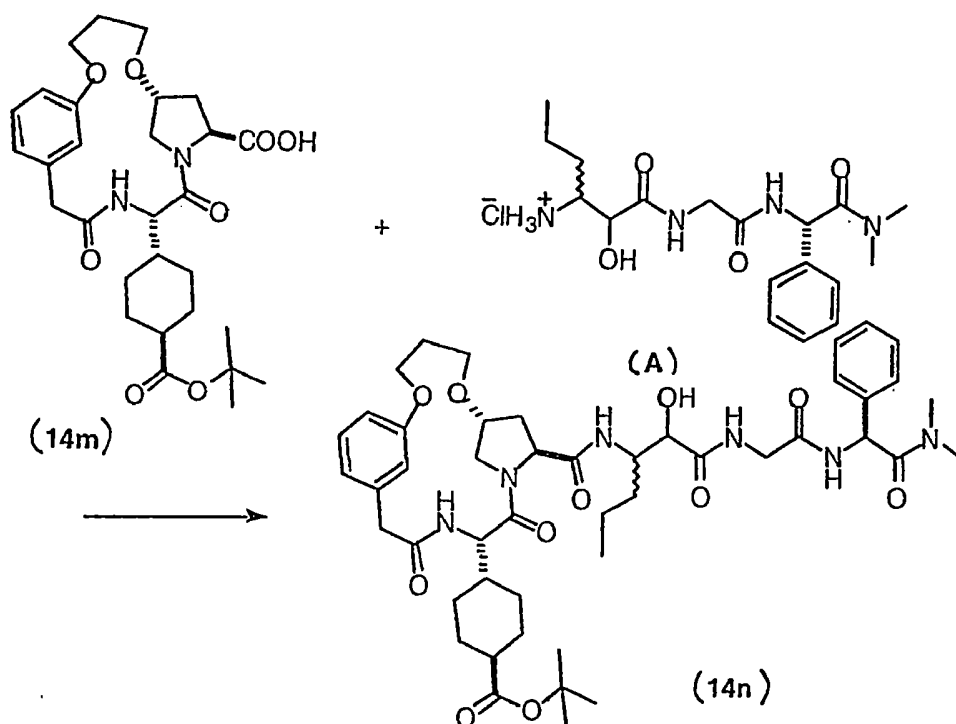
Na roztok alkoholu 14k (600 mg, 1,05 mmol) a ADDP (787 mg, 3,12 mmol, 3,0 ekvivalenty) v CH_2Cl_2 (30 ml) sa pôsobilo Ph_3P (818 mg, 3,12 mmol, 3,0 ekvivalenty) pod zvýšeným tlakom suchého N_2 pri 0°C . Reakčná zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote 24 hodín, skoncentrovala sa za vaku a zvyšok sa čistil pomocou chromatografie (SiO_2 , acetón/hexány 2:3), čím sa získala bezfarebná tuhá látka 14l (120 mg, 22 %) cyklického produktu; R_f 0,73 (acetón/hexány 1:1); ^1H NMR (CD_3OD , δ) 7,13 (t, 1H, $J = 7,8$ Hz), 6,76 (s, 1H), 6,71 (t, 2H, $J = 8,1$ Hz), 4,58 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 4,37 (dd, 1H, $J = 7,8, 2,7$ Hz), 4,23 - 4,11 (m, 4H), 3,74 - 3,61 (m, 2H), 3,66 (s, 3H), 3,59 - 3,40 (m, 2H), 2,54 - 2,41 (m, 1H), 2,19 - 2,10 (m, 1H), 1,98 - 1,42 (m, 10H), 1,43 (s, 9H); ^{13}C NMR (CD_3OD , δ) 175,6, 172,4, 172,1, 170,8, 159,0, 137,0, 129,1, 121,7, 115,7, 112,2, 94,8, 79,8, 77,4, 65,2, 64,0, 57,6, 55,2, 53,8, 51,3, 44,0, 41,5, 39,1, 33,3, 28,7, 28,1, 26,9; MS (elektro-rozprašovanie) 559 ($[\text{M}+1]^+$, 100) 327 (10), 189 (20); HRMS vypočítané pre $\text{C}_{30}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{O}_8$ ($\text{M}+1$) $^+$: 559,3019; Nájdene: 659,3025; CHN vypočítané pre $\text{C}_{30}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ C = 63,47 %, H = 7,63 %, N = 4,93 %; Nájdene C = 63,57 %, H = 7,46 %, N = 4,93 %.

Krok L



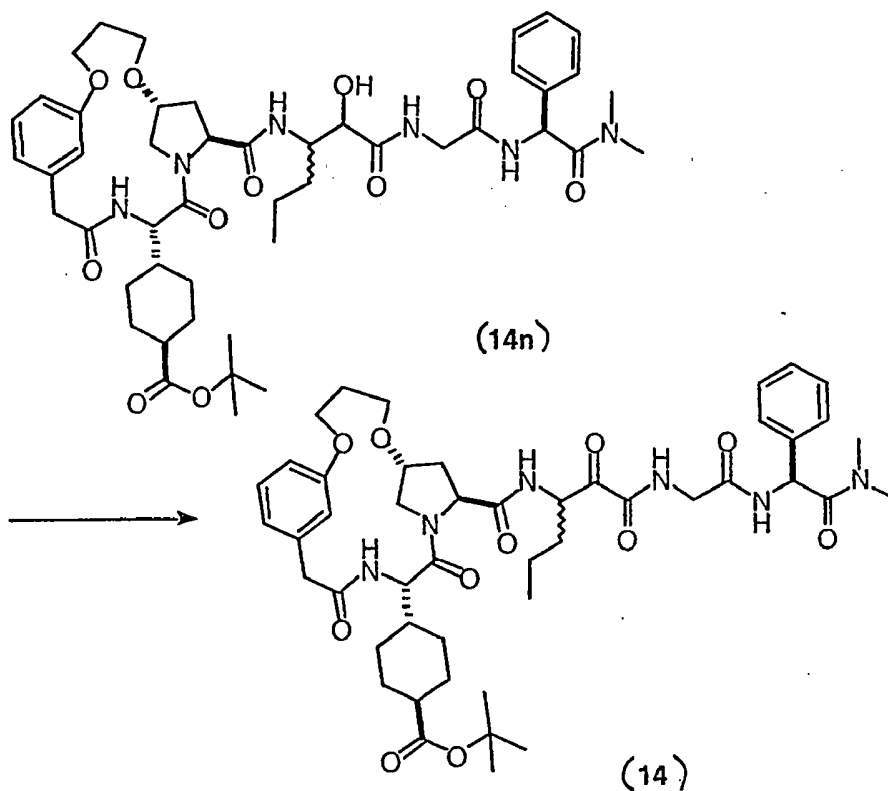
Na roztok metylesteru 14l (120 mg, 0,22 mmol) v THF (5,0 ml) a H₂O (1,0 ml) sa pôsobilo LiOH (20 mg, 0,5 mmol, 2,0 ekvivalent). Reakčná zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote počas 3 hodín a pridal sa CH₃OH (1,0 ml) a zmes sa premiešavala počas ďalšej 1 hodiny. Reakčná zmes sa premiešavala s HCl (4,0 mol/l v dioxáne, 1 ml) a skoncentrovala sa za vákua a voda sa lyofilizovala, čím sa získala bezfarebná tuhá látka 14m, ktorá bola použitá na následnú kopuláciu.

Krok M



Na roztok karboxylovej kyseliny 14m (110 mg, 0,21 mmol) v DMF (3,0 ml) a CH₂Cl₂ (5,0 ml) sa pôsobilo Hünigovou zásadou (109 mg, 0,84 mmol, 4,0 ekvivalenty 155,0 μ l) a HOOBt (52 mg, 0,315 mmol, 1,5 ekvivalentu). Reakčná zmes sa ochladila na 0 °C a pôsobilo sa na ňu EDCI (61 mg, 0,31 mmol, 1,5 ekvivalentu). Reakčná zmes sa premiešavala pri 0 °C a pôsobilo sa na ňu amín hydrochloridom A 30 minút. Reakčná zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote počas 24 hodín a skoncentrovala sa za vákua, čím sa odstránil DMF a CH₂Cl₂. Zvyšok sa zriedil vodným roztokom HCl (100 ml) a extrahoval s CH₂Cl₂ (3x 75 ml). Spojené organické vrstvy sa extrahovali vodným roztokom NaOH (1 mol/l, 3x 50 ml), soľankou (100 ml) a skoncentrovali sa za vákua. Zvyšok - produkt 14n (79 mg) sa oxiduje bez ďalšieho čistenia.

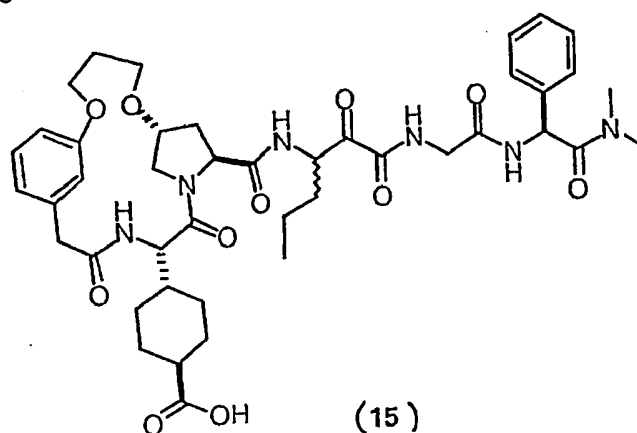
Krok N



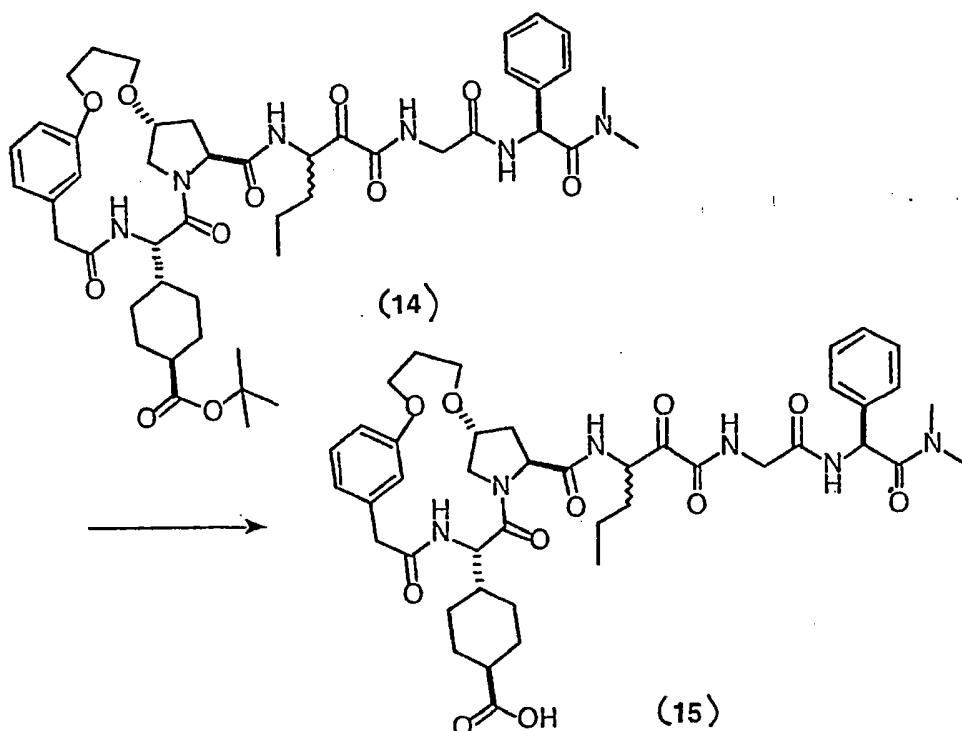
Na roztok alkoholu 14n (79 mg, 88 μ mol) v CH_2Cl_2 (4,0 ml) sa pôsobilo Dess-Martinovým činidlom (110 mg, 0,25 mmol, 2,5 ekvivalentu). Reakčná zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote počas 3 hodín a zmes sa skoncentrovala za vákua. Zvyšok sa čistil pomocou chromatografie (SiO_2 , acetón/hexány 1:1), čím sa získal oxidovaný produkt 14 (29 mg, 38 %) ako bezfarebná tuhá látka; MS (FAB) 869 $[(M+1)^+$, 100), 844 (20), 833 (60), 788 (30), 760 (10), 655 (10), 527 (20); HRMS vypočítané pre $\text{C}_{47}\text{H}_{65}\text{N}_6\text{O}_{11}$: 889,4711; Nájdené: 889,4732.

Príklad

Príprava zlúčeniny 15



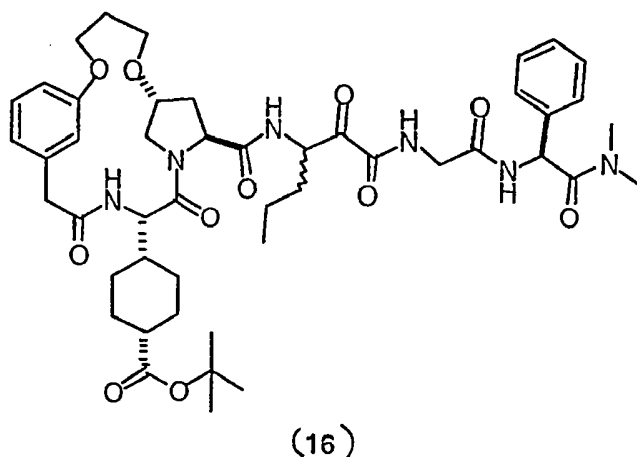
Krok A



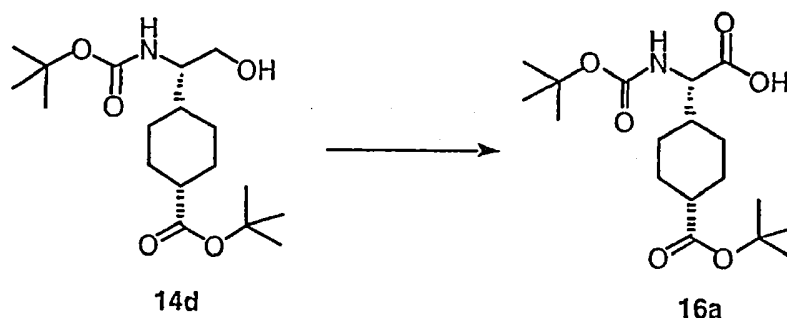
Na roztok *tert*-butyl-esteru 14 (20,0 mg, 22,0 mmol) sa pôsobilo TFA/CH₂Cl₂ (1:1, 4 ml) a zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote počas 4 hodín. Vymiznutie esteru na základnú líniu bol sledované pomocou TLC (CH₃OH/CH₂Cl₂ 1:24). Po úplnom odstránení ochranných skupín sa reakčná zmes skoncentrovala za vákua a na zvyšok sa opakovane pôsobilo zmesou CH₂Cl₂/hexány, ktorý sa potom skoncentroval, čím sa získala biela tuhá látka 15 (19 mg, 100 %); MS (Elektro-rozprašovanie) 833 ([M+1]⁺, 60), 661 (10), 530 (40), 391 (75), 279 (100).

Príklad 16

Príprava zlúčeniny 16

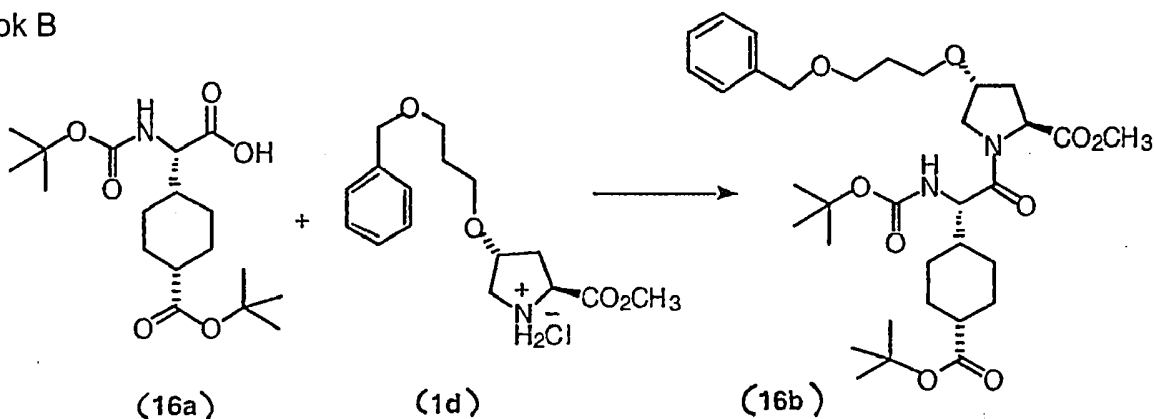


Krok A



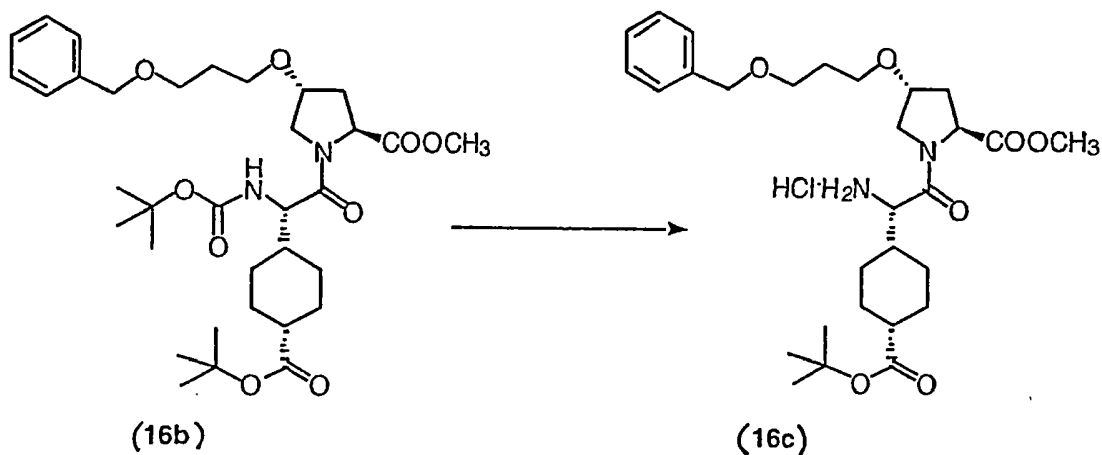
Požadovaná zlúčenina 16a sa pripravila z produktu 14d v 70% výťažku podľa postupu z Príkladu 14 Krok F. Použila sa v kopuláciách bez ďalšieho čistenia; MS (FAB): 380,2 ($[M+Na]^+$, 30) 358 ($[M+1]^+$, 5), 302 (20), 258 (20), 246 (100), 202 (70), 200 (20); HRMS vypočítané pre $C_{18}H_{32}NO_6$ ($M+1$) $^+$: 358,2230; Nájdené: 358, 2237.

Krok B



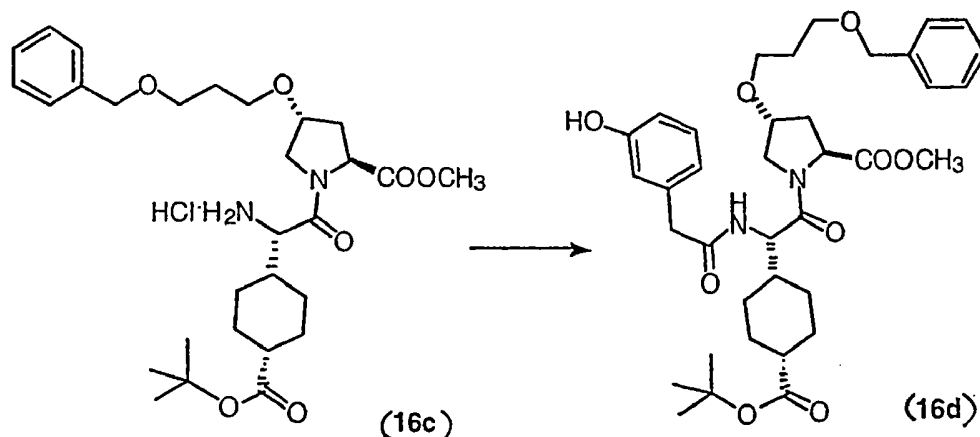
Požadovaná zlúčenina 16b sa pripravila z produktu 16a v 41% výťažku podľa postupu z Príkladu 14 Krok G; $[\alpha]_D$ -52,7 (c 0,3 $CHCl_3$, 25); 1H NMR ($CDCl_3$, δ) 7,35 - 7,21 (m, 5H), 6,63 (d, 1H, $J = 9,3$ Hz), 4,46 (d, 2 H, $J = 4,3$ Hz), 4,41 (t, 1H, $J = 9,3$ Hz), 4,38 - 4,07 (m, 3H), 3,68 (s, 3H), 3,60 - 3,43 (m, 5H), 2,45 (p, 1H, $J = 4,2$ Hz), 2,32 (dd, 1H, $J = 7,8, 5,7$ Hz), 2,02 - 1,90 (m, 3H), 1,90 - 1,56 (m, 3H), 1,56 - 1,24 (m, 24H); ^{13}C NMR (CD_3OD , δ) 174,7, 172,4, 172,0, 156,4, 138,4, 128,0, 127,5, 127,4, 79,8, 79,0, 77,5, 72,5, 66,6, 65,3, 58,0, 55,3, 52,1, 51,3, 40,4, 38,6, 34,7, 29,7, 27,4, 27,03, 26,1, 24,5, MS (FAB) 633,2 ($[M+1]^+$, 100); HRMS vypočítané pre $C_{34}H_{53}N_2O_9$ ($M+1$) $^+$: 633,3751; Nájdené 633,3759.

Krok C



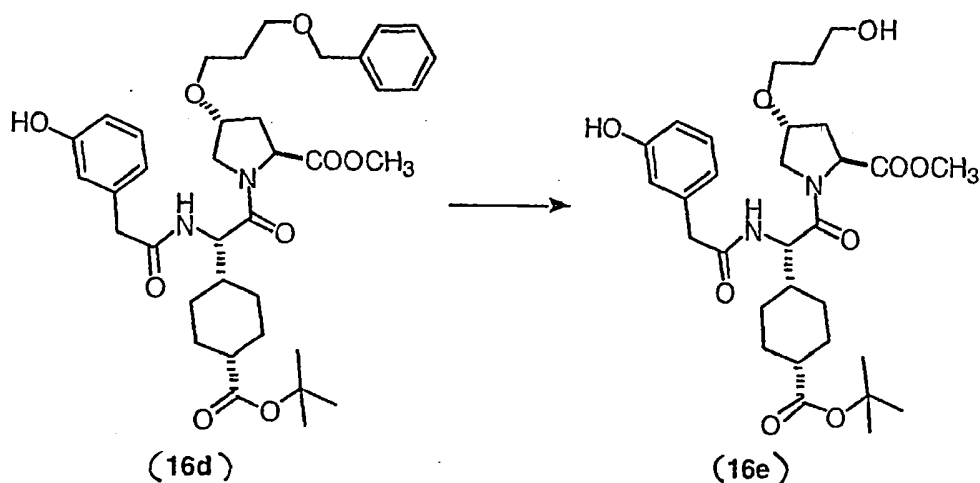
Požadovaná zlúčenina 16c sa pripravila z produktu 16b podľa postupu z Príkladu 14 Krok H. Produkt bol použitý bez ďalšieho čistenia.

Krok D



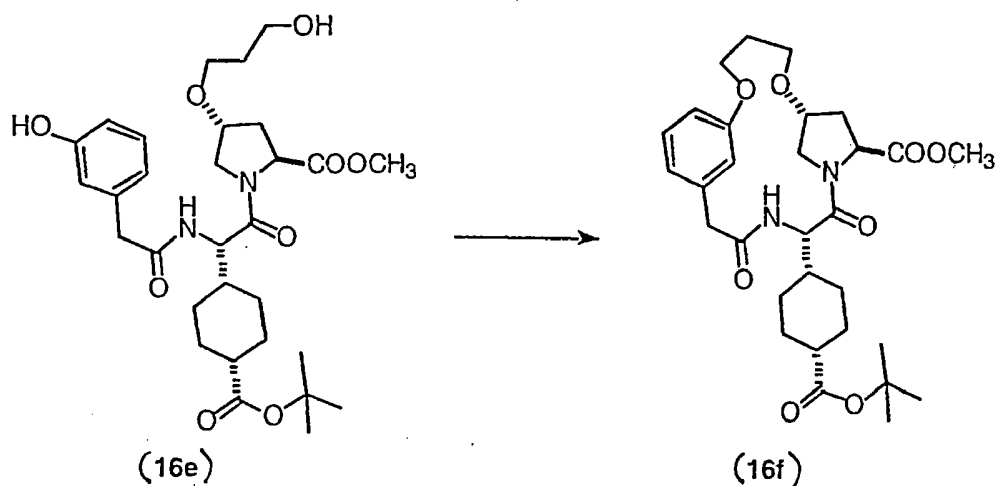
Požadovaná zlúčenina 16d sa pripravila z produktu 16c v 41% výťažku podľa postupu z Príkladu 14 Krok I. ^1H NMR (CHCl_3 , δ) 7,34 - 7,26 (m, 5H), 7,12 (t, 1H, $J = 7,5$ Hz), 6,72 - 6,67 (m, 3H), 4,76 - 4,64 (m, 1H), 4,47 (s, 2H), 4,51 - 4,42 (m, 1H), 4,11 - 4,02 (m, 2H), 3,68 (s, 3H), 3,70 - 3,65 (m, 1H), 3,55 - 3,43 (m, 6H), 2,54 - 2,42 (m, 1H), 2,28 - 2,39 (m, 1H), 2,1 - 1,9 (m, 3H), 1,86 - 1,64 (4 H), 1,50 - 1,35 (m, 14H); ^{13}C NMR (ODCl_3 , δ) 175,0, 172,4, 171,5, 171,1, 157,1, 138,5, 136,0, 130,1, 128,5, 127,9, 127,7, 121,0, 116,0, 114,8, 80,5, 77,6, 73,0, 66,9, 66,2, 58,2, 54,3, 52,5, 52,3, 43,4, 39,4, 39,9, 34,9, 30,0, 28,2, 26,8, 26,6, 26,0, 24,0; MS (FAB) 689 $[(\text{M}+\text{Na})^+]$, 35), 667 $[(\text{M}+\text{H})^+]$, 23), 633 (5), 294 (100), 204 (39), 156 (63).

Krok E



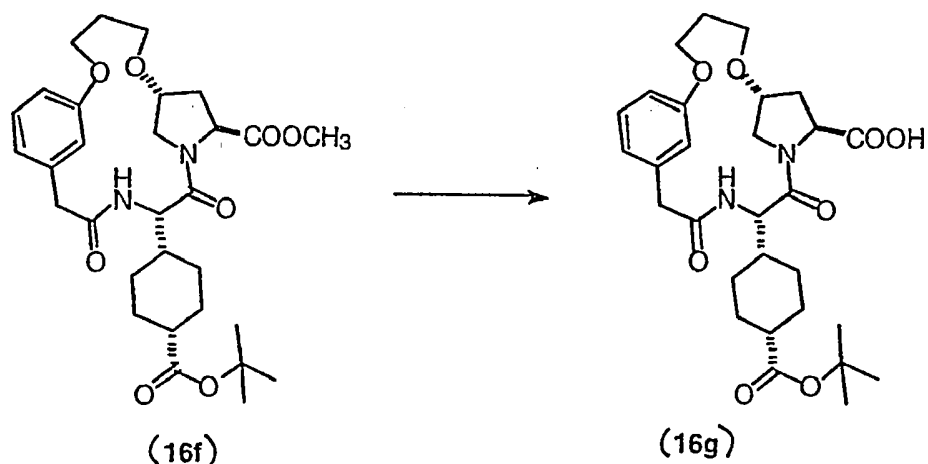
Požadovaná zlúčenina 16e sa pripravená z produktu 16d podľa postupu z Príkladu 14 Krok J. Produkt bol použitý bez ďalšieho čistenia.

Krok F



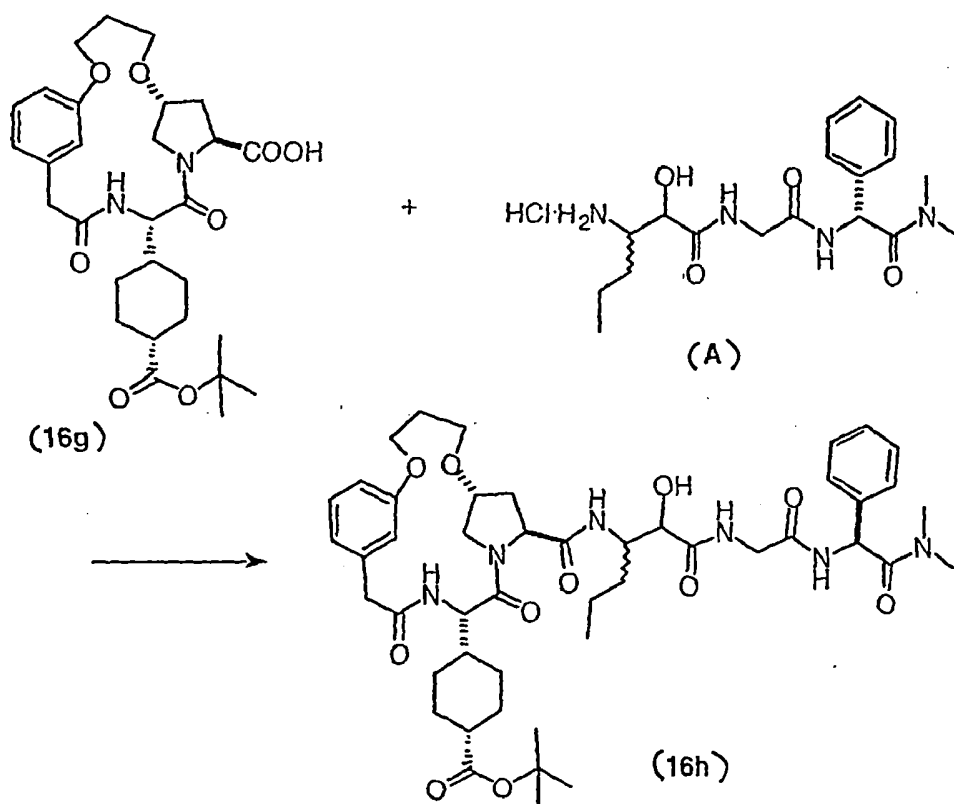
Požadovaná zlúčenina 16f sa pripravila z produktu 16e v 20% výťažku podľa postupu z Príkladu 14 Krok K. ^1H NMR (CDCl_3 , δ) 8,56 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz), 7,14 (t, 1H, $J = 6$ Hz), 6,86 (s, 1H), 6,66 (d, 1H, $J = 6$ Hz), 6,73 (dd, 1H, $J = 6,3, 15$ Hz), 4,86 - 4,77 (m, 1H), 4,40 (dd, 1H, $J = 3,0, 2,7\text{Hz}$), 4,24 - 4,13 (m, 4H), 3,70 (s, 3H), 3,70 - 3,66 (m, 2H), 3,66 - 3,32 (m, 3H), 2,53 (dd, 1H, $J = 5,7, 3,9$ Hz), 2,45 - 2,42 (m, 1H), 1,99 - 1,80 (m, 6H), 1,60 - 1,57 (m, 4H), 1,45 - 1,43 (m, 11H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , δ) 175,8, 173,3, 173,0, 171,7, 160,0, 138,0, 130,1, 122,7, 116,8, 113,3, 81,0, 78,6, 66,3, 65,2, 58,8, 55,1, 52,5, 42,6, 42,4, 38,9, 34,6, 30,0, 28,2, 28,0, 27,0, 26,9, 26,8, 26,2; MS (FAB) 559 (M^+ , 33), 327 (33), 225 (100)

Krok G



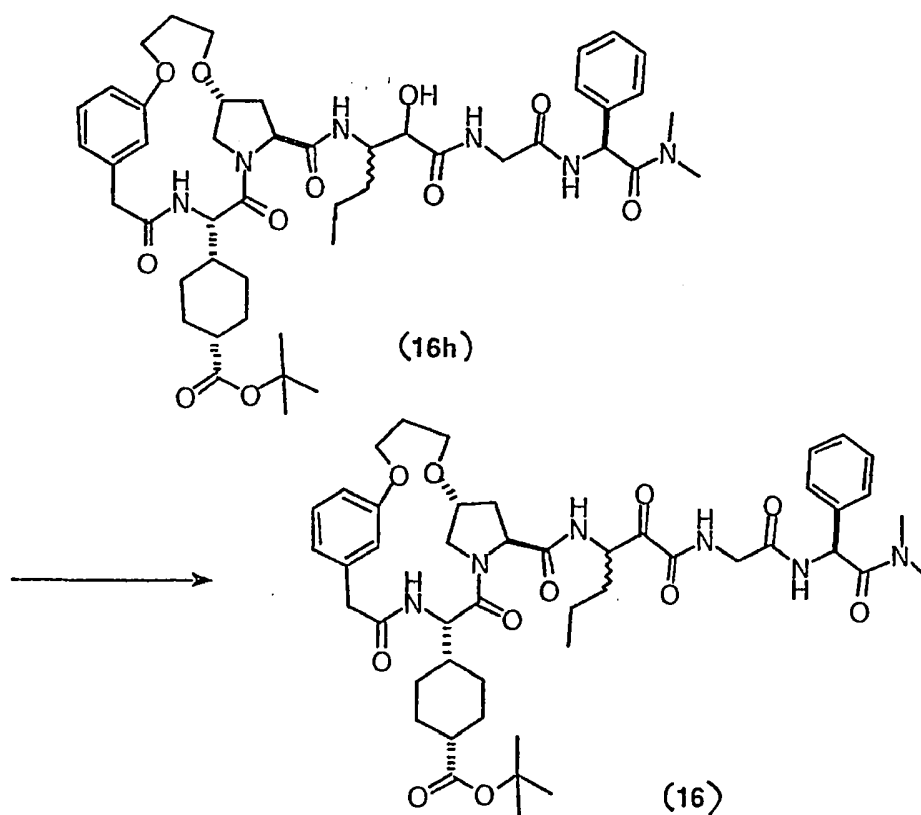
Požadovaná zlúčenina 16g sa pripravila z produktu 16f podľa postupu z Príkladu 14 Krok H. Produkt bol použitý bez ďalšieho čistenia.

Krok H



Požadovaná zlúčenina 16h sa pripravila z produktu 16g a A podľa postupu z Príkladu 14 Krok L. Produkt bol použitý bez ďalšieho čistenia.

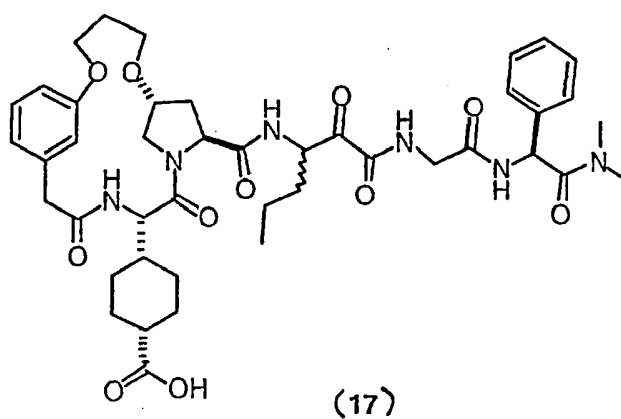
Krok I

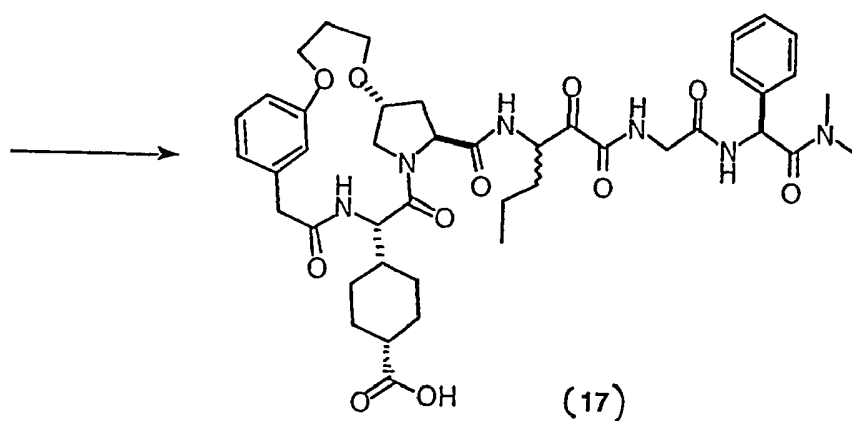
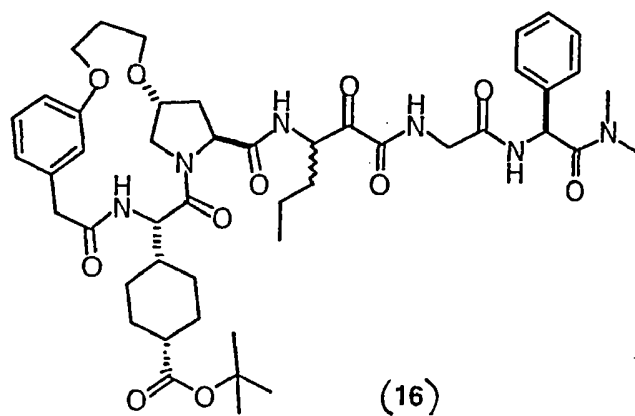


Požadovaná zlúčenina 16 sa pripravila ako bezfarebná tuhá látka z produktu 16h v 40% výťažku podľa postupu z Príkladu 14 Krok N. MS (elektro-rozprašovanie) 889 $[(M+1)^+$, 85), 637 (20), 530 (75), 265 (100); HRMS vypočítané pre $C_{47}H_{65}N_6O_{11}$: 889,4711; Nájdené 889,4699.

Príklad 17

Príprava zlúčeniny 17

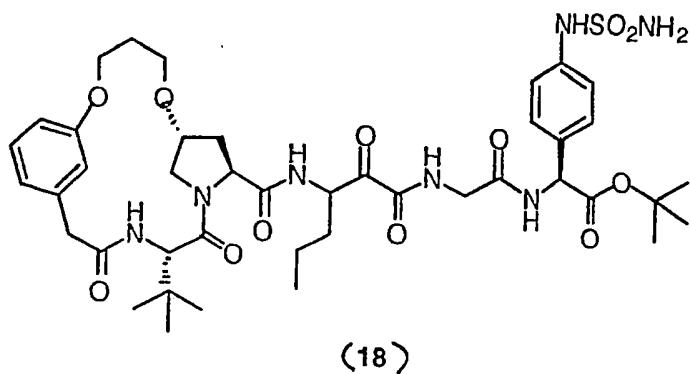




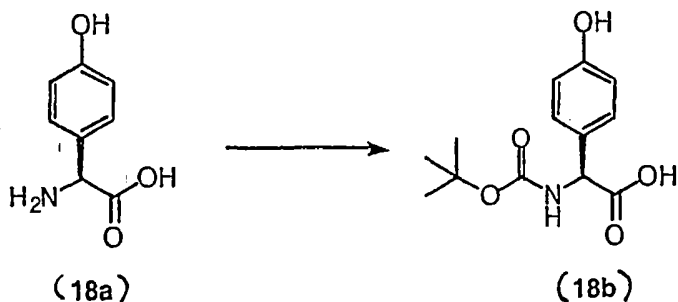
Požadovaná zlúčenina 17 sa pripravila z produktu 16 kvantitatívne podľa postupu z Príkladu 15 Krok A. MS (FAB) 833 [(M+1)⁺, 100], 788 (10), 723 (5), 308 (100).

Príklad 18

Príprava zlúčeniny vzorca 18

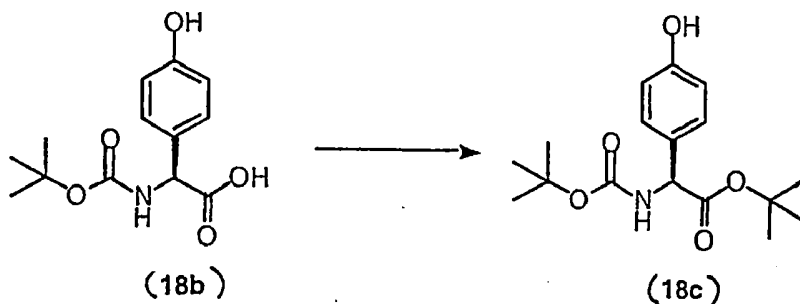


Krok A



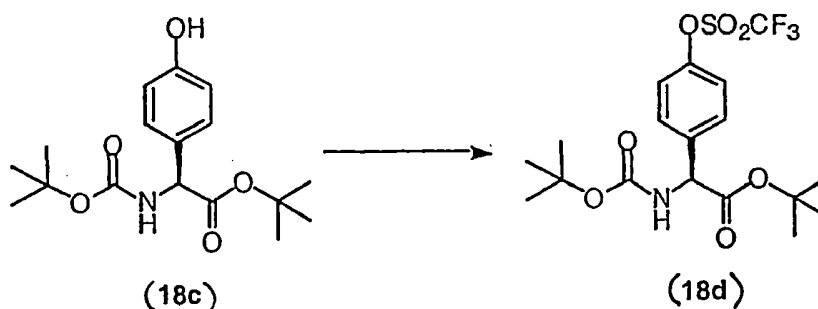
Do studenej (0 °C) kaše 18a (15,0 g, 90 mmol) v dioxáne (100 ml), vody (100 ml) a nasýteného roztoku hydrogenuhličitanu sodného (100 ml) sa pridal roztok *tert*-butoxykarbonyl-anhydridu (7,2 g, 33 mmol) v dioxáne (100 ml). Reakčná zmes sa pomaly zahriala na okolitú teplotu počas 6 hodín. Reakčná zmes sa skoncentrovala za vákua. Zvyšok sa zriedil vodou a extrahoval dietyléterom (2x 150 ml). Éterová vrstva sa vyhodila. Vodná vrstva sa okyslila pomaly s tuhou kyselinou citrónovou (pH 4) a extrahovala sa s etylacetátom (3x 150 ml). Organická vrstva sa vysušila (Na₂SO₄) a skoncentrovala za vákua, čím sa získal produkt 18b (14,6 g, 61% výťažok) ako biela pena.

Krok B



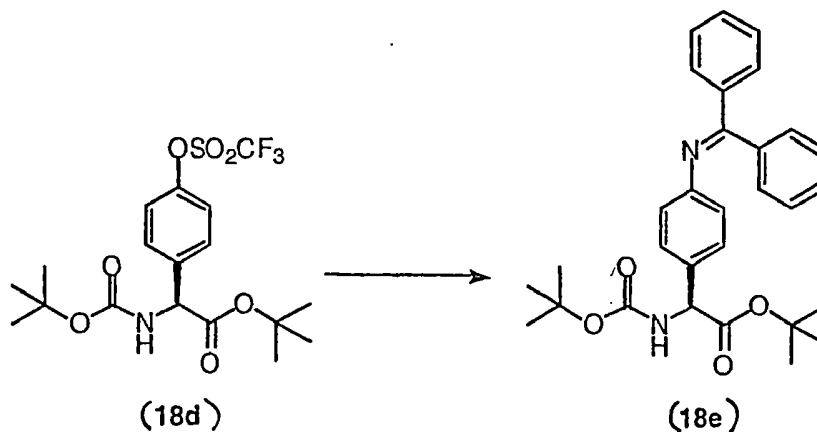
Do 80 °C roztoku 18b (14,6 g, 54,68 mmol) v toluéne (230 ml) sa pridával DMF-di-*tert*-butylacetál (53 ml, 218,72 mmol) po kvapkách počas 2 hodín. Po skončení pridávania sa reakčná zmes udržiavala pri rovnakej teplote 1 hodinu. Potom sa ochladila na okolitú teplotu a skoncentrovala sa. Zvyšok sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 96/4 až 90/10 dichlórmetán/etylacetát, čím sa získala požadovaná zlúčenina 18c (7,53 g, 43% výťažok). HRMS (FAB) vypočítané pre C₁₇H₂₆NO₅: 324,1811 (M+H)⁺. Nájdené: 324,1807.

Krok C



Do studeného (0 °C) roztoku 18c (7,5 g, 23,22 mmol) v dichlórmetáne (100 ml) sa pridával trietylamín (7,12 ml, 51,08 mmol), po čom nasleduje po kvapkách trifluórmétánsulfónanahydrid (4,30 ml, 25,54 mmol). Reakčná zmes sa pomaly zahriala na okolitú teplotu počas 4 hodín. Reakcia sa zastavila nasýteným roztokom hydrogénuhličitanu a extrahovala sa do dichlórmetánu. Spojené organické vrstvy sa premyli nasýteným hydrogénuhličitanom a soľankou, vysušili sa (Na_2SO_4) a skoncentrovali. Hnedý zvyšok sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím dichlórmetánu, čím sa získalo 7,74 g zlúčeniny 18d (73 % výťažok).

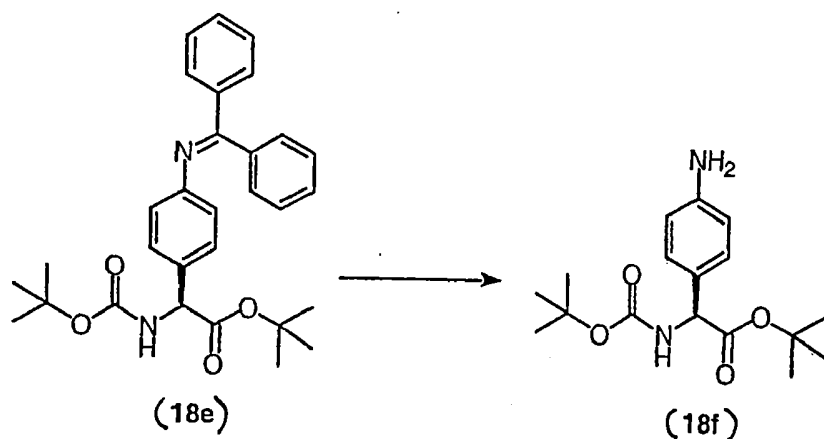
Krok D



Do v sušiarni vysušenej banky sa pridal THF (75 ml, vopred zbavený kyslíka pomocou prebubľania argónom), octan paládnatý (74 mg, 0,33 mmol), R-(+)-BINAP (311 mg, 0,495 mmol) a uhličitan cézny (5,38 g, 16,5 mmol) pod argónovou atmosférou. Do tejto zmesi sa pridával produkt 18d (5,0 g, 11 mmol), po čom nasleduje difenylketimín (2,77 ml, 16,5 mmol). Banka sa prepláchlala argónom a zahrievala pod refluxom 12 hodín (počas noci). Reakčná zmes ochladená na okolitú teplotu sa zriedila éterom (500 ml). Organická vrstva sa premyla nasýteným

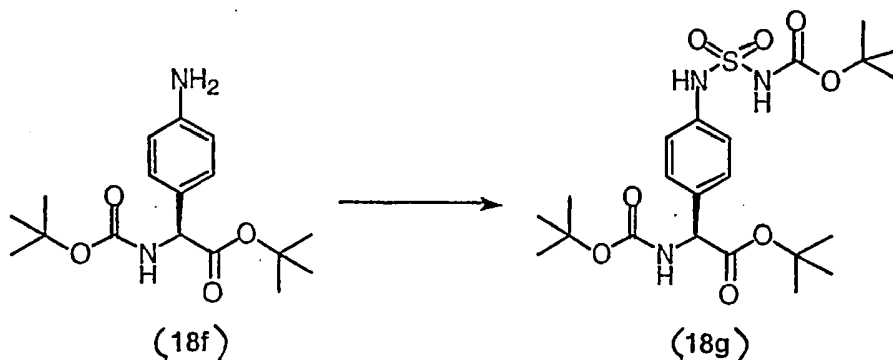
roztokom chloridu amónneho (2x 300 ml), vysušila sa (Na_2SO_4) a skoncentrovala. Čistenie pomocou rýchlej chromatografie použitím zmesi 100/0 až 90/10 dichlórmetán/etylacetát poskytlo požadovaný produkt 18e (3,58 g) v 67% výťažku.

Krok E



Do roztoku 18e (3,0 g, 6,17 mmol) v metanole (62 ml) sa pridal octan sodný (1,218 g, 14,8 mmol) a hydroxylamín hydrochlorid (0,774 g, 11,11 mmol). Reakčná zmes sa premiešavala pri okolitej teplote 3 hodiny. Reakčná zmes sa skoncentrovala, zriedila dichlórmetánom a premyla s 0,1 mol/l NaOH roztokom. Organická vrstva sa vysušila (Na_2SO_4) a skoncentrovala. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 95/5 až 92/8 dichlórmetán/etylacetát poskytlo produkt 18f (1,31 g) v 66% výťažku.

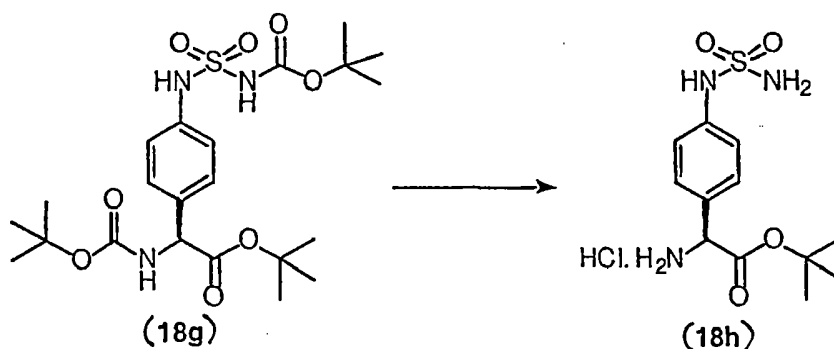
Krok F



Do studeného ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) roztok dichlórmetánu (2 ml) sa pridal chlór-sulfonyl-izokyanát (0,16 ml, 1,87 mmol). K nemu sa pridal *tert*-butanol (0,18 ml; 1,87 mmol)

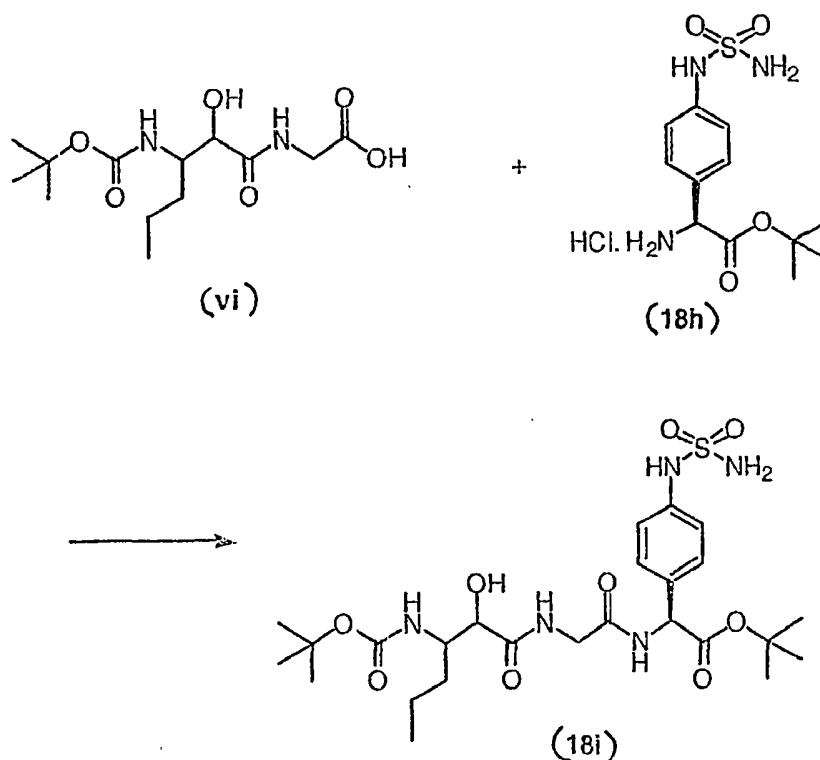
v dichlórmetáne (2 ml) a zmes sa pomaly zahrievala na 0 °C 2,5 hodiny. V tomto čase sa po kvapkách pridal roztok produktu 18f (0,6 g, 1,87 mmol) v dichlórmetáne (6 ml), ktorý obsahoval trietylamín (0,52 ml, 3,73 mmol). Reakčná zmes sa zahriala na okolitú teplotu počas 12 hodín (počas noci). Pridal sa nasýtený hydrogenuhličitan a dichlórmetán a organická vrstva sa oddelila, vysušila sa (Na_2SO_4) a skoncentrovala. Čistenie pomocou rýchlej chromatografie použitím zmesi 95/5 až 90/10 dichlórmetán/etylacetát poskytlo produkt 18g (0,59 g) v 63% výťažku.

Krok G



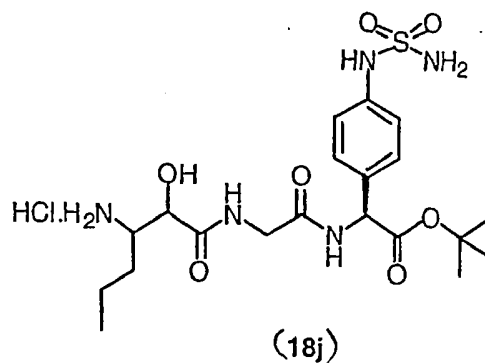
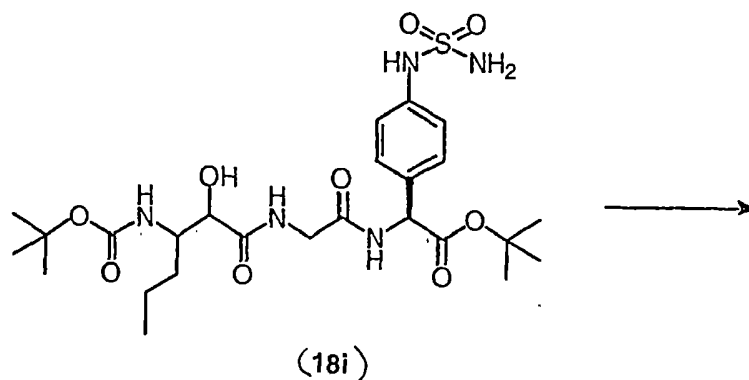
Očakávaný produkt 18h sa syntetizovaný tak, ako je opísané skôr v Príklade 1 Krok C. Tento materiál sa preniesol do nasledujúceho kroku bez úpravy.

Krok H



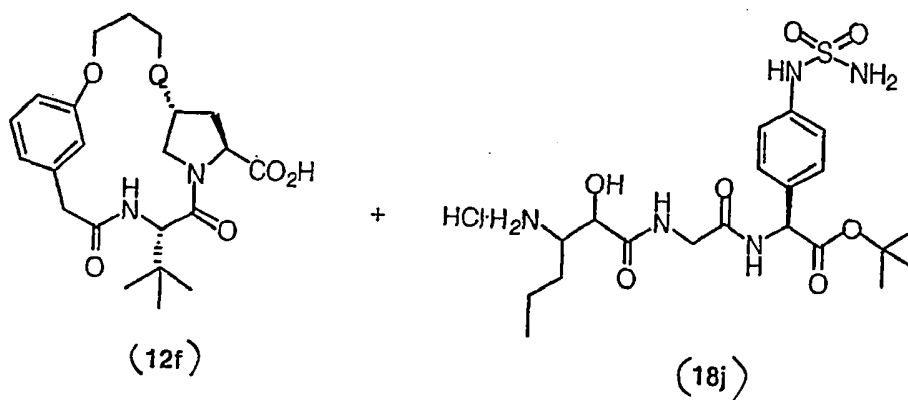
Očakávaný produkt 18i sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 1
Krok D. Surový materiál sa čistil pomocou rýchlej chromatografie použitím zmesi 98/2 až 90/10 dichlórmetán/metanol, čím sa získal produkt 18i v 34% výťažku.

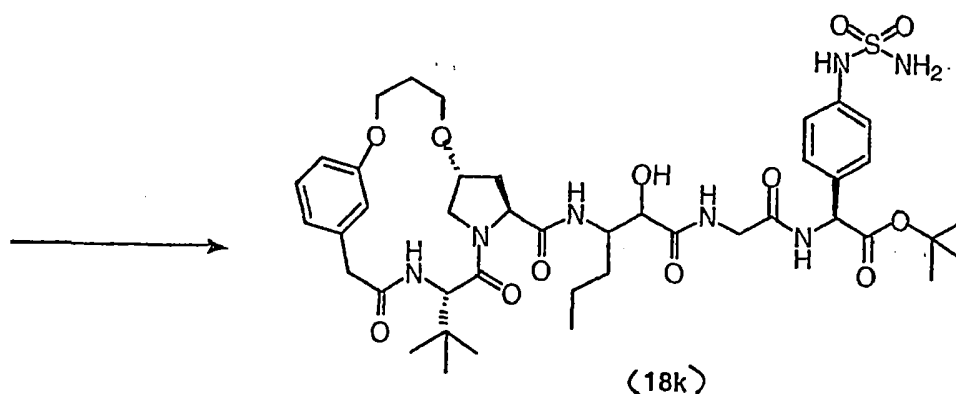
Krok I



Očakávaný produkt 18j sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 1
Krok C. Tento materiál sa preniesol do nasledujúceho kroku bez úpravy.

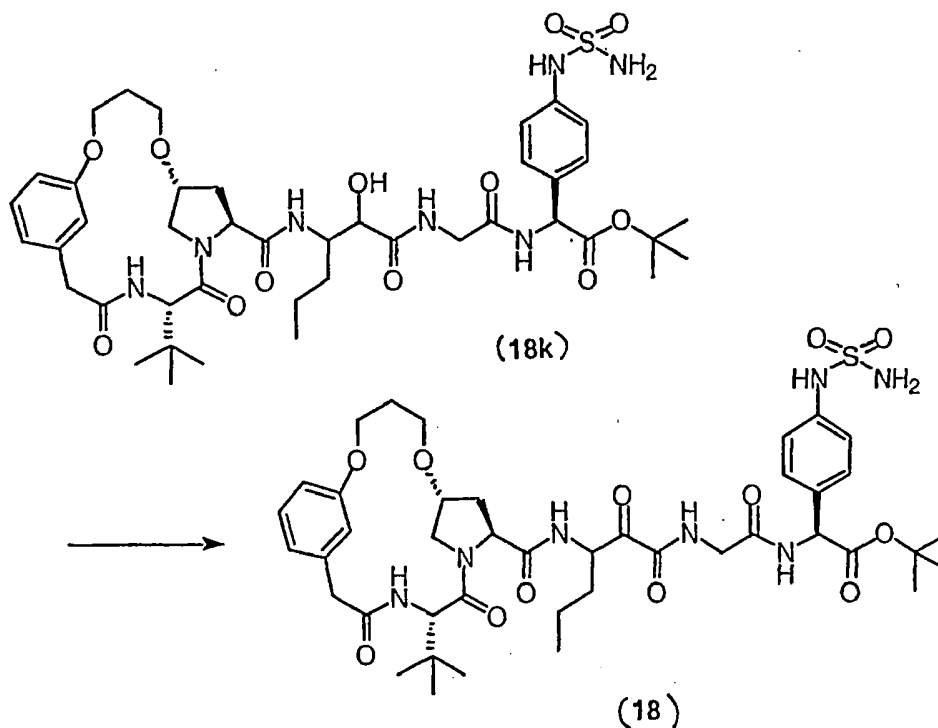
Krok J





Očakávaný produkt 18k sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 1 Krok J. Tento materiál po spracovaní bol dostatočne čistý na to, aby sa preniesol do nasledujúceho kroku.

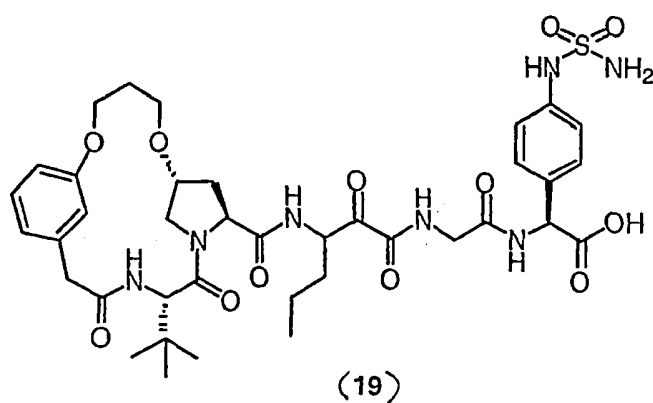
Krok K



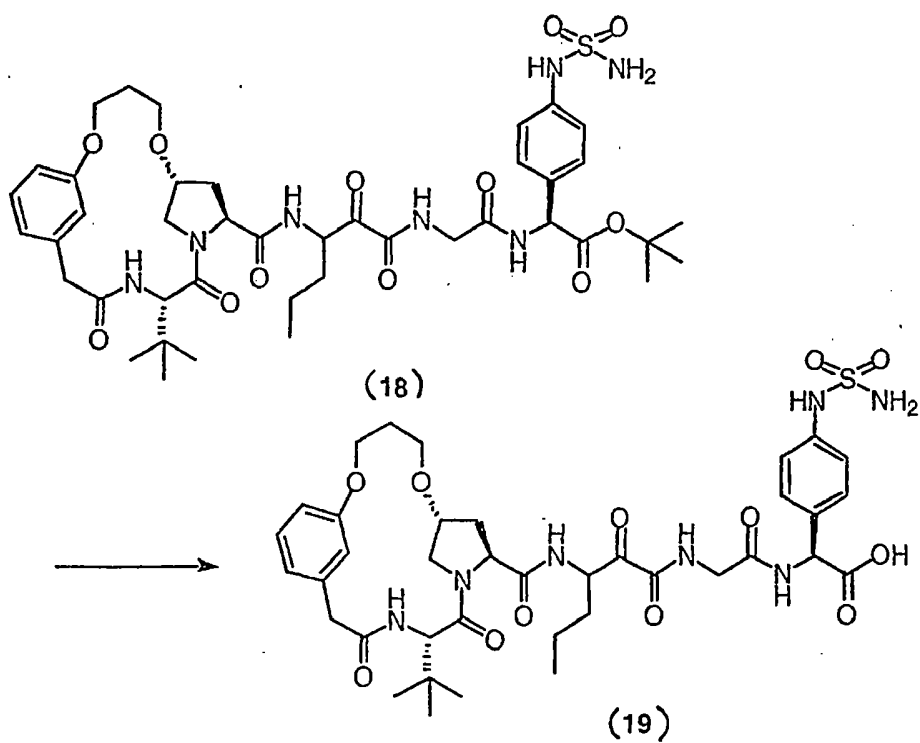
Požadovaný produkt 18 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 až 92/8 dichlórmetán/MeOH poskytlo produkt 11 ako zmes diastereomérov v 13% výťažku (pre 2 kroky).

Príklad 19

Príprava zlúčeniny vzorca 19



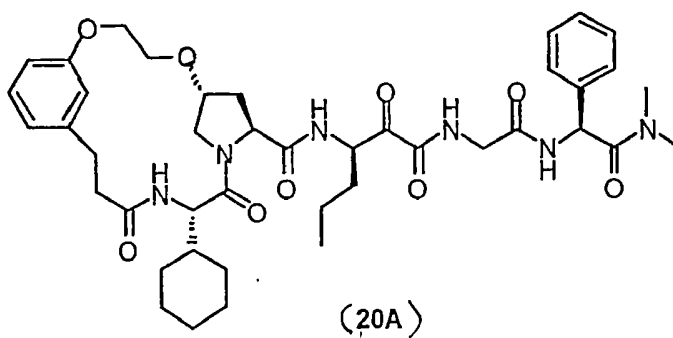
Krok A

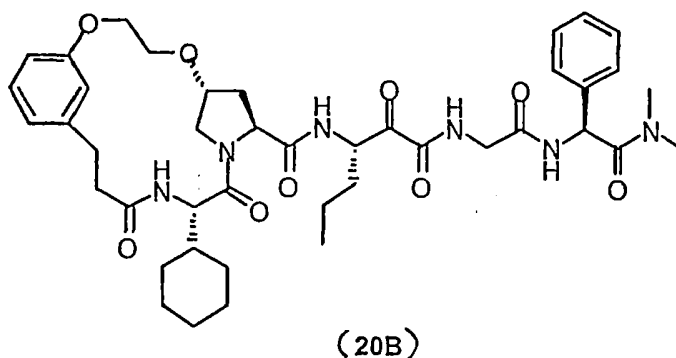


Očakávaný produkt 19 sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 3 Krok A v kvantitatívnom výťažku.

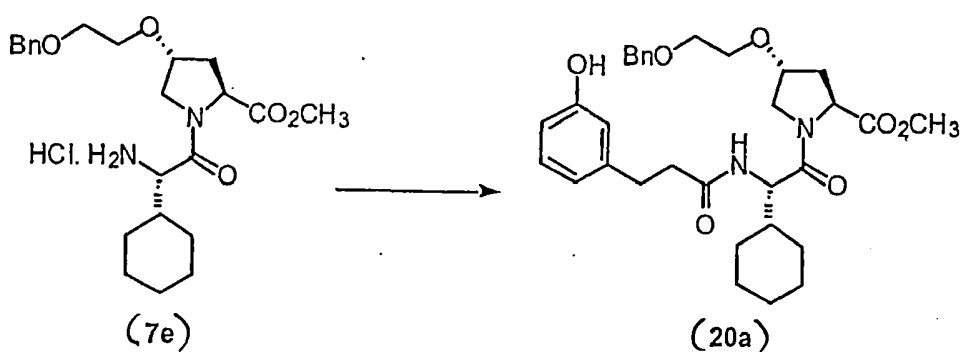
Príklad 20

Príprava zlúčenín vzorcov 20A a 20B



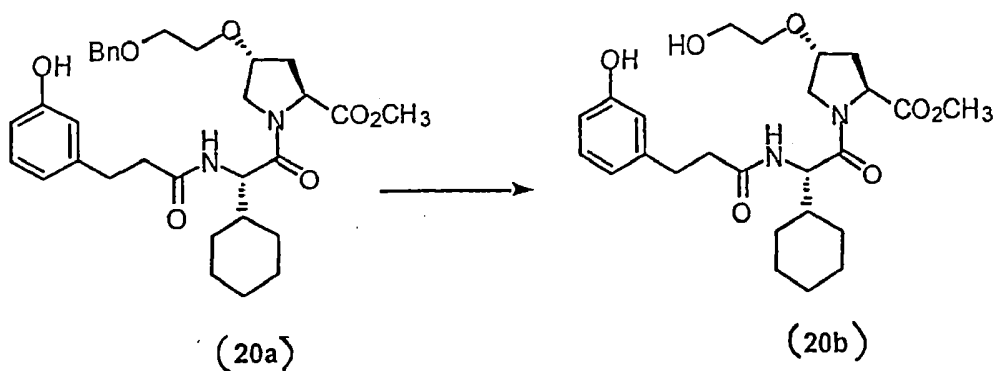


Krok A



Požadovaný produkt 20a sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok F. Tento materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 dichlórmetán/metanol, čím sa získal produkt 20a v 97% výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{32}H_{43}N_2O_7$: 567,3070 ($M+H$)⁺. Nájdene: 567,3073.

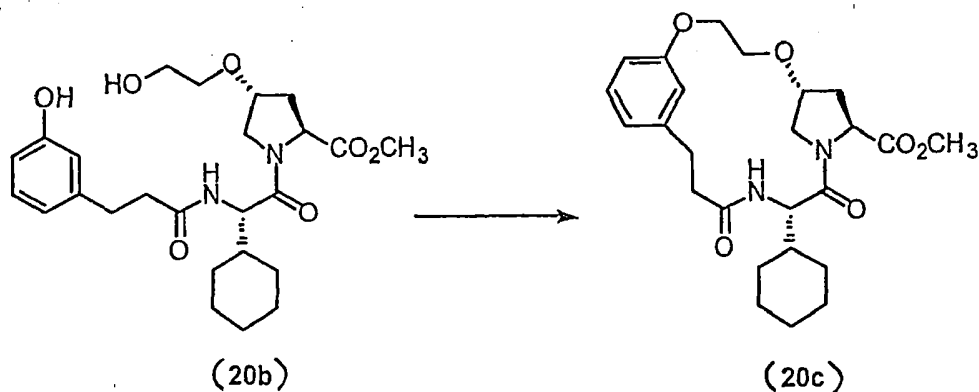
Krok B



Požadovaný produkt 20b sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok G. Tento materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 až 96/4 dichlórmetán/metanol, čím sa získal produkt 20b v

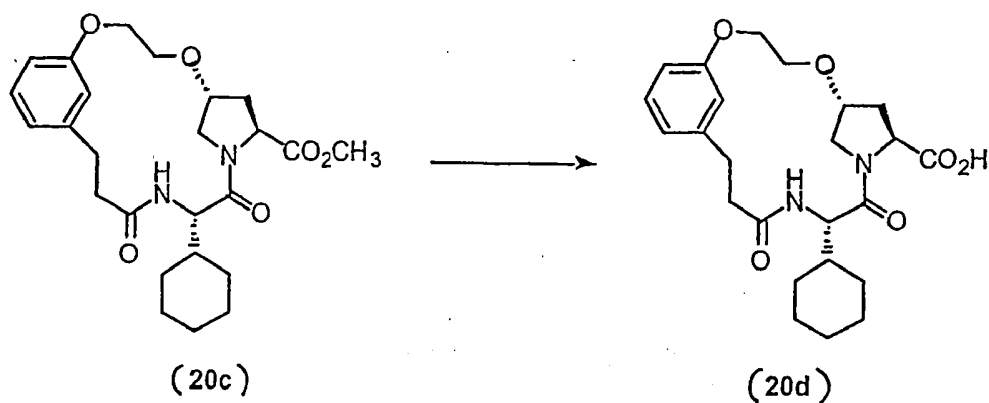
81% výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{25}H_{37}N_2O_7$: 477,2601 ($M+H$)⁺. Nájdené: 477,2606.

Krok C



Požadovaný produkt 20c sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok H. Čistenie pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 99/1 dichlórmetán/metanol poskytlo 20c spolu s trifenylfosfínoxidom. Táto zmes sa vzala do nasledujúceho kroku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{25}H_{35}N_2O_6$: 459,2495 ($M+H$)⁺. Nájdené: 459,2490.

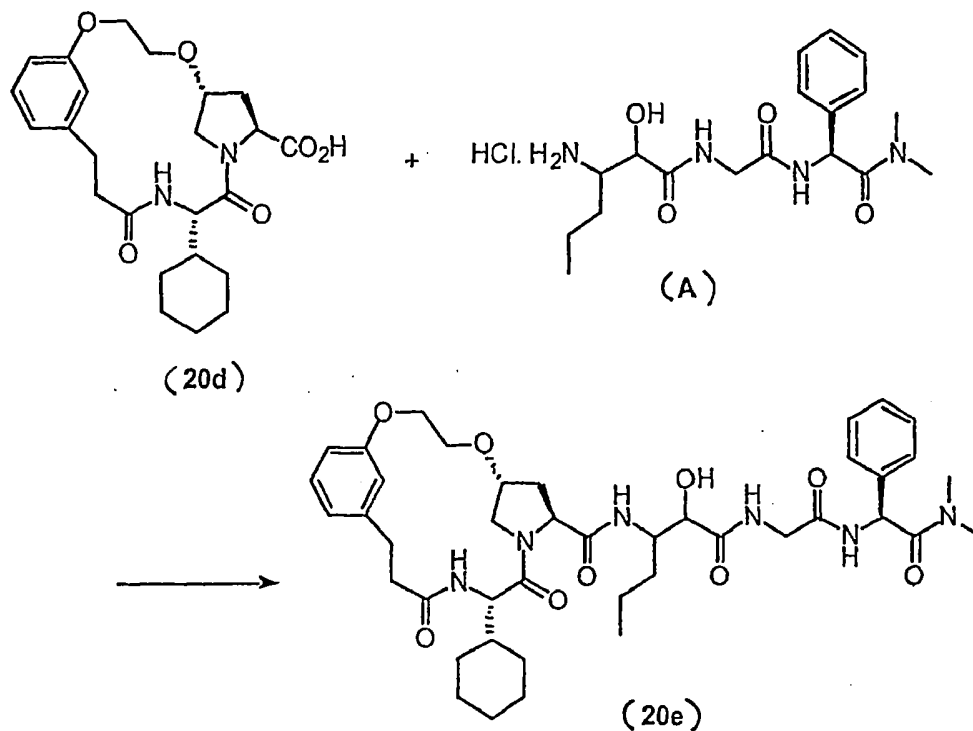
Krok D



Požadovaný produkt 20d sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok I. Výťažok produktu 20d (pre 2 kroky) = 23 %. ¹H NMR (DMSO-d₆) 0,84 (m, 2H), 1,10 (m, 3H), 1,56 - 1,67 (m, 6H), 1,75 - 1,81 (m, 1H), 2,32 - 2,49 (m, 3H), 2,55 - 2,59 (m, 1H), 2,94 (dt, 1H), 3,50 (dd, 1H), 3,56 - 3,65 (m, 2H), 3,99 (dd, 1H), 4,06 - 4,23 (m, 4H), 4,37 (t, 1H), 6,64 - 6,74 (m, 3H), 7,08 (zdanlivý t, 1H), 7,95 (d, 1H), 12,30 (široký s, 1H); ¹³C NMR δ (DMSO-d₆) 25,25, 25,97, 28,30, 28,55, 30,61,

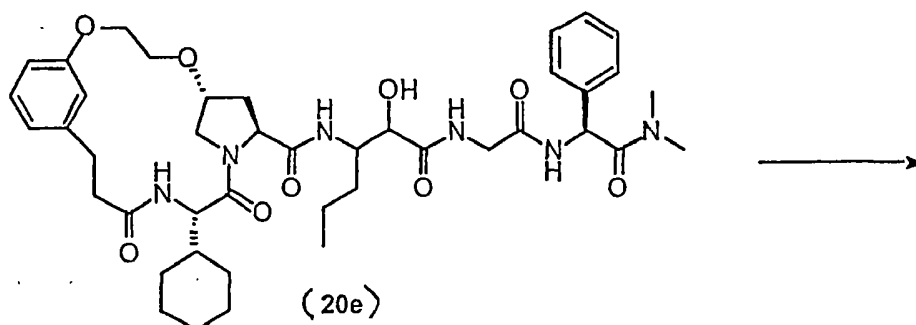
33,77, 36,04, 39,41, 52,52, 54,02, 57,22, 66,38, 68,03, 77,49, 114,75, 115,37, 121,14, 128,86, 142,66, 158,92, 169,87, 170,83, 172,99; HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{24}H_{33}N_2O_6$: 445,2339 ($M+H$)⁺. Nájdené: 445,2343.

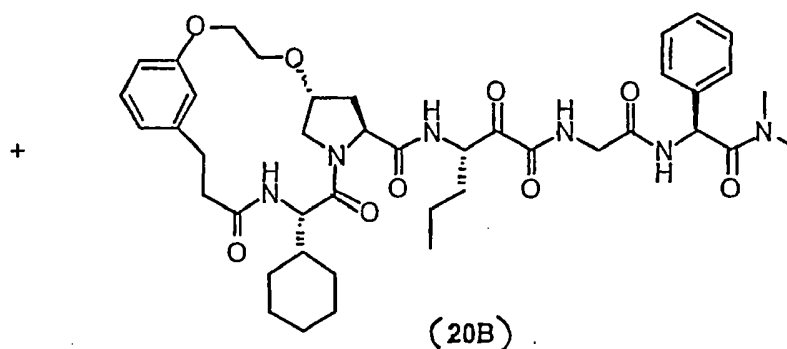
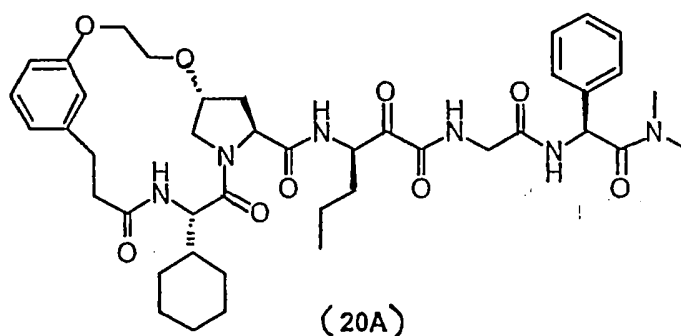
Krok E



Očakávaný produkt 20e sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 1 Krok J. Tento materiál po spracovaní bol dostatočne čistý na to, aby sa preniesol do nasledujúceho kroku.

Krok F

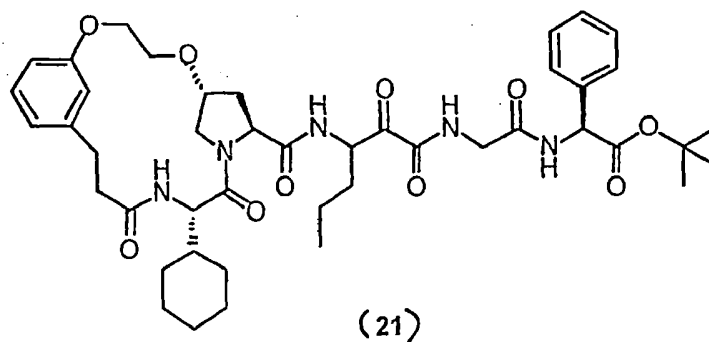




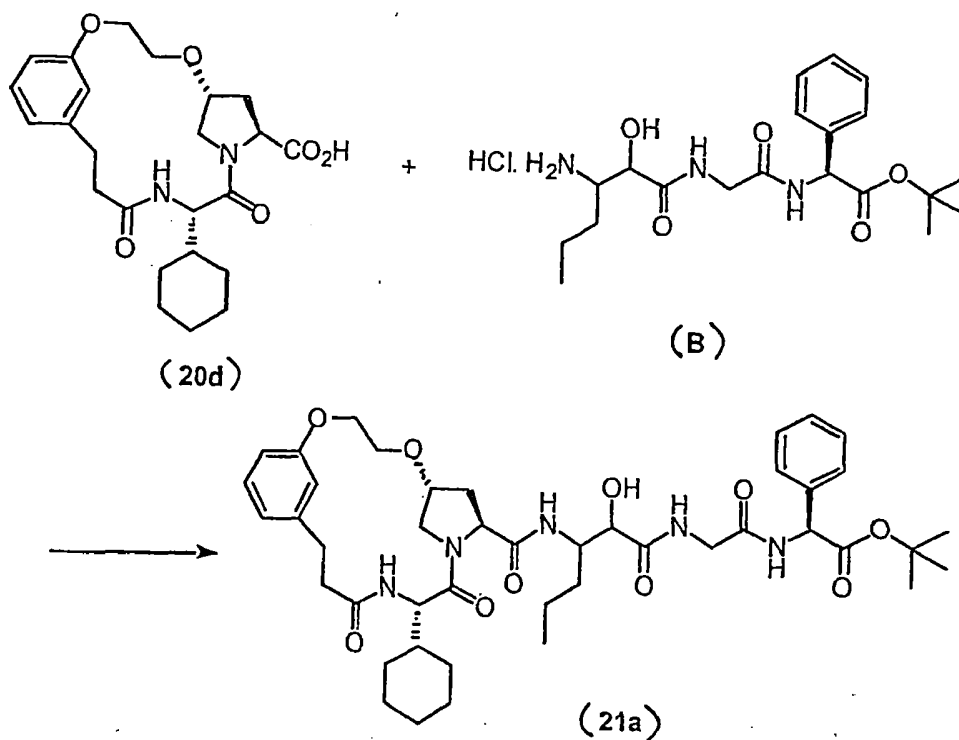
Požadované produkty 20A a 208 sa získali pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 100/0 až 98/2 dichlórmetán/metanol poskytlo oddelené izoméry 20A a 20B, a ich zmes. Kombinovaný výťažok = 50 % (pre 2 kroky). HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{42}H_{57}N_6O_9$: 789,4187 ($M+H$)⁺. Nájdené: 789,4179 (20A) a 789,4187 (20B).

Príklad 21

Príprava zlúčeniny vzorca 21

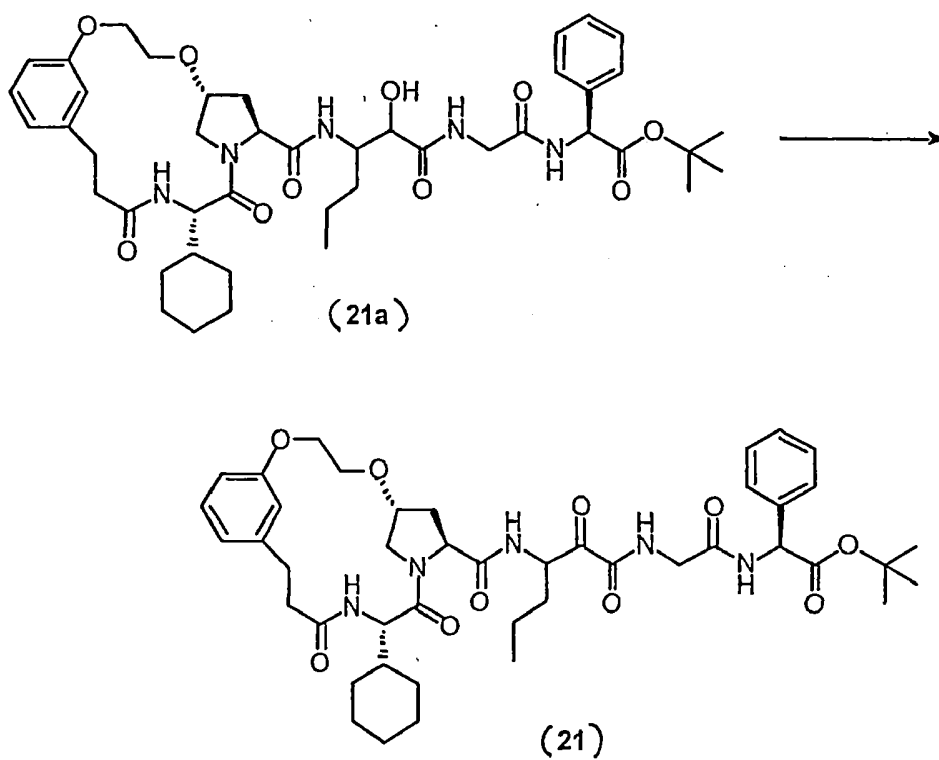


Krok A



Očakávaný produkt 21a sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 2 Krok A. Tento materiál po spracovaní bol dostatočne čistý na to, aby sa preniesol do nasledujúceho kroku.

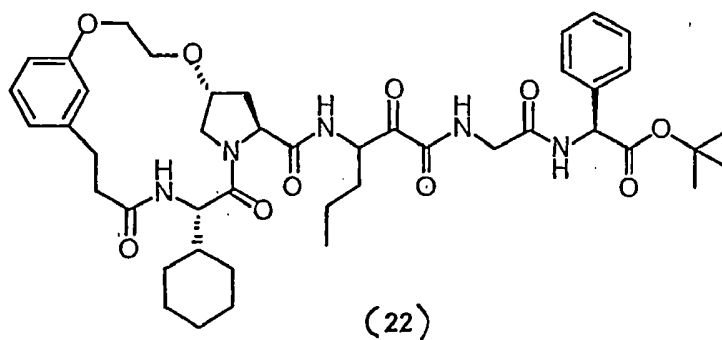
Krok B



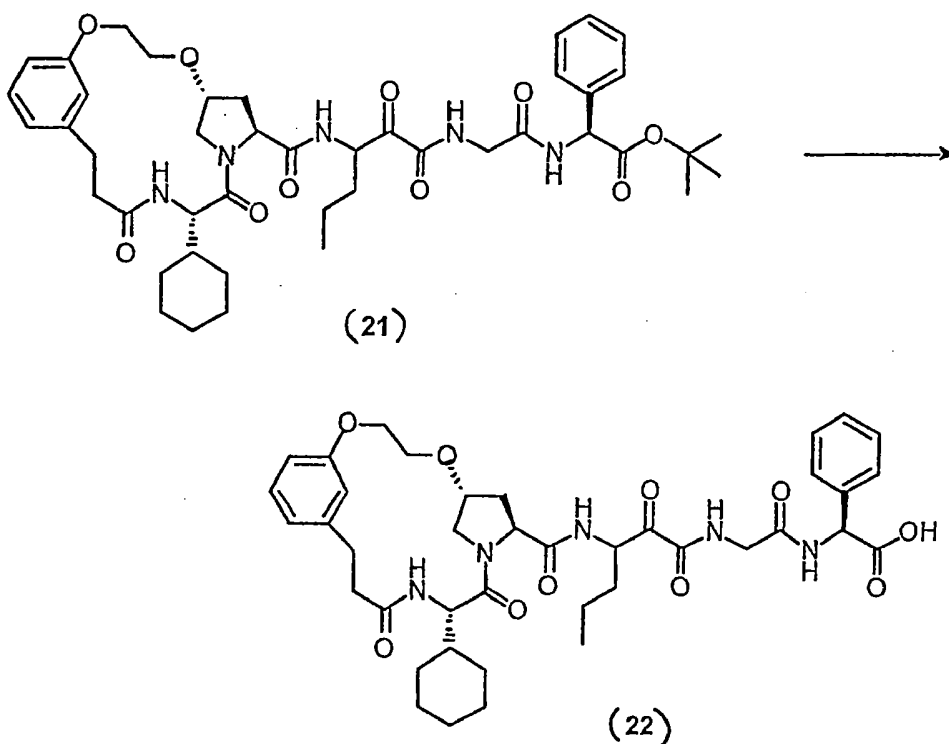
Požadovaný produkt 21 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 2: Krok B. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 100/0 až 98/2 dichlórmetán/metanol poskytlo produkt 21 v 38% výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{44}H_{60}N_5O_{10}$: 818,4340 $(M+H)^+$. Nájdené; 818,4329.

Príklad 22

Príprava zlúčeniny vzorca 22



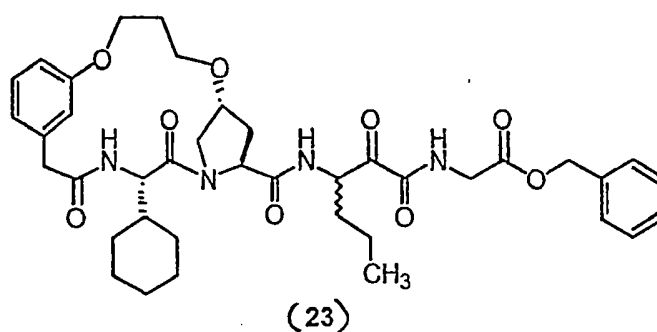
Krok A



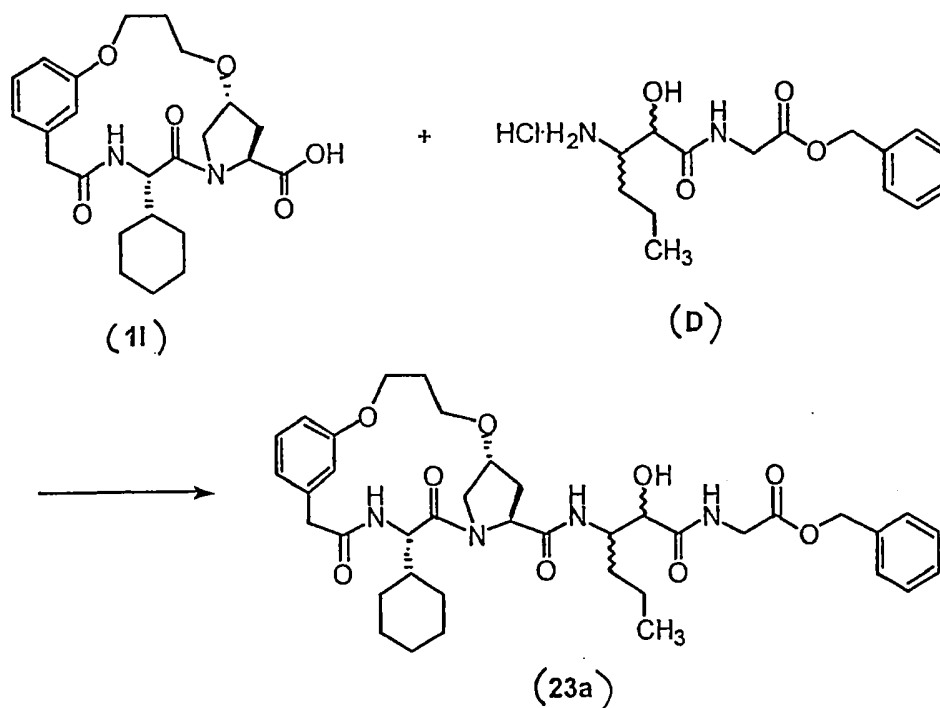
Očakávaný produkt 22 sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 3 Krok A v kvantitatívnom výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{40}H_{52}N_5O_{10}$: 762,3714 (M+H)⁺. Nájdené: 762,3722.

Príklad 23

Príprava zlúčeniny vzorca 23

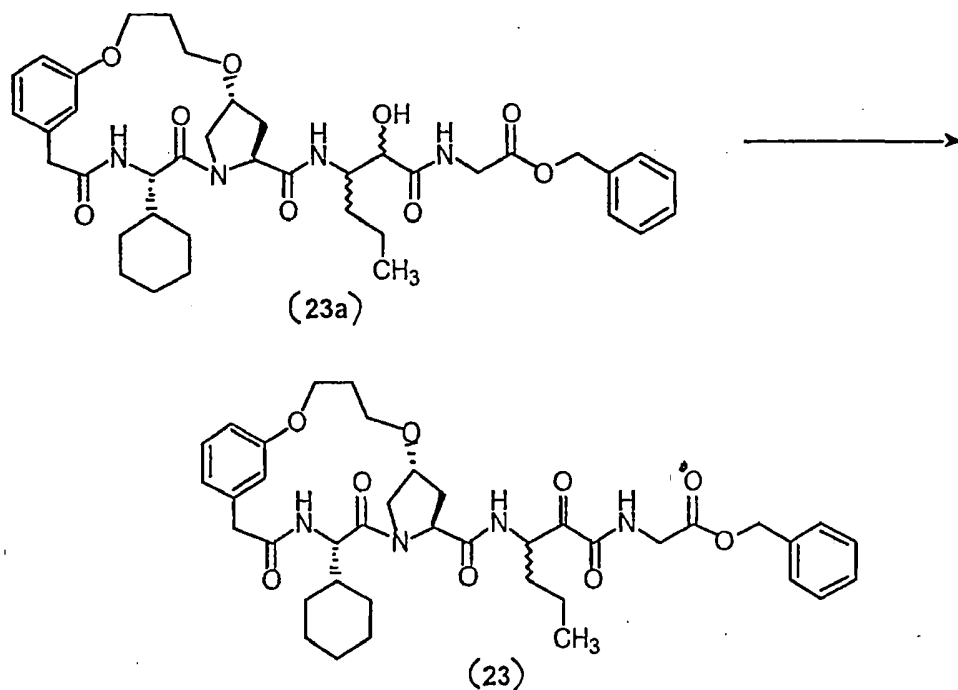


Krok A



Požadovaná zlúčenina 23a sa pripravila v 58% výťažku z 1I a D podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok J.

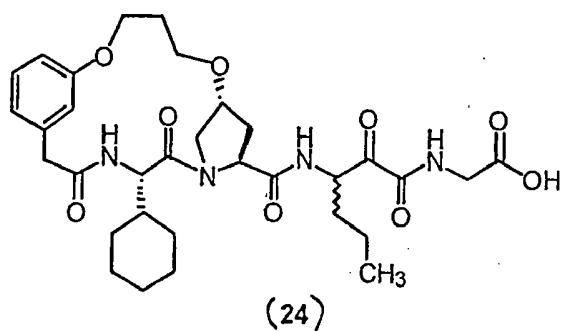
Krok B



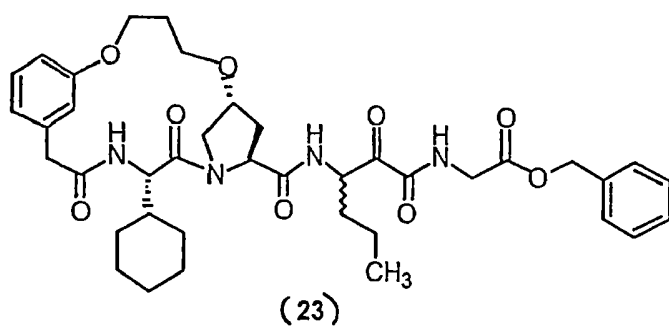
Požadovaná zlúčenina 23 sa pripravila v 79% výťažku z 23a podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok K.

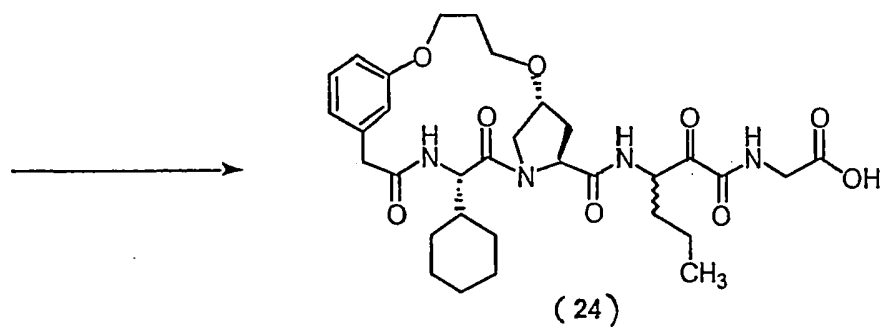
Príklad 24

Príprava zlúčeniny vzorca 24



Krok A

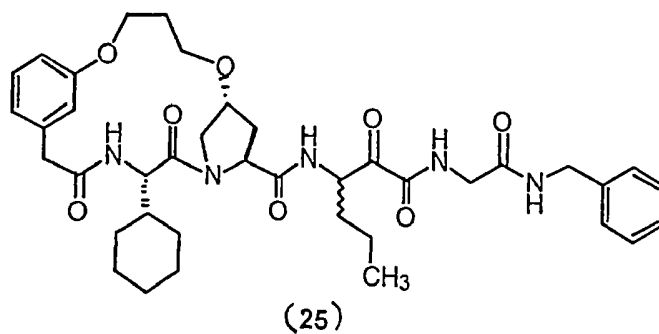




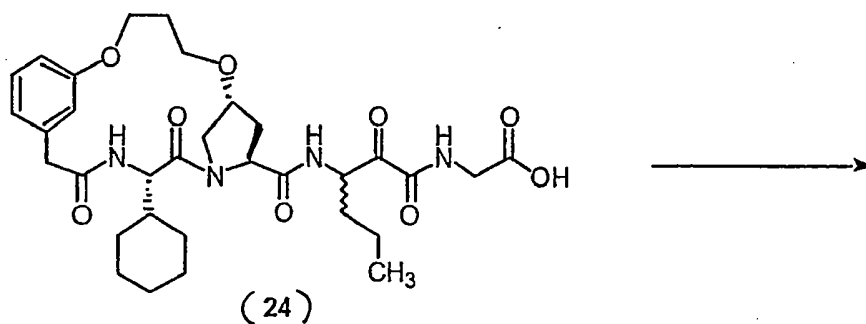
Roztok benzyl-esteru 23 (80 mg, 0,11 mmol) v etanole (30 ml) a metanole (15 ml) sa premiešaval pri laboratórnej teplote počas 3 hodín pod vodíkovou atmosférou v prítomnosti paládia na uhlíku (50 mg). Postup reakcie sa monitoroval pomocou TLC. Po opatrnej filtrácii cez vrstvu Celite sa rozpúšťadlá odstránili za vákua, čím sa získala biela tuhá látka (67 mg, kvantitatívne).

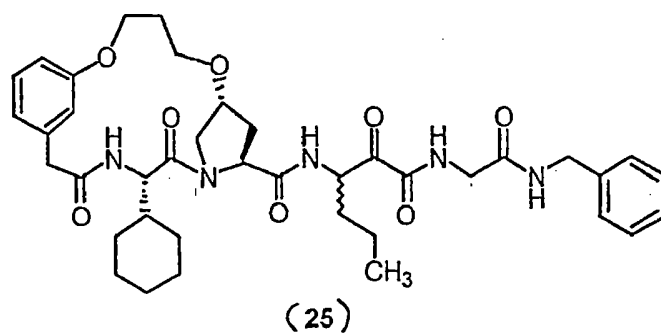
Príklad 25

Príprava zlúčeniny vzorca 25



Krok A

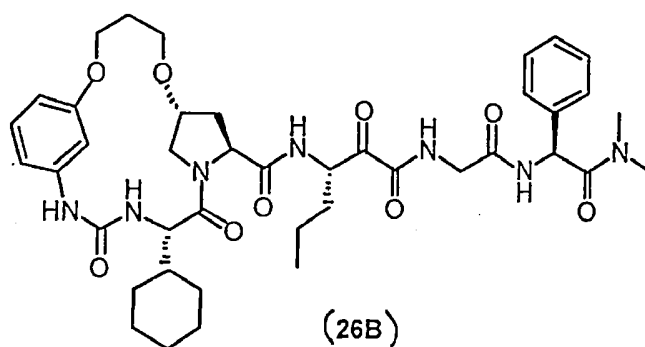
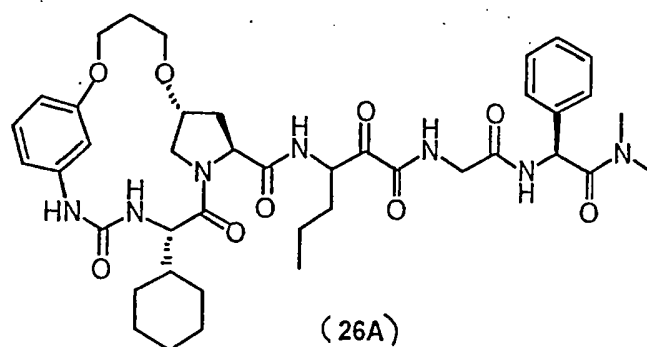




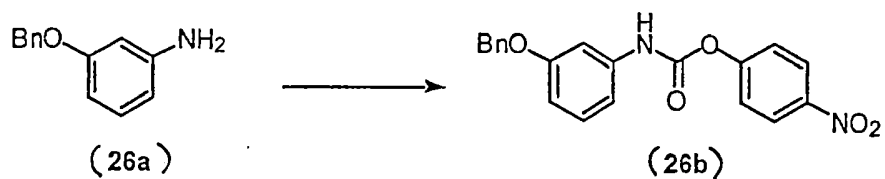
Požadovaná zlúčenina 25 sa pripravila v 53% výťažku z produktu 24 podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok J, s výnimkou nahradenia benzylamínu za amín A.

Príklad 26

Príprava zlúčenín vzorca 26A a 26B

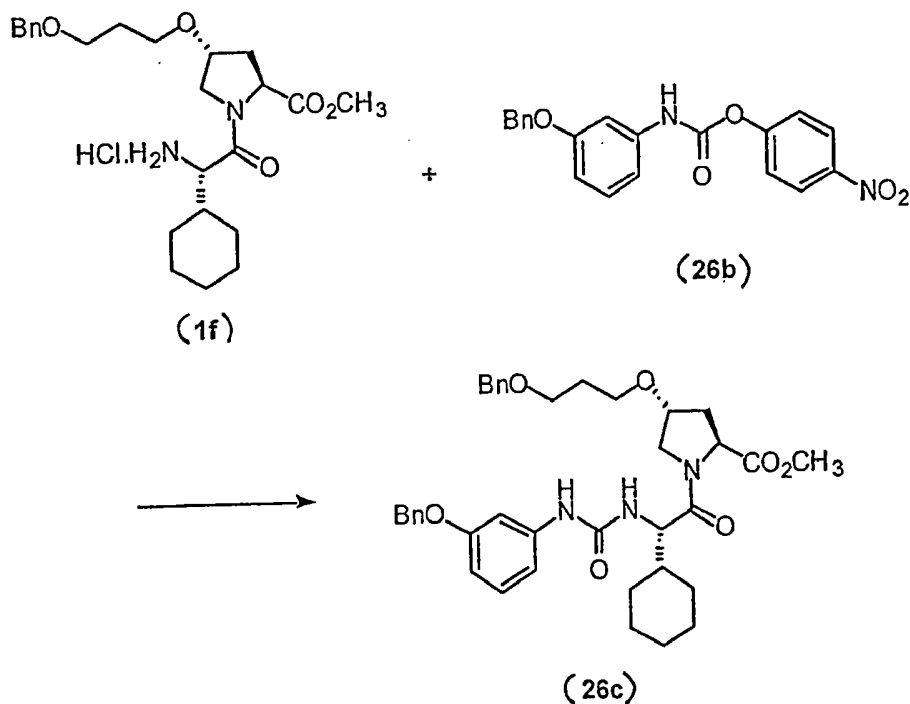


Krok A



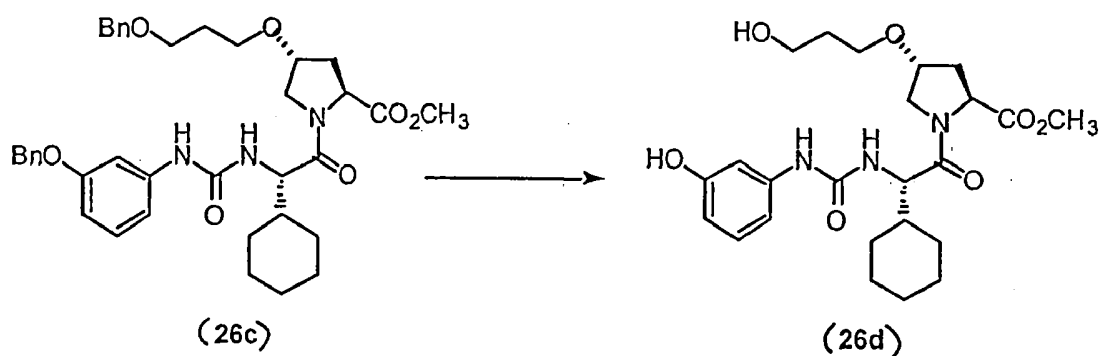
Do studeného (0 °C) roztoku 26a (4,09, 20 mmol) v THF/MeCN (35/5 ml) sa pridal 4-nitrofenyl-chlórmyravan (4,86 g, 24 mmol) a potom pyridín (1,9 ml, 24 mmol). Reakčná zmes sa zahriala na okolitú teplotu počas 4,5 hodiny. Reakcia sa monitorovala, kým sa nespotrebovala látka 26a (bolo potrebné pridať trochu viac ďalších dvoch reakčných činidiel). Reakcia sa zastavila pomocou pridať vody, organické zložky sa oddelili, premyli soľankou, vysušili sa (Na_2SO_4) a odparili za vákua, čím sa získal produkt 26b. Tento materiál bol dostatočne čistý pre ďalšie štúdie.

Krok B



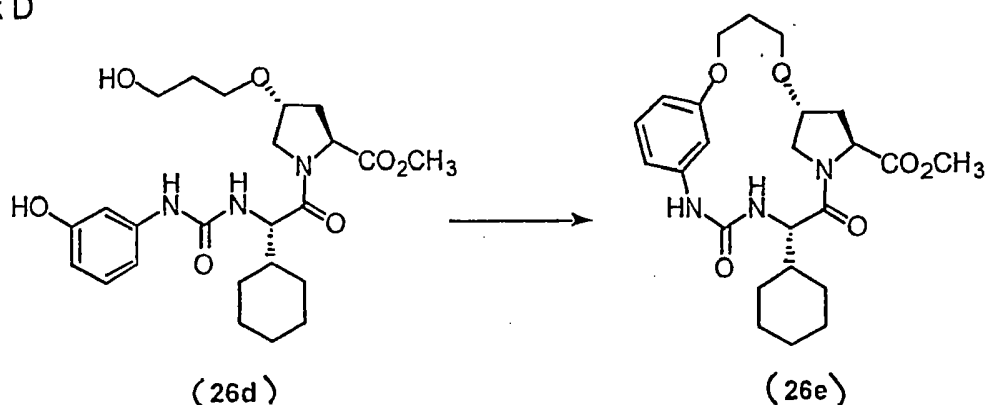
Do roztoku 1f (2,3 g, 5,1 mmol) v zmesi dichlórmetán/DMF (25/5 ml) pri 0 °C sa pridal produkt 26b (2,24 g, 6,1 mmol), po čom nasleduje trietylamín (0,86 ml, 6,1 mmol). Pridalo sa niekoľko kryštálov imidazolu a reakčná zmes a uložila pri -8 °C na 16 hodín. Reakčná zmes sa zriedila dichlórmetánom, premyla nasýteným roztokom hydrogenuhličitanu sodného, 10% vodným roztokom kyseliny citrónovej, vysušila sa (Na_2SO_4) a odparila za vákua. Surový materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 100/0 až 70/30 dichlórmetán/etylacetát, čím sa získal produkt 26c (1,2 g, 38% výťažok). HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{38}\text{H}_{48}\text{N}_3\text{O}_7$: 658,3492 ($\text{M}+\text{H}$)⁺. Nájdené: 658,3483.

Krok C



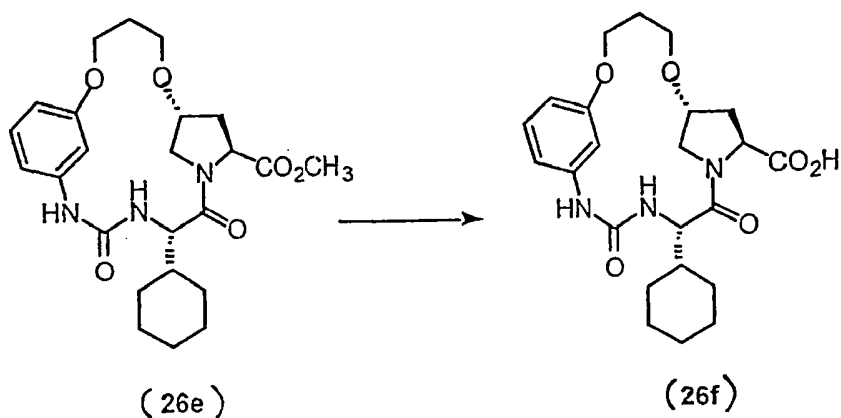
Požadovaný produkt 26d sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok G. Surový materiál sa preniesol do nasledujúceho kroku bez úpravy. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{24}H_{36}N_3O_7$: 478,2553 ($M+H$)⁺. Nájdené: 478,2547.

Krok D



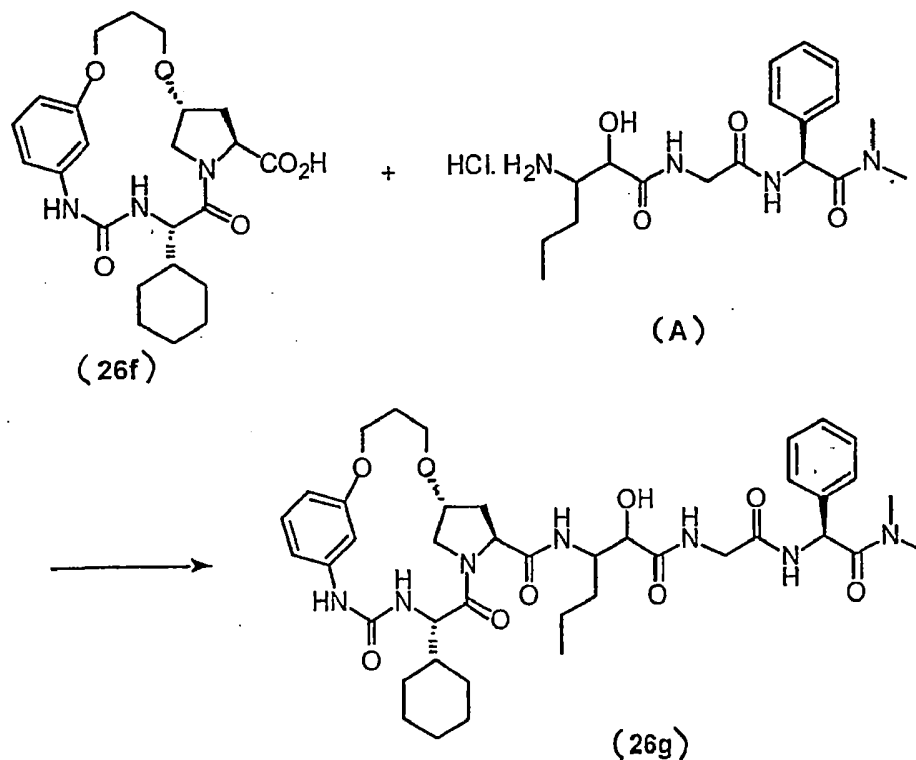
Požadovaný produkt 26e sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok H. Čistenie pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 99/1 dichlórmetán/metanol poskytlo produkt 26e spolu s trifenyľfosfínoxidom. Táto zmes sa vzala do nasledujúceho kroku.

Krok E



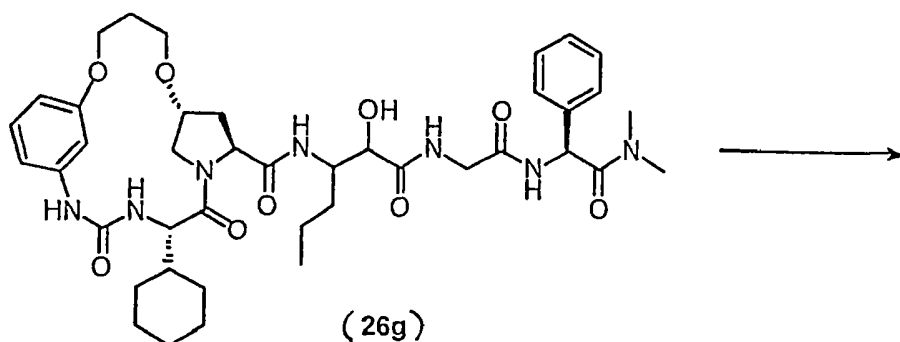
Požadovaný produkt 26f sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok I. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{23}H_{32}N_3O_6$: 446,2291 (M+H)⁺. Nájdené: 446,2290.

Krok F

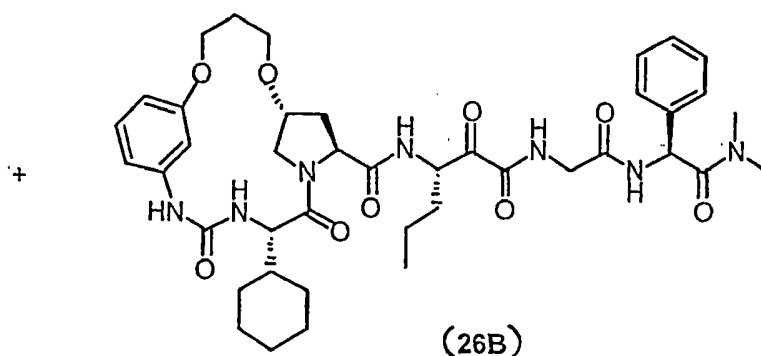
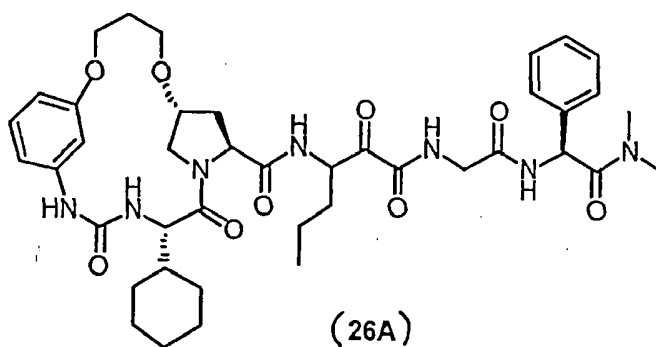


Požadovaný produkt 26g sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok J. Surový materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 dichlórmetán/metanol, čím sa získal produkt 26g v 31% výťažku (3 kroky). HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{41}H_{58}N_7O_9$: 792,4296 (M+H)⁺. Nájdené: 792,4284.

Krok G



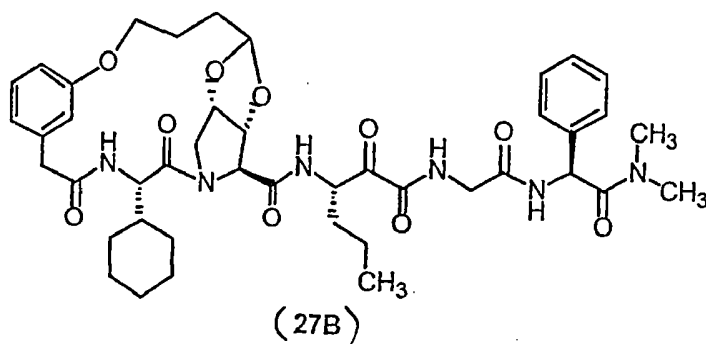
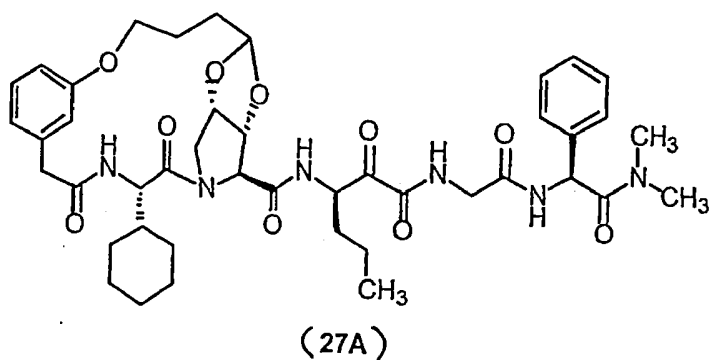
- 160 -



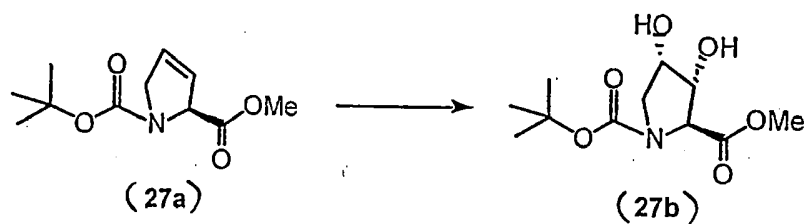
Požadované produkty 26A a 26B sa získali pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 99/1 až 95/5 dichlórmetán/metanol poskytlo produkt 26A (ako zmes) a 26B (čistý nižší R_f izomér). Kombinovaný výťažok 25 %.

Príklad 27

Príprava zlúčeniny 27

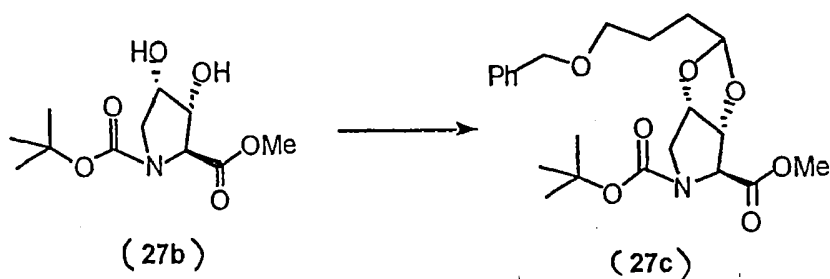


Krok A



Na zmes Boc-3,4-didehydroprolín-OMe (27a, 5,30 g, 23,4 mmol), *N*-metylmorfolín-*N*-oxidu (4,75 g, 35,1 mmol) v acetóne (10 ml) a vody (15 ml) pri laboratórnej teplote sa pridal roztok oxidu osmičelého v *tert*-butanole (2,5% (hmotn.), 3,5 ml, 0,344 mmol). Do tohto kalného roztoku sa pridal THF, kým sa zmes nestala takmer homogénna. Po premiešavaní pri laboratórnej teplote počas noci sa pridal nasýtený vodný roztok tiosíranu sodného (30 ml) a o 10 minút neskôr nasledovalo pridanie EtOAc (300 ml) a soľanka (80 ml). Po oddelení vrstiev sa vodný roztok extrahoval s EtOAc (2x 100 ml). Organické roztoky sa spojili, vysušili sa (MgSO_4), prefiltrovali a skoncentrovali sa za vákua, čím sa získala tmavá kvapalina. Rýchla chromatografia (4 až 8% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) poskytla produkt 27b (4,73 g, 18,1 mmol, 77 %) ako olej.

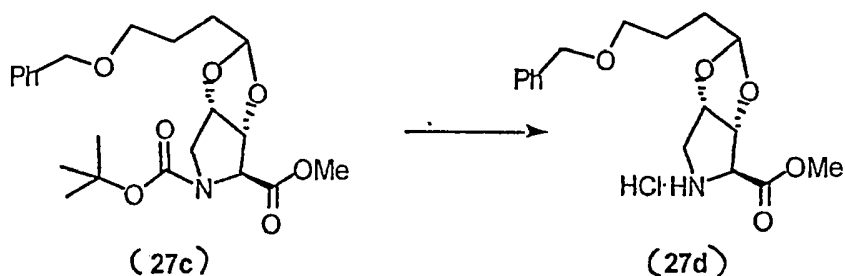
Krok B



Do suspenzie diolu 27b (1,6 g, 6,12 mmol), síranu horečnatého (4,0 g, 33,2 mmol) a 3-benzyloxypropiónaldehydu (2,32 g, 13,0 mmol) v bezvodom CH_2Cl_2 (60 ml) pri 0 °C sa pridala *p*-toluénsulfónová kyselina (150 mg, 1,01 mmol). Výsledná zmes sa premiešavala prudko a ponechala zahriať sa na laboratórnu teplotu spolu s ľadovým kúpeľom počas noci (18 hodín). Pridal sa nasýtený roztok hydrogenuhlíčitanu sodného (60 ml), voda (30 ml) a CH_2Cl_2 (100 ml) a vrstvy sa oddelili. Vodný roztok sa extrahoval s CH_2Cl_2 (2x 100 ml) a kombinované organické roztoky

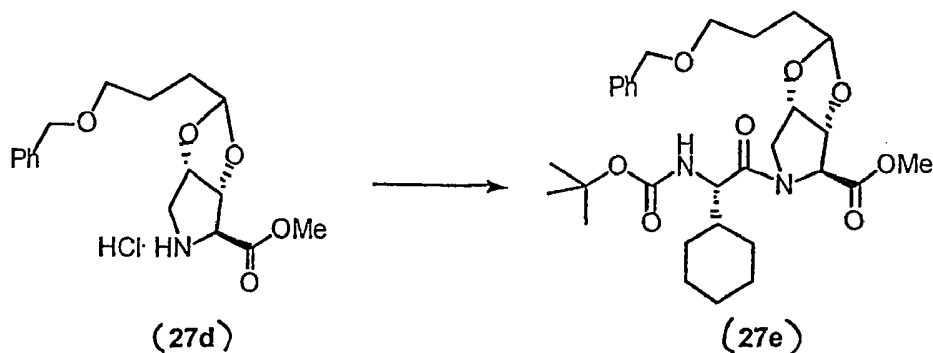
sa vysušili (MgSO_4), prefiltrovali a skoncentrovali sa za vákua, čím sa získal bezfarebný olej. Rýchla chromatografia (5 až 15% $\text{EtOAc}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) poskytla produkt 27c (2,35 g, 5,57 mmol, 91 %) ako olej.

Krok C



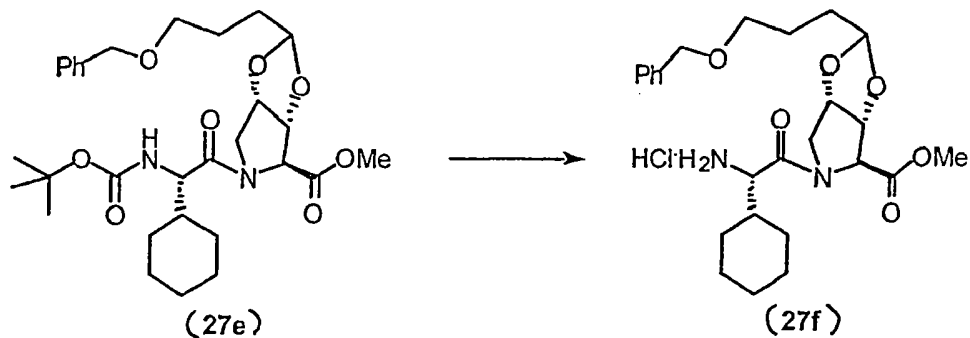
Požadovaná zlúčenina 27d sa pripravila z produktu 27c podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok C. Použila sa v nasledujúcej reakcii bez ďalšieho čistenia.

Krok D



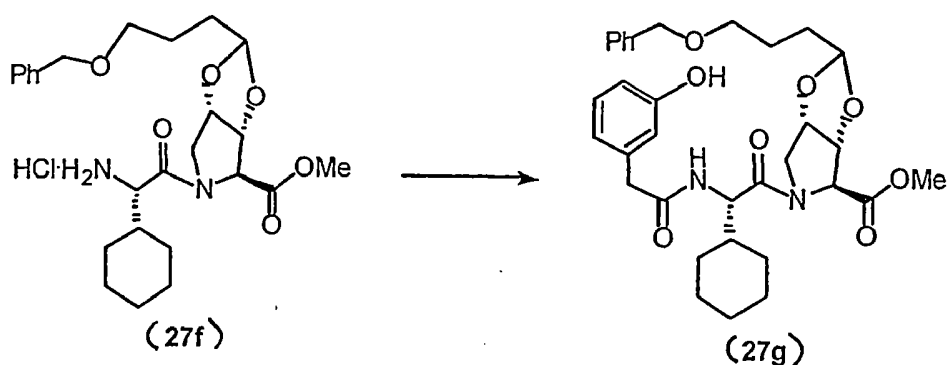
Požadovaná zlúčenina sa pripravila z produktu 27d podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok D. Rýchla chromatografia (8 až 20% $\text{EtOAc}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) poskytla produkt 27e.

Krok E



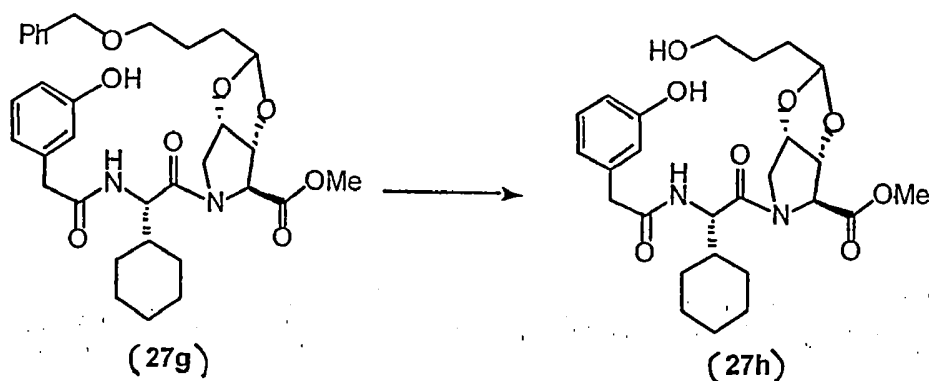
Požadovaná zlúčenina 27f sa pripravila z produktu 27e podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok E. Použila sa v nasledujúcej reakcii bez ďalšieho čistenia.

Krok F



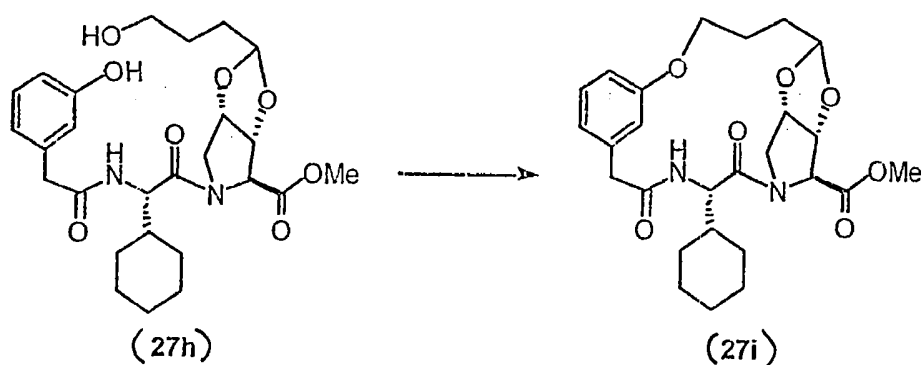
Požadovaná zlúčenina sa pripravila z produktu 27f podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok F. Rýchla chromatografia (8 až 20% EtOAc/CH₂Cl₂) poskytla produkt 27g; (36 %, 4 kroky). HRMS m/z 595,3014 [vypočítané pre C₃₃H₄₂N₂O₈, 595,3019].

Krok G



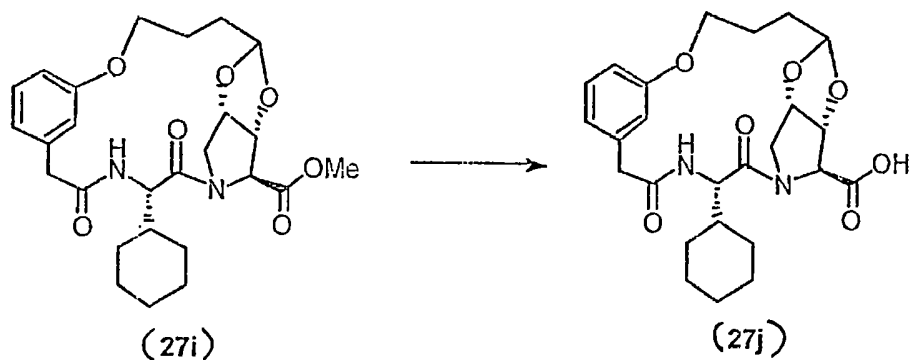
Požadovaná zlúčenina sa pripravila kvantitatívne z produktu 27g; podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok G. Rýchla chromatografia (3 až 5 % MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 27h ako bielu tuhú látku. HRMS m/z 595,2553 [vypočítané pre C₂₆H₃₆N₂O₈, 595,2550].

Krok H



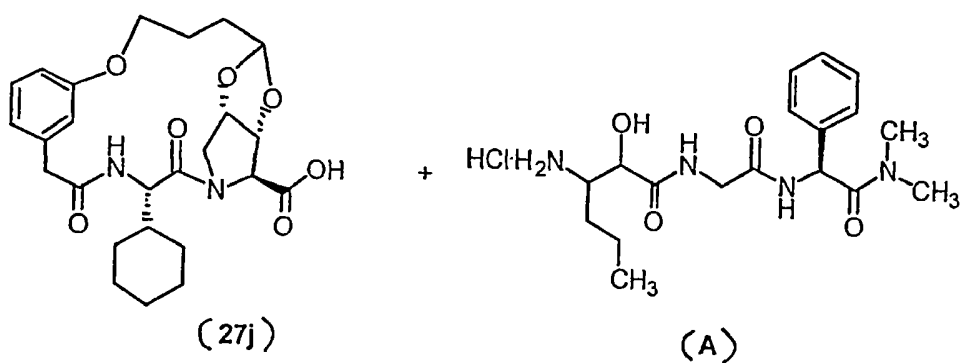
Požadovaná zlúčenina sa pripravila z produktu 27h podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok H. Rýchla chromatografia (3 až 5% MeOH/(CH₂Cl₂) poskytla produkt 27i ako zmes s trifenyfosfinoxidom, ktorý sa hydrolyzoval.

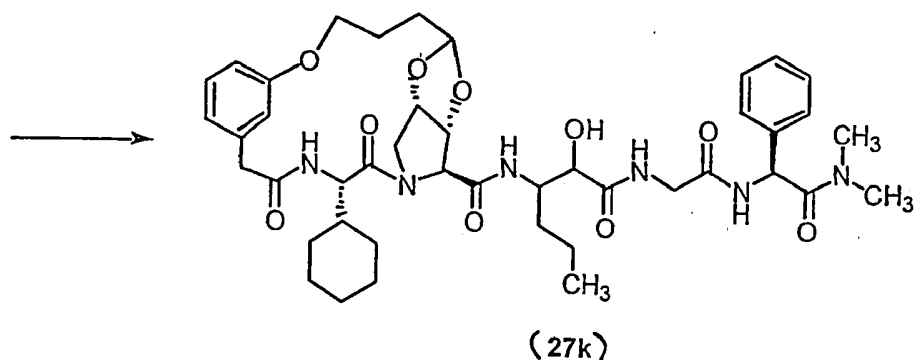
Krok I



Požadovaná zlúčenina sa pripravila (72 %, 2 kroky) z produktu 27i podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok I.

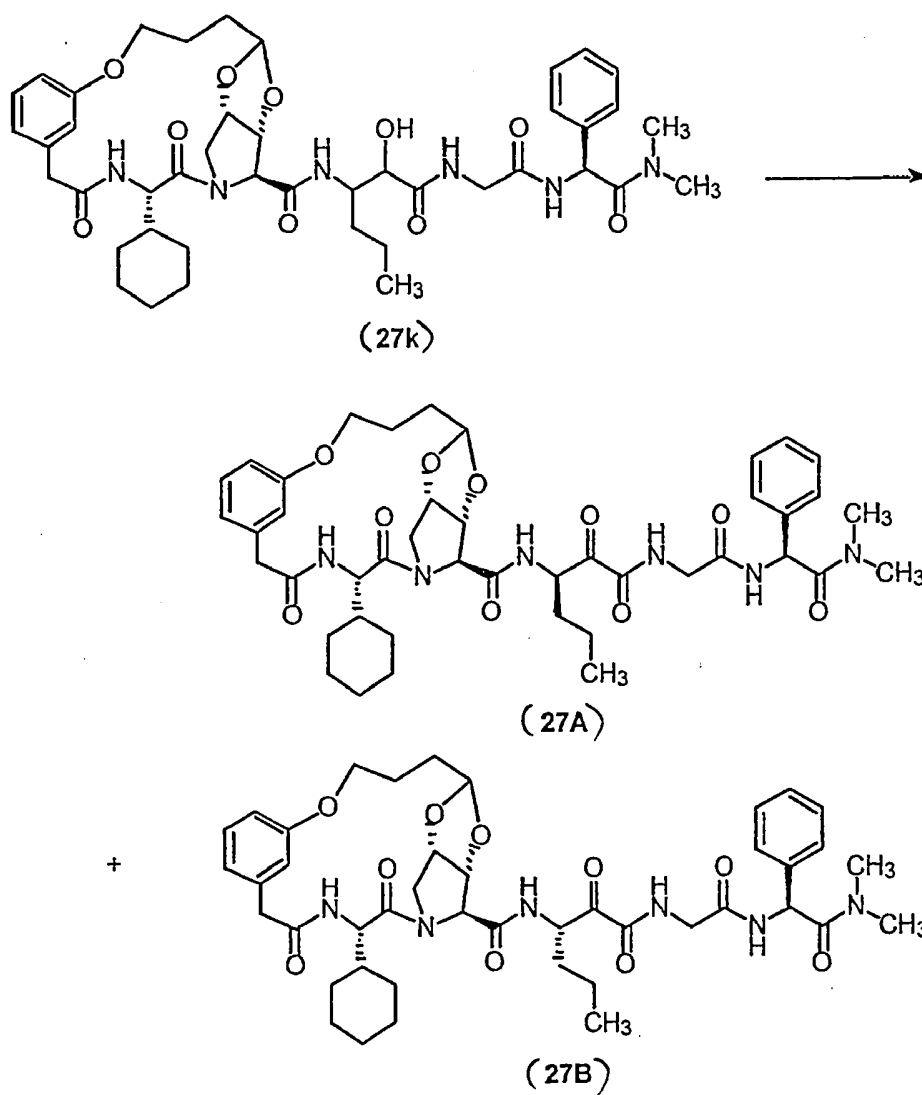
Krok J





Požadovaná zlúčenina sa pripravila z produktu 27j podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok J. Rýchla chromatografia (3 až 6% MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 27k (69 %) ako zmes diastereomérov.

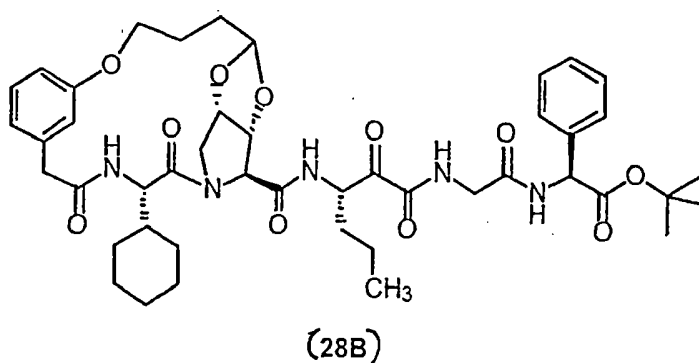
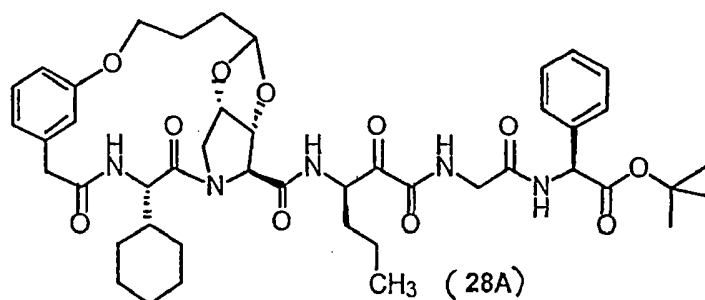
Krok K



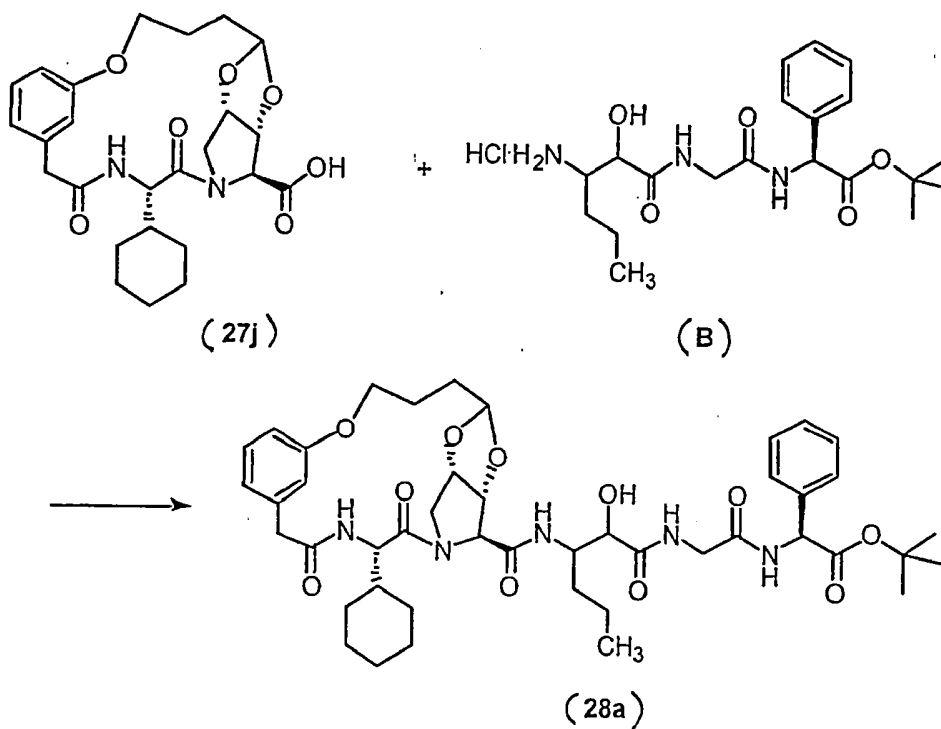
Požadovaná zlúčenina sa pripravila z produktu 27k podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok K. Rýchla chromatografia (2 to 5% MeOH/CH₂Cl₂) poskytla čisté produkty 27A a 27B.

Príklad 28

Príprava zlúčeniny 28

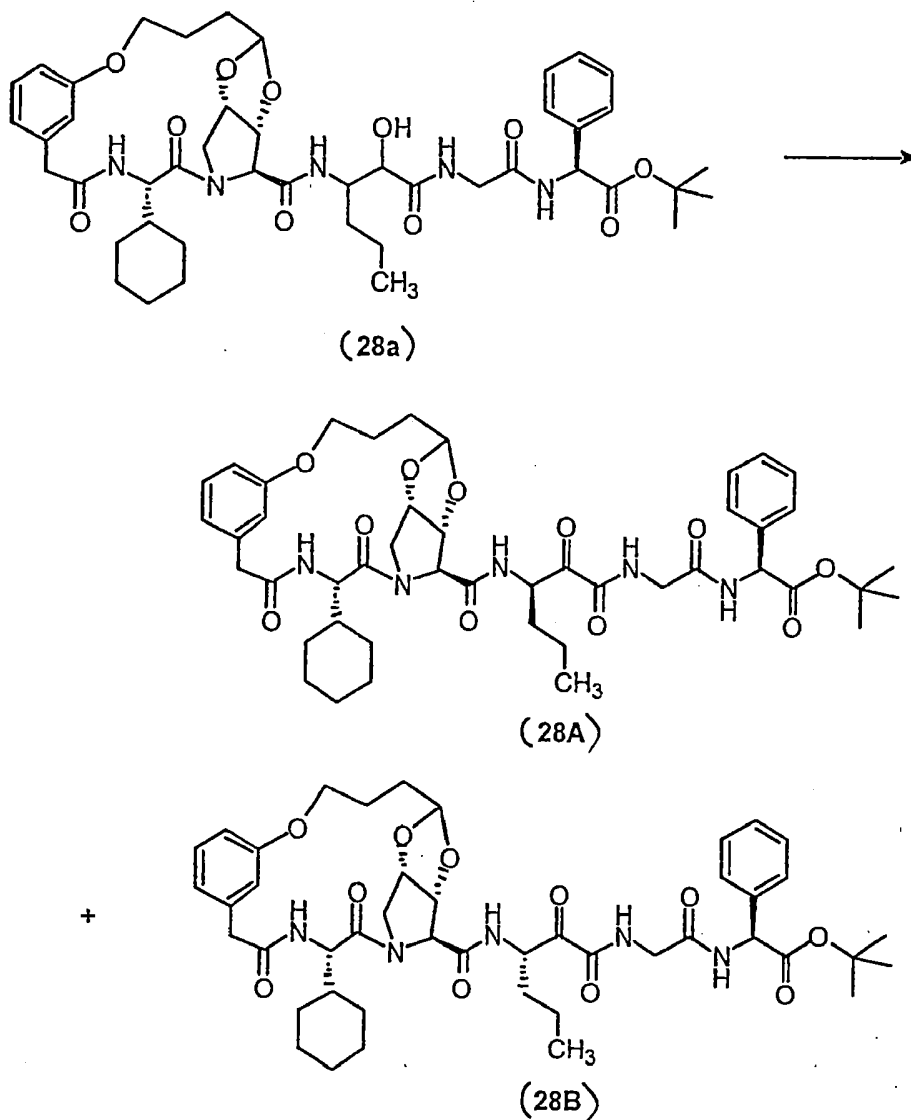


Krok A



Požadovaná zlúčenina sa pripravila z produktu 27j podľa spôsobu z Příkladu 2 Krok A. Rýchla chromatografia (3 až 6% MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 28a (50 %) ako zmes neoddeliteľných diastereomérov.

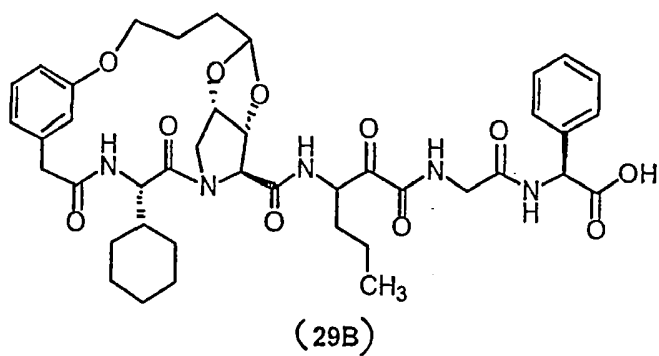
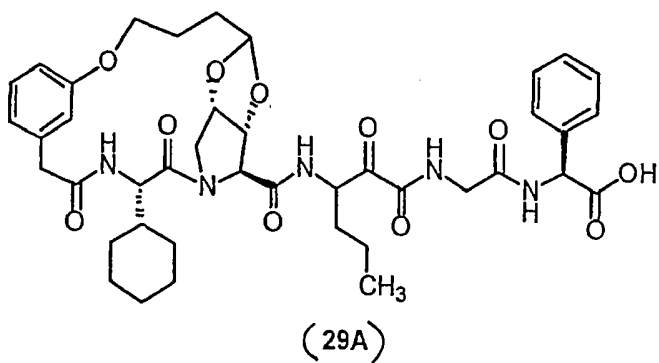
Krok B



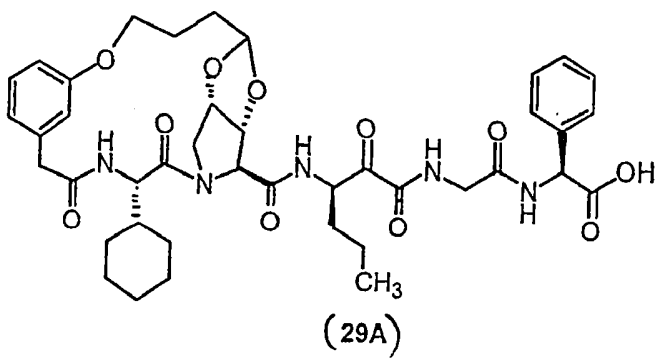
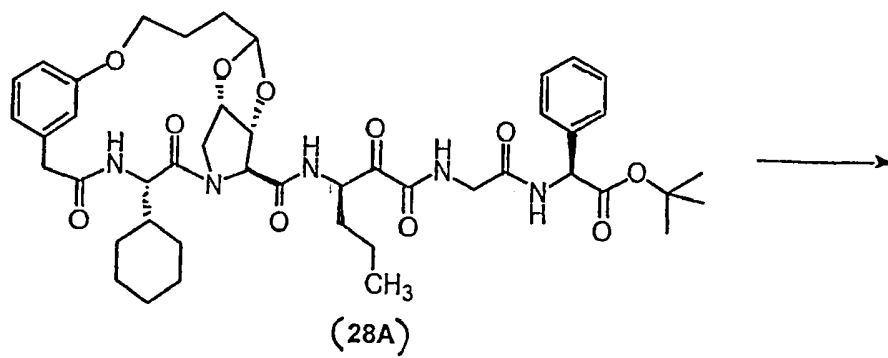
Požadovaná zlúčenina sa pripravila z produktu 28a podľa spôsobu z Príkladu 2 Krok B. Rýchla chromatografia (2 až 5% MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 28A a 28B.

Príklad 29

Príprava zlúčeniny 29

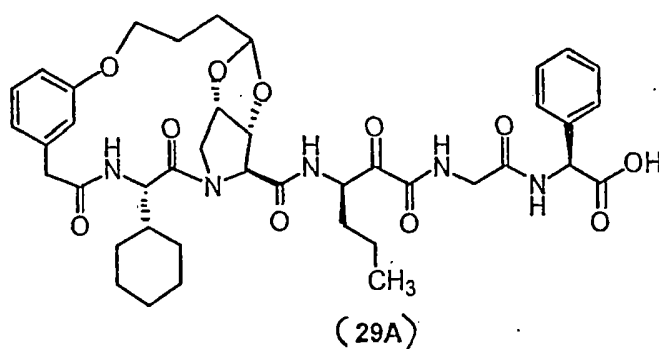
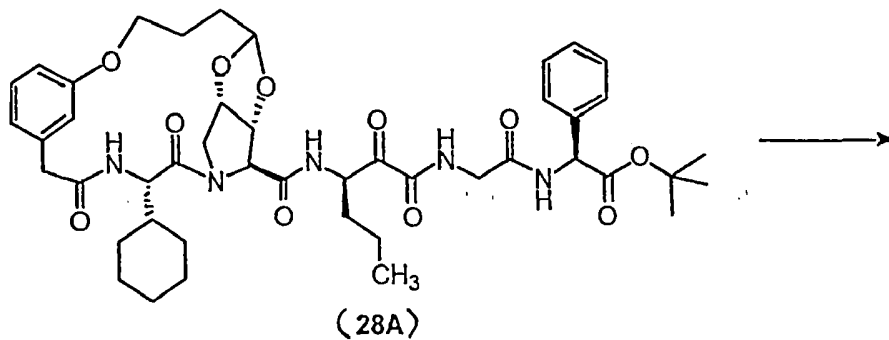


Krok A



Požadovaná zlúčenina 29A sa pripravila z produktu 28A podľa spôsobu z Príkladu 3 Krok A.

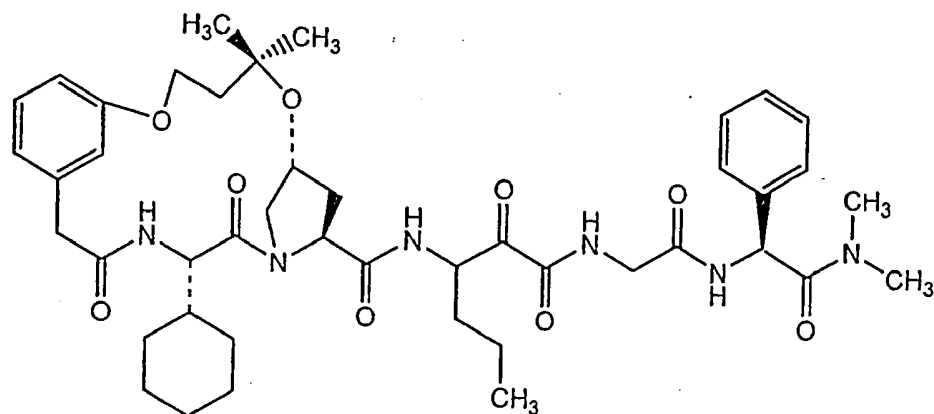
Krok B



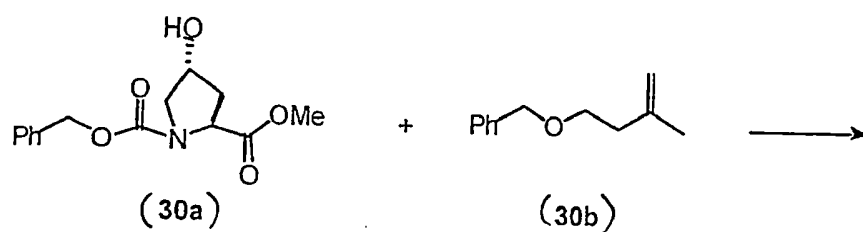
Požadovaná zlúčenina 29B sa pripravila z produktu 28B podľa spôsobu z Príkladu 3 Krok A.

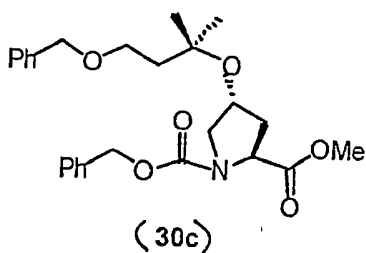
Príklad 30

Príprava zlúčeniny 30



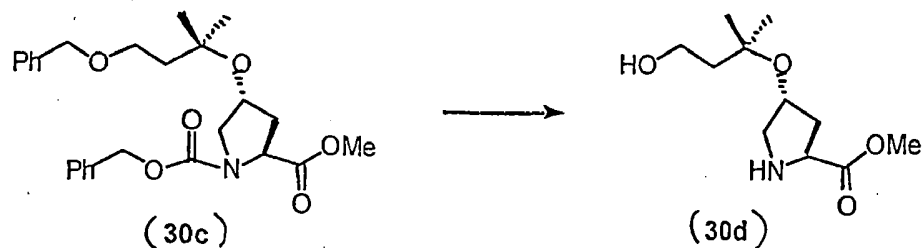
Krok A





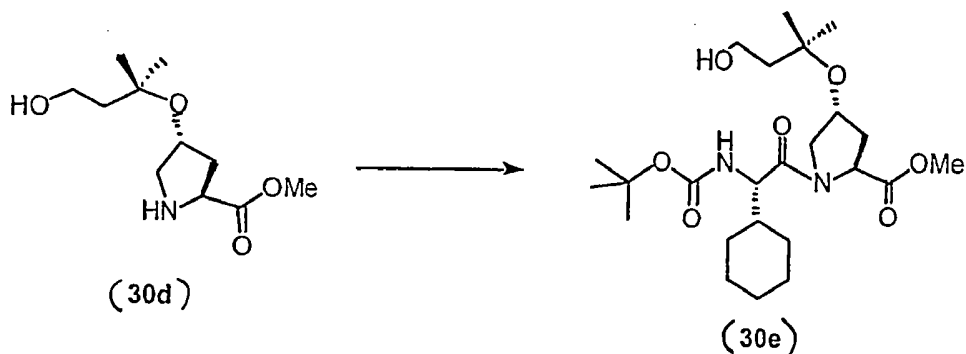
Do roztoku Cbz-HYP-OMe (30a) (3,0 g, 10,7 mmol) a 4-benzyloxy-2-metyl-1-buténu 30b (5,30 g, 30,0 mmol) v bezvodom CH_2Cl_2 (80 ml) pri 0 °C sa pridal trifluórbór-dietyléterát (0,25 ml, 1,97 mmol). Výsledná zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote počas noci (18 hodín). Pridal sa nasýtený roztok hydrogen-uhličitanu sodného (30 ml), soľanka (50 ml) a EtOAc (300 ml) a vrstvy sa oddelili. Vodný roztok sa extrahoval s EtOAc (2x 100 ml) a spojený organický roztok sa vysušil (MgSO_4), prefiltroval a skoncentroval sa za vákua, čím sa získal žltý olej. Rýchla chromatografia (5 až 20% EtOAc/ CH_2Cl_2) poskytla produkt 30c (2,00 g, 4,39 mmol, 41 %) ako olej.

Krok B



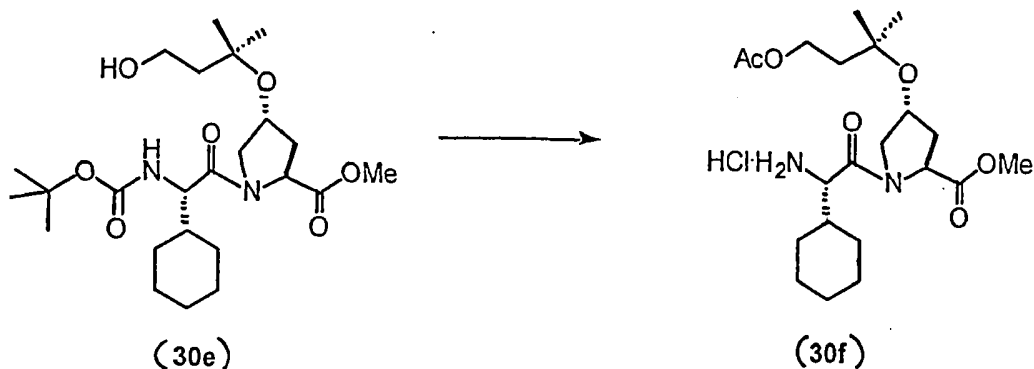
Požadovaná zlúčenina 30d sa pripravila z produktu 30c kvantitatívne podľa postupu z Příkladu 1 Krok G.

Krok C



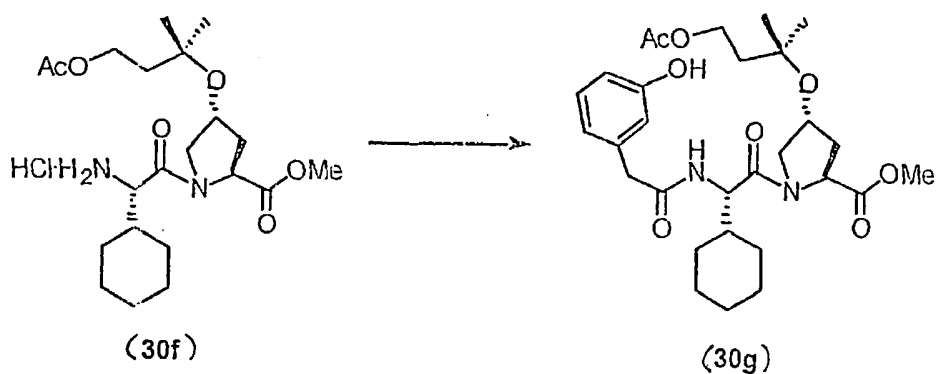
Požadovaná zlúčenina 30e sa pripravila z produktu 30d a Boc-cyklohexyl-glycín-OH podľa postupu z Príkladu 1 Krok D. Rýchla chromatografia (3 až 5% MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 30e (61 %).

Krok D



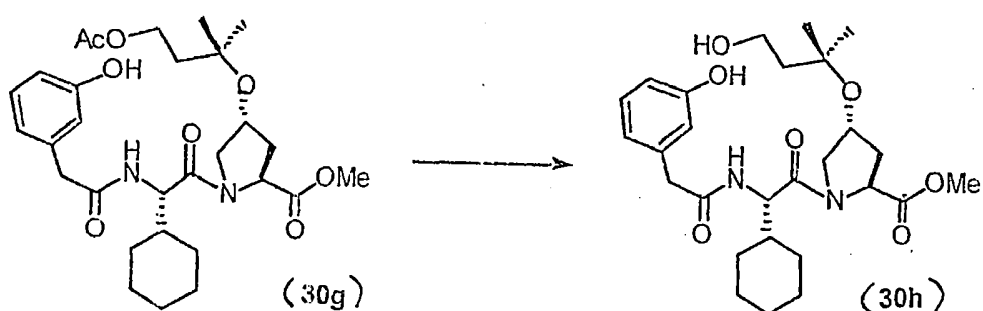
Roztok 30e a 2 mol/l HCl v dioxáne a EtOAc (1:1) sa premiešaval pri laboratórnej teplote 3 hodiny, po čom sa skoncentroval za vákua. Produkt sa použil v nasledujúcej reakcii bez ďalšieho čistenia.

Krok E



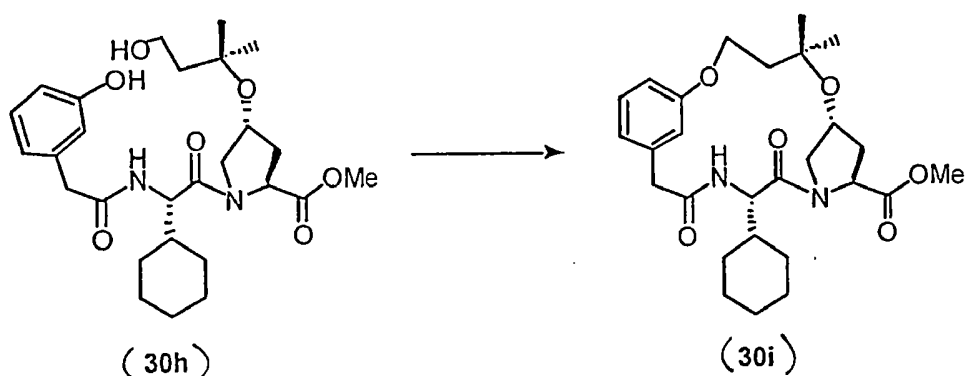
Požadovaná zlúčenina 30g sa pripravila z produktu 30f podľa postupu z Príkladu 1 Krok F. Rýchla chromatografia (2 až 5% MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 30g; (48 %, 2 kroky).

Krok F



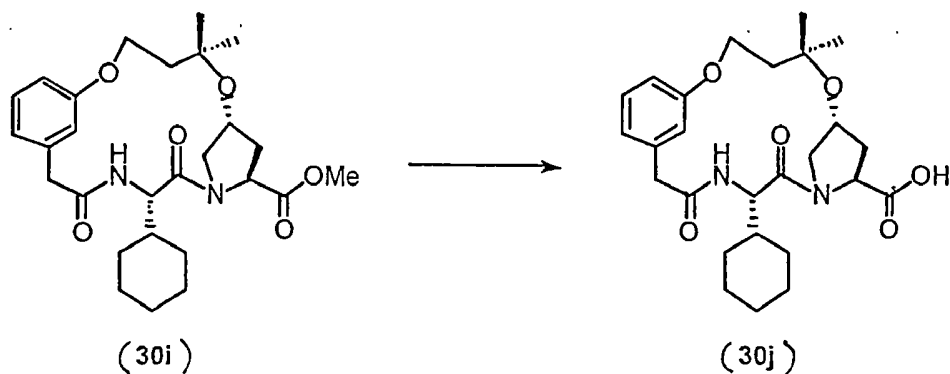
Zmes 30g (700 mg, 1,28 mmol) a uhličitanu draselného (530 mg, 3,84 mmol) v bezvodom metanole (80 ml) sa prudko premiešavala pri laboratórnej teplote. Postup reakcie bol monitorovaný pomocou TLC. Po 3 hodinách sa zmes skoncentrovala za vakuá pred pridaním EtOAc (200 ml) a vody (100 ml) a vrstvy sa oddelili. Vodný roztok sa extrahoval s EtOAc (2x 100 ml). Organické roztoky sa spojili, vysušili sa (MgSO_4), prefiltrovali a skoncentrovali sa za vakuá. Produkt sa použil v nasledujúcej reakcii bez ďalšieho čistenia.

Krok G



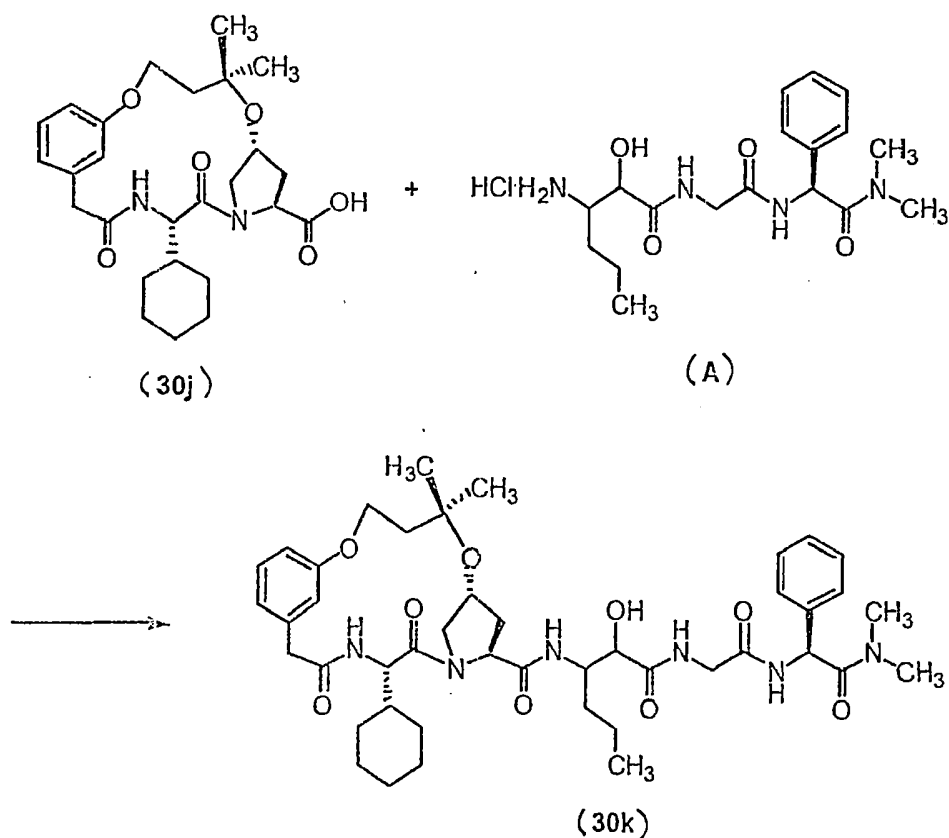
Požadovaná zlúčenina 30i sa pripravila z produktu 30h podľa postupu z Príkladu 1 Krok H.

Krok H



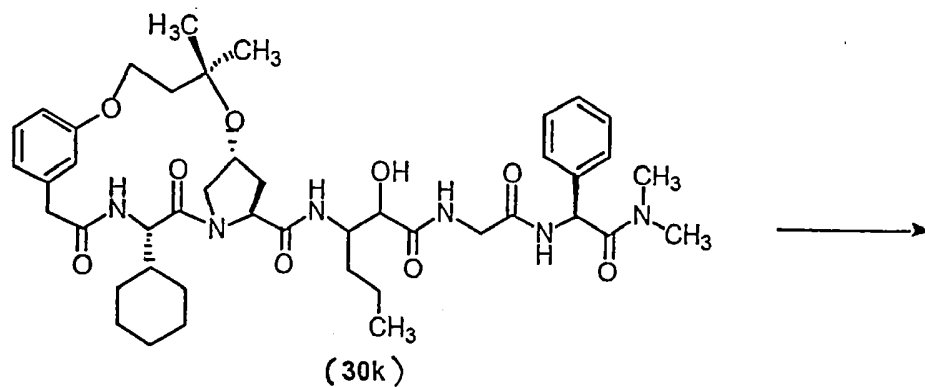
Požadovaná zlúčenina 30j sa pripravila z produktu 30i podľa postupu z Príkladu 1 Krok 1 (23 %, 3 kroky).

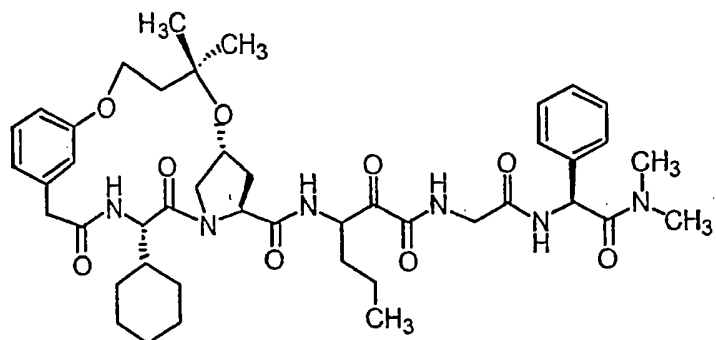
Krok I



Požadovaná zlúčenina sa pripravila z produktu 30j podľa postupu z Príkladu 1 Krok J. Rýchla chromatografia (3 až 6% MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 30k (58 %).

Krok J



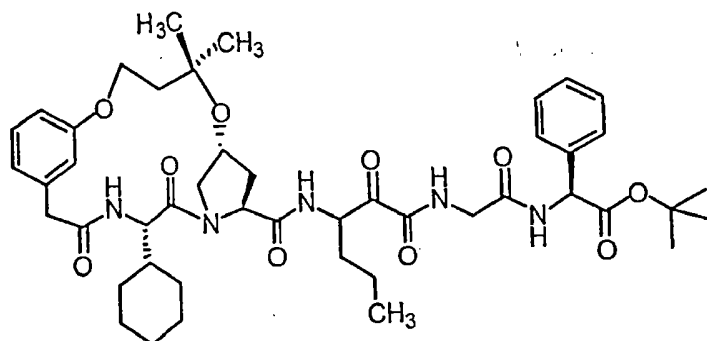


(30)

Požadovaná zlúčenina 30 sa pripravila z produktu 30k podľa postupu z Príkladu 1 Krok K. Rýchla chromatografia (3 až 5% MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 30 ako zmes neoddeliteľných diastereomérov.

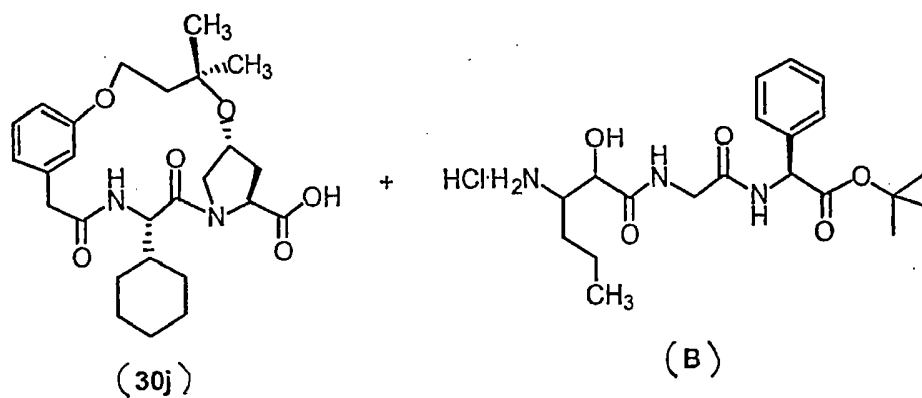
Príklad 31

Príprava zlúčeniny 31



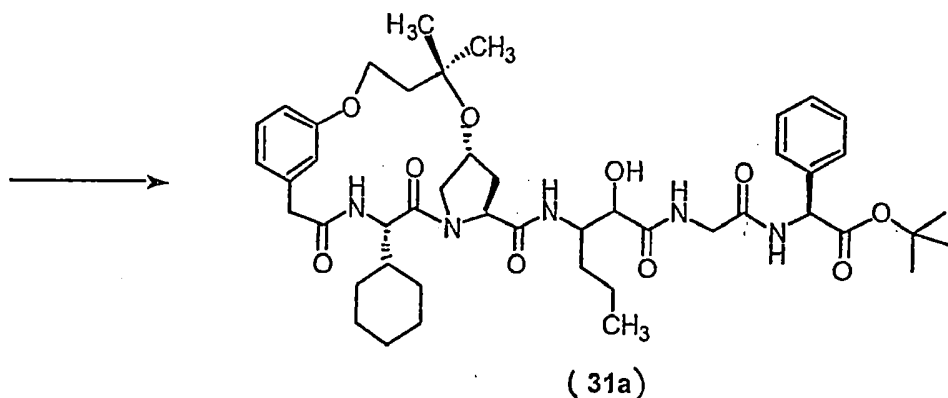
(31)

Krok A



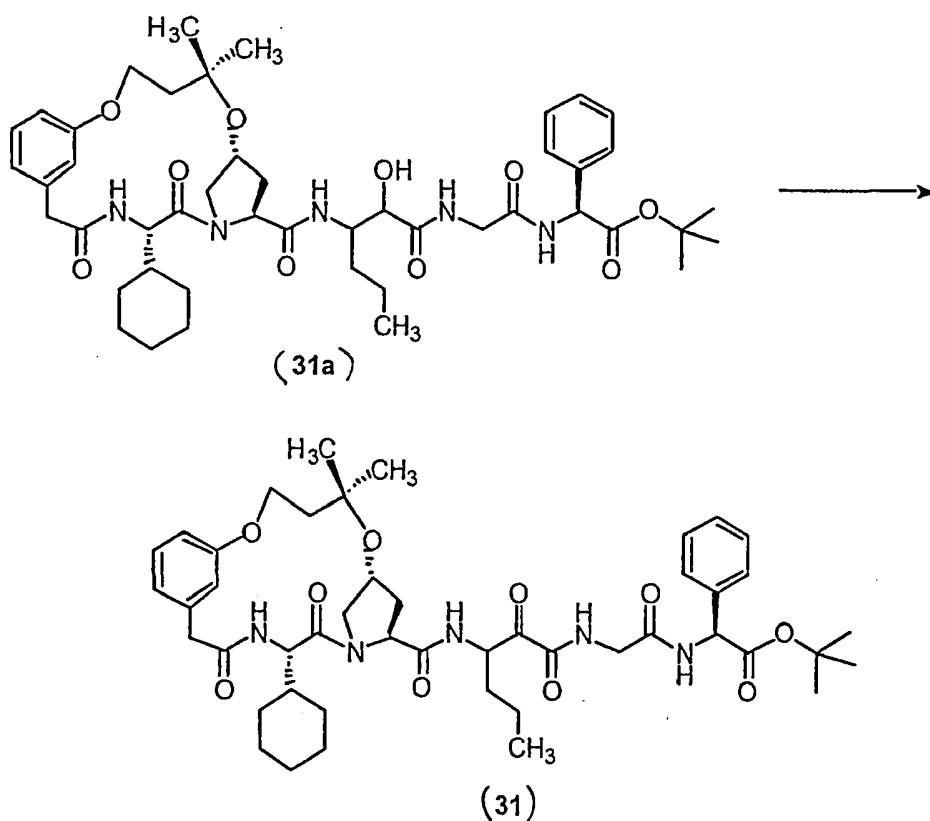
(30j)

(B)



Požadovaná zlúčenina sa pripravila z produktu 30j a B podľa postupu z Príkladu 1 Krok 4. Rýchla chromatografia (2 až 5% MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 31a (73 %).

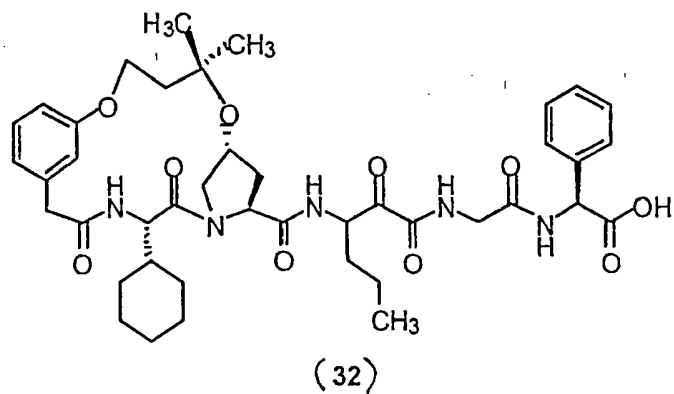
Krok B



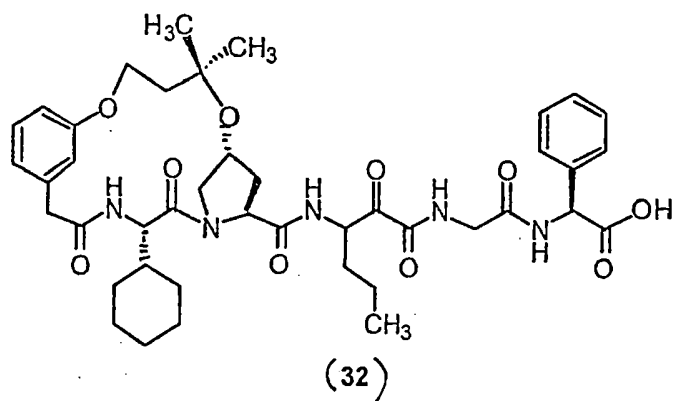
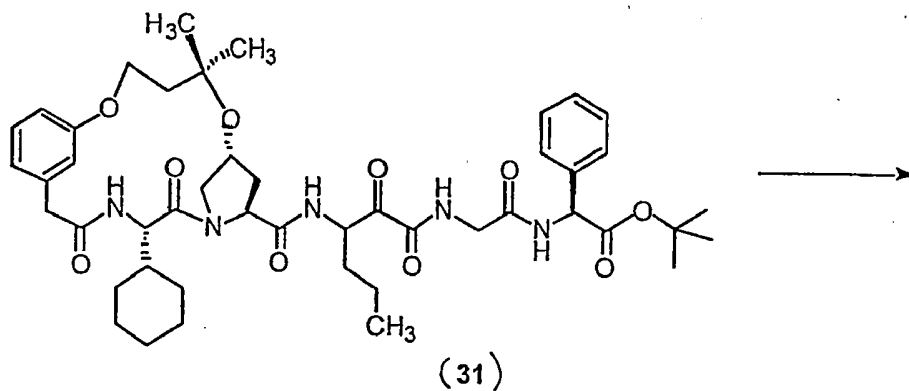
Požadovaná zlúčenina sa pripravila z produktu 31a podľa postupu z Príkladu 1 Krok K. Rýchla chromatografia (2 až 5 % MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 31 ako zmes neoddeliteľných diastereomérov.

Príklad 32

Príprava zlúčeniny 32



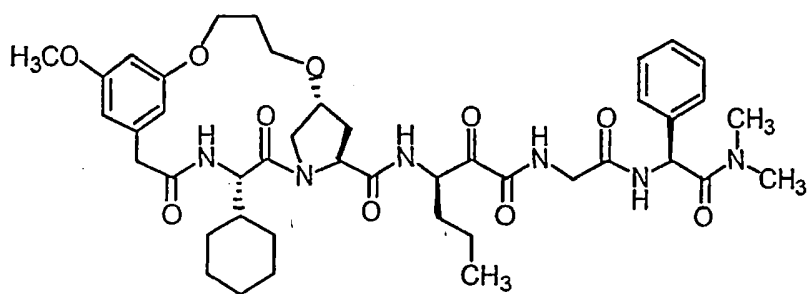
Krok A



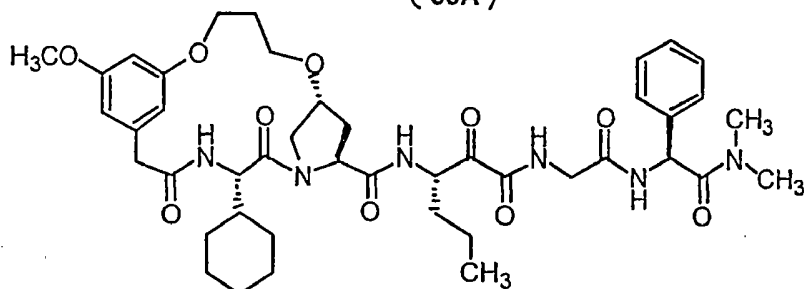
Požadovaná zlúčenina 32 sa môže pripraviť z produktu 31 podľa postupu z Príkladu 3 Krok A.

Príklad 33

Príprava zlúčeniny 33

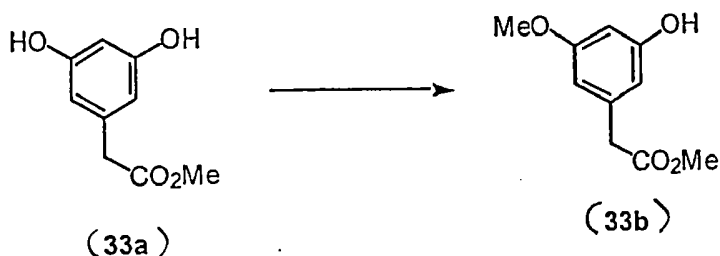


(33A)



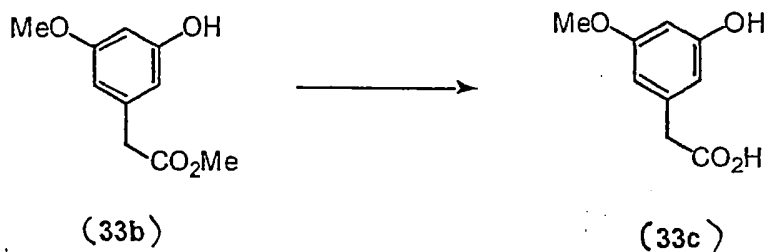
(33B)

Krok A



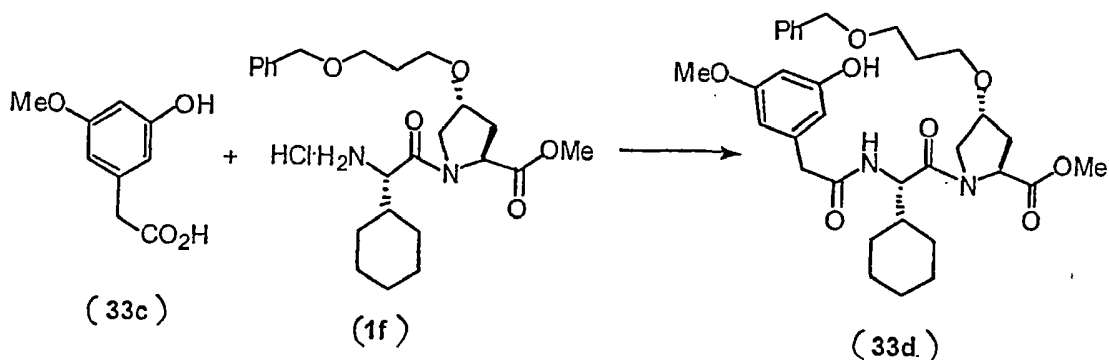
Suspenzia metyl-3,5-dihydroxyfenyloctanu (33a) (5,0 g, 27,4 mmol) metyljodidu (4,6 g, 32,9 mmol), uhličitanu draselného (5,69 g, 41,2 mmol) v DMF (30 ml) sa zahrieva na 55 °C a premiešava počas noci. Po ochladení na laboratórnu teplotu sa pridali nasýtený vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (100 ml) a EtOAc (200 ml) a vrstvy sa oddelili. Vodný roztok sa extrahoval s EtOAc (2x 100 ml). Spojený organický roztok sa vysušil (MgSO₄), prefiltraval a skoncentroval sa za vákua. Rýchla chromatografia (2 až 5% MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 33b (1,11 g, 29 %) ako bielu kvapalinu.

Krok B



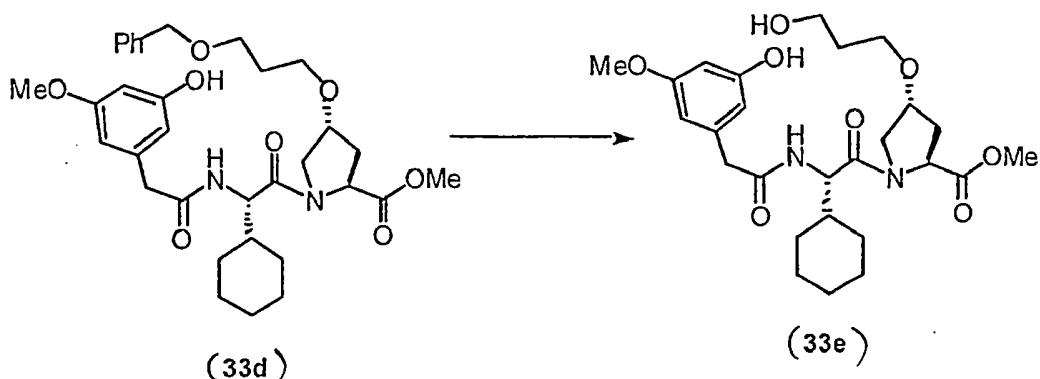
Vodný roztok hydroxidu lítneho (0,342 g v 10 ml H₂O) sa pridal do roztoku metylesteru 33b v THF (10 ml) a metanolu (10 ml) pri laboratórnej teplote. Postup reakcie bol monitorovaný pomocou TLC. Po 4 hodinách sa prchavé látky odstránili za vákua, pridal sa EtOAc (150 ml) a voda (30 ml) a vodný roztok sa okyslil na pH 1 a nasýtil tuhým chloridom sodným. Po separácii vrstiev sa vodná vrstva extrahovala EtOAc (2x 150 ml). Organické roztoky sa spojili, vysušili sa síranom sodným, prefiltrovali a skoncentrovali sa za vákua, čím sa získal produkt 33c (1,6 g).

Krok C



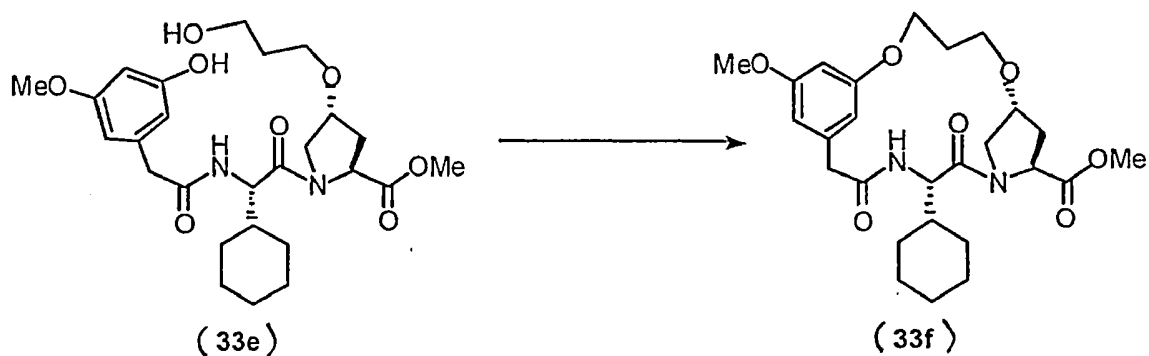
Požadovaná zlúčenina 33d sa pripravila z produktu 33c a 1f podľa postupu z Príkladu 1 Krok F. Rýchla chromatografia (2 až 5% MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 33d v 90% výťažku.

Krok D



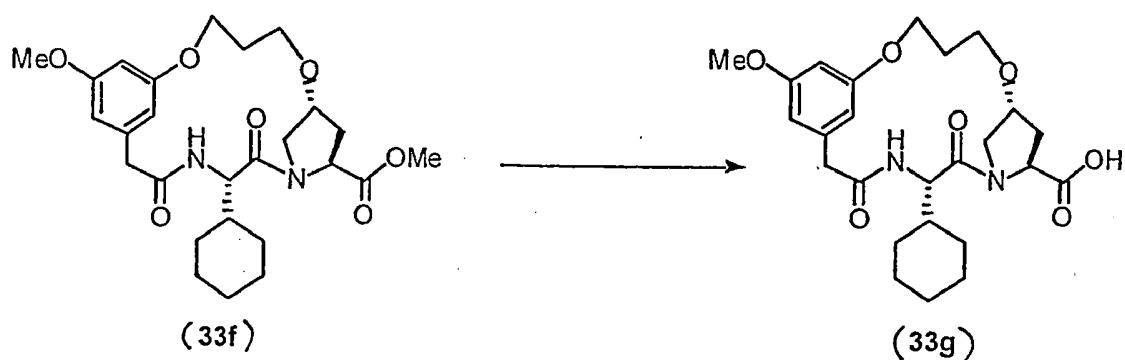
Požadovaná zlúčenina 33e sa pripravila z produktu 33d podľa postupu z Príkladu 1 Krok G. Rýchla chromatografia (2 až 5% MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 33e v 56% výťažku.

Krok E



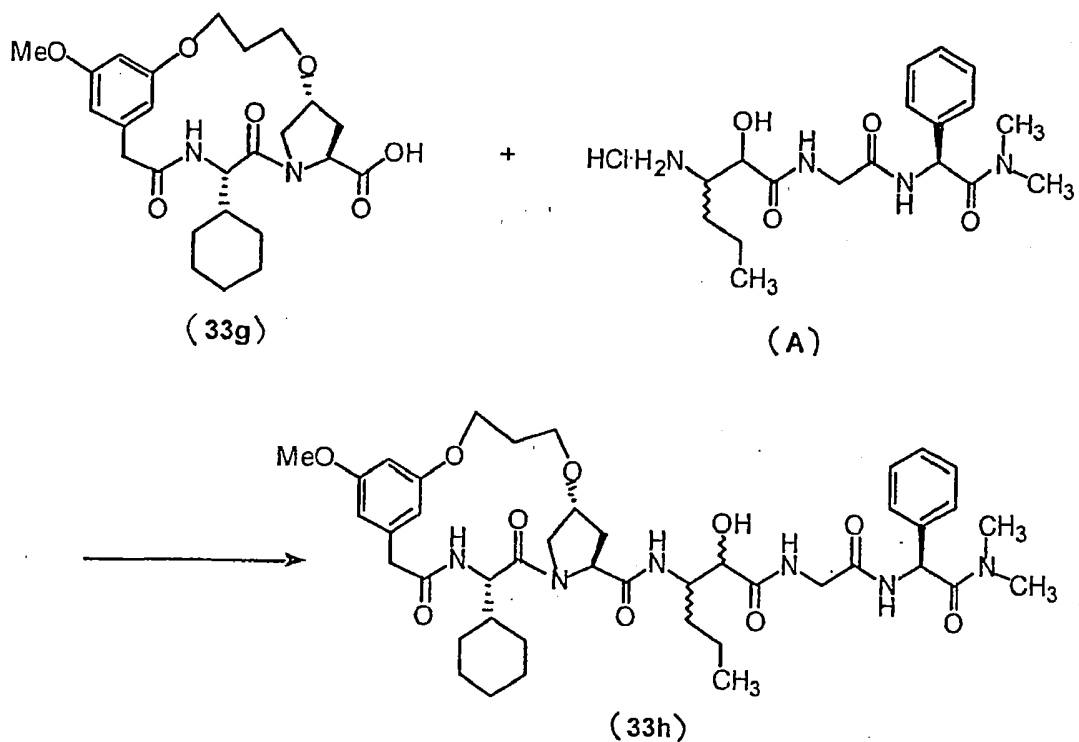
Požadovaná zlúčenina 33f sa pripravila z produktu 33e podľa postupu z Príkladu 1 Krok H. Rýchla chromatografia (2 až 5% MeOH/CH₂Cl₂) poskytla produkt 33e ako zmes s trifenyfosfínoxidom, ktorá sa použila v nasledujúcej reakcii bez ďalšieho čistenia.

Krok F



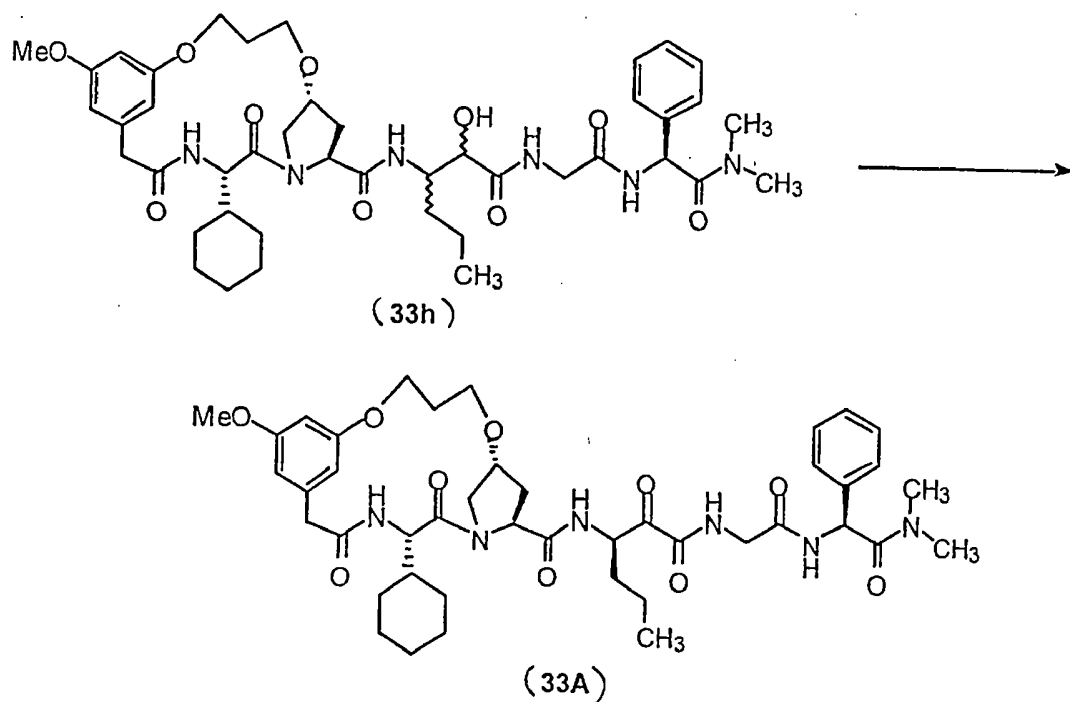
Požadovaná zlúčenina 33g sa pripravila z produktu 33f v 45% výťažku (2 kroky) podľa postupu z Príkladu 1 Krok I.

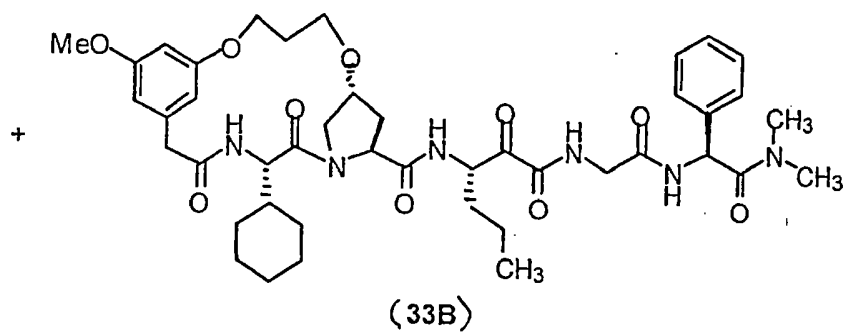
Krok G



Požadovaná zlúčenina 33h sa pripravila z produktu 33g a A podľa postupu z Príkladu 1 Krok J.

Krok H

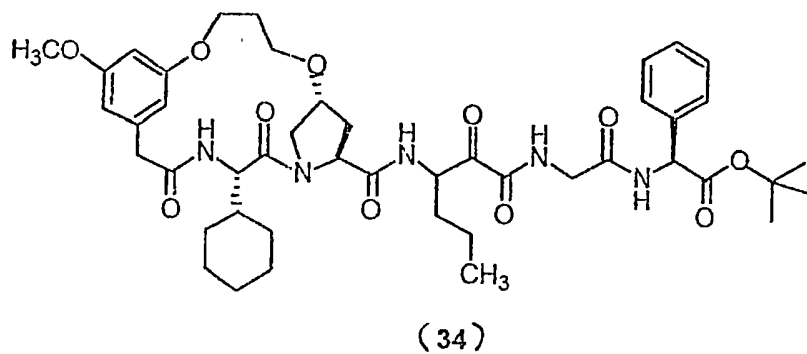




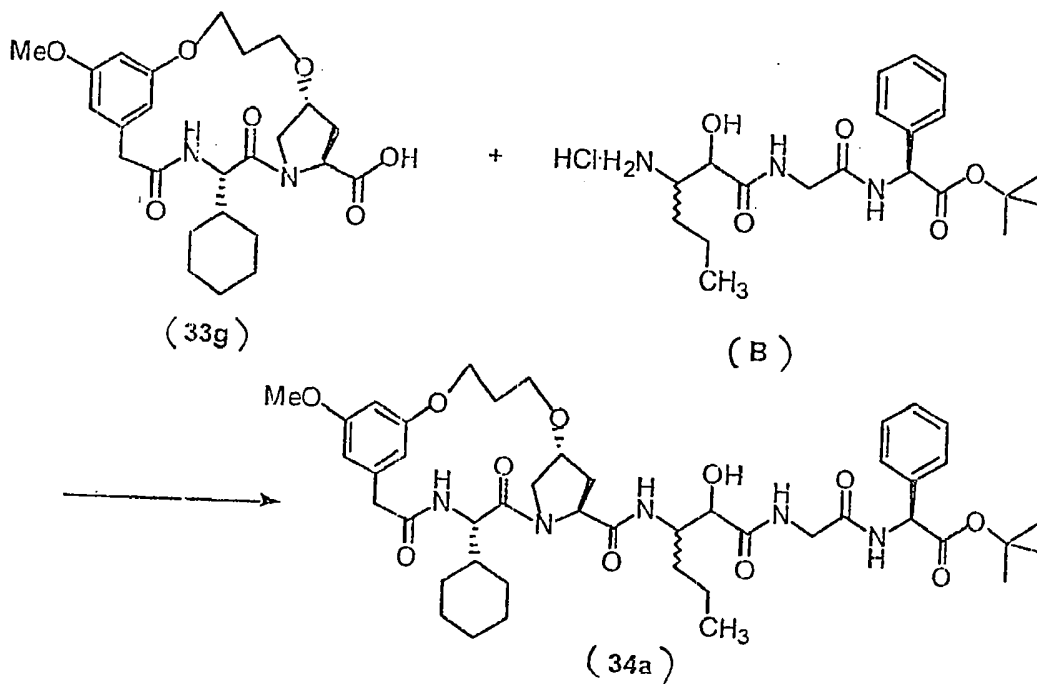
Požadované zlúčeniny sa pripravili z produktu 33h podľa postupu z Príkladu 1 Krok K.

Príklad 34

Príprava zlúčeniny 34

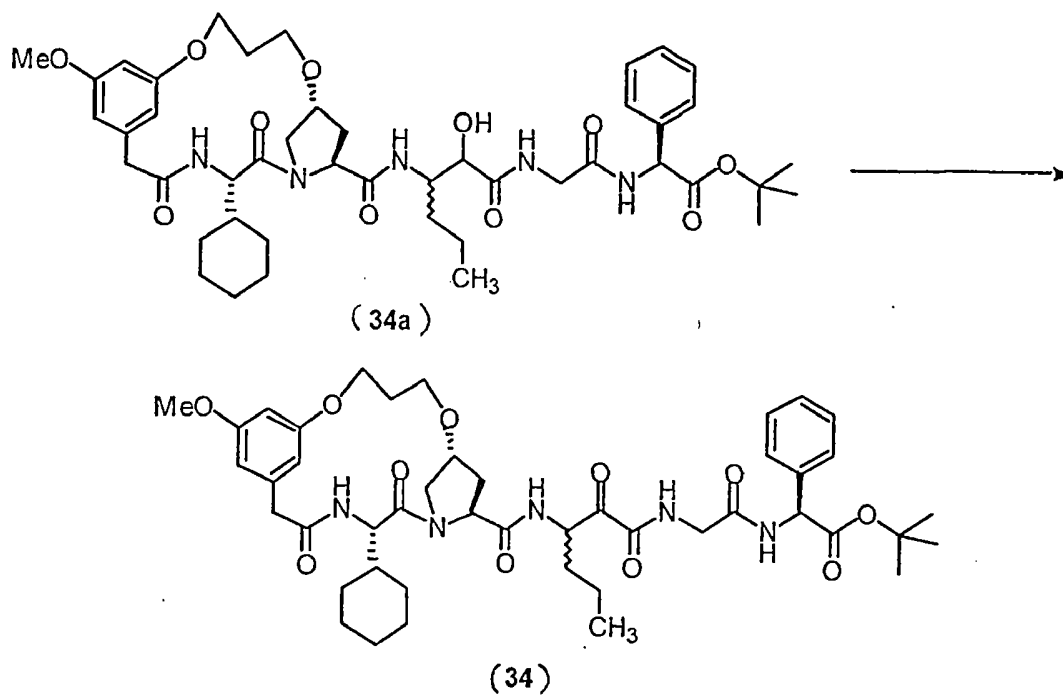


Krok A



Požadovaná zlúčenina 34a sa pripravila podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok J, s výnimkou nahradenia amínu B za amín A. Produkt sa získal ako zmes neoddeliteľných diastereomérov.

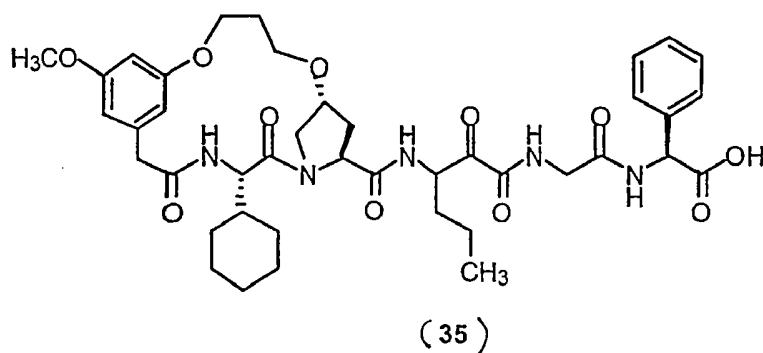
Krok B



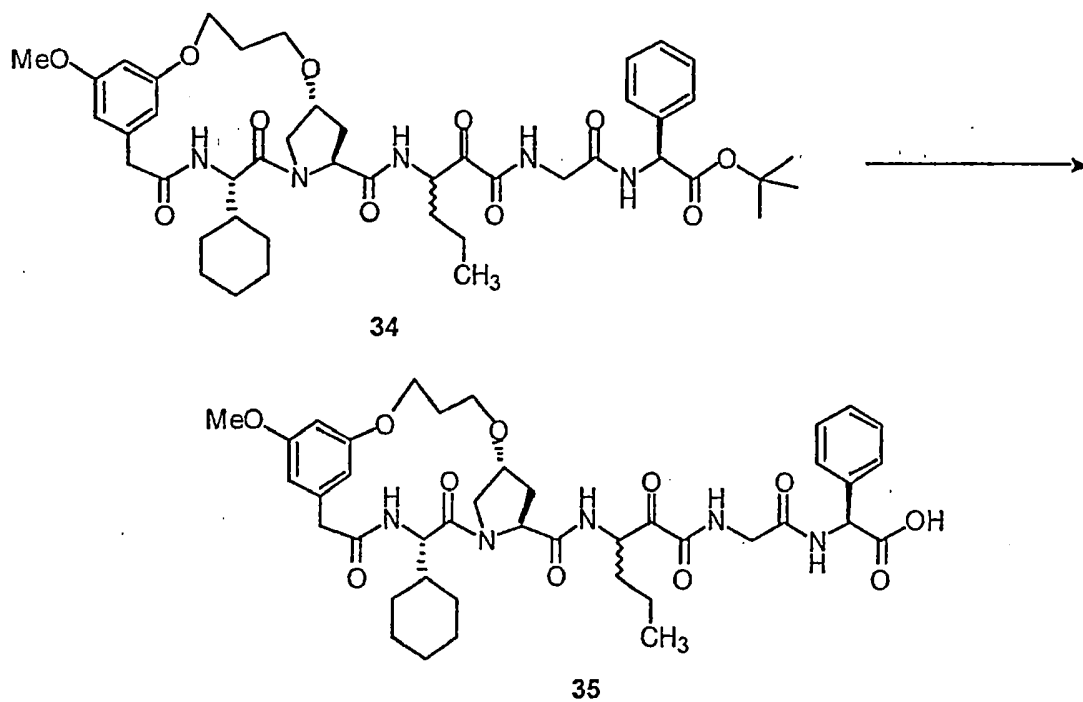
Požadovaná zlúčenina sa pripravila z produktu 34a podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok K.

Príklad 35

Príprava zlúčeniny 35



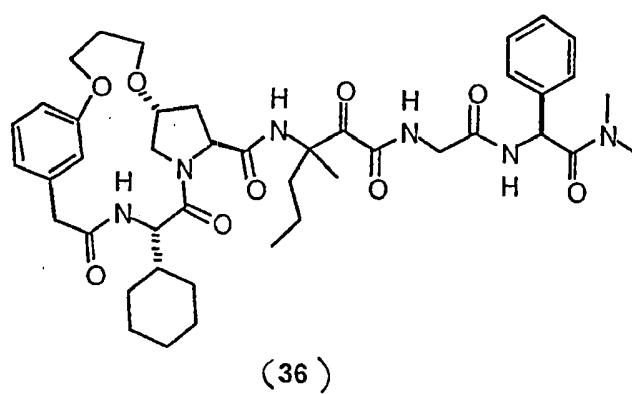
Krok A



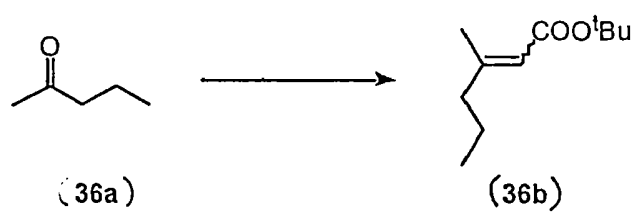
Požadovaná zlúčenina 35 sa pripravila z produktu 34 podľa spôsobu z Príkladu 3 Krok A.

Príklad 36

Príprava zlúčeniny 36

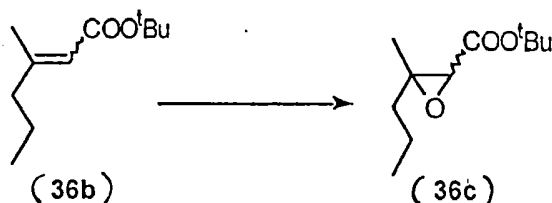


Krok A



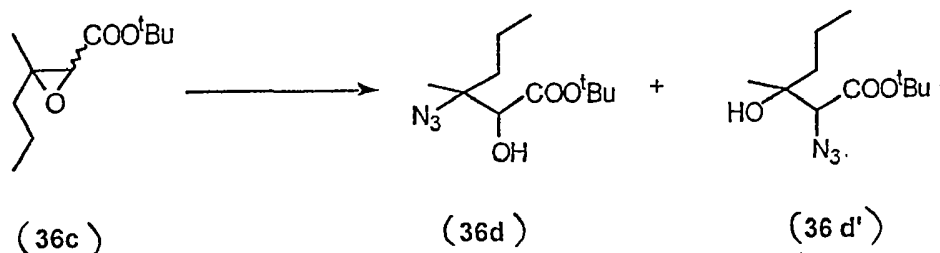
Roztok *tert*-butyl-fosfónacetátu (15,1 g, 50,0 mmol) v suchom THF sa ochladil na 0 °C a potom sa naňho pôsobilo NaH (60%, 2,5 g, 62,5 mmol, 1,25 ekvivalentu) a zmes sa premiešavala 20 minút. Na reakčnú zmes sa pôsobilo 2-pentanónom (4,3 g, 50 mmol) a premiešavala sa pri laboratórnej teplote 24 hodín. Reakčná zmes sa zriedila vodným roztokom NaHCO₃ a extrahovala sa do éteru (3x 100 ml). Spojené éterové vrstvy sa extrahovali soľankou, vysušili sa (MgSO₄), skoncentrovali sa za vákua a destilovali, čím sa získalo 8,2 g (88 %) produktu 36b (stereochemický pomer 2:1).

Krok B



Roztok 36b (5,0 g, 27,1 mmol) sa rozpustil v dichlóretáne a potom sa naň pôsobilo 4,4'-tiobis-(2-*tert*-butyl-5-metylphenolom) (100 mg) a MCPBA (60 až 80%, 7,76 g, 27,1 mmol) a zahrieval sa pod refluxom počas 4 hodín. Reakčná zmes sa skoncentrovala za vákua a zvyšok sa zriedil éterom (200 ml). Éterová vrstva sa premyla dvakrát nasýteným vodným roztokom Na₂S₂O₃, vodným roztokom NaOH a soľankou (100 ml). Reakčná zmes sa skoncentrovala za vákua, čím sa získalo 4,2 g (77 %) produktu 36c, ktorý sa použil bez úpravy v nasledujúcom kroku.

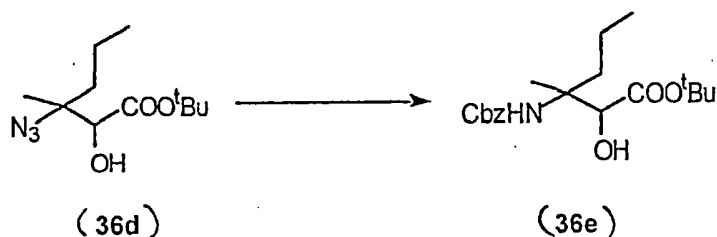
Krok C



Na roztok epoxidu (4,0 g, 18,4 mmol) v suchom etanole (100 ml) sa pôsobilo NaN₃ (12 g, 184 mmol) a NH₄Cl (9,6 g, 184 mmol) a zmes sa zahrievala

pod refluxom počas 36 hodín. Reakčná zmes sa zriedila vodou a reakčná zmes sa extrahovala éterom (300 ml). Spojené organické vrstvy sa vysušili s Na_2SO_4 a skoncentrovali. Zvyšok sa čistil pomocou SiO_2 chromatografie (EtOAc/hexán 1:19), čím sa získalo 1,1 g (28 %) produktu 36d a 731 mg (18 %) produktu 36d' ako bezfarebná kvapalina.

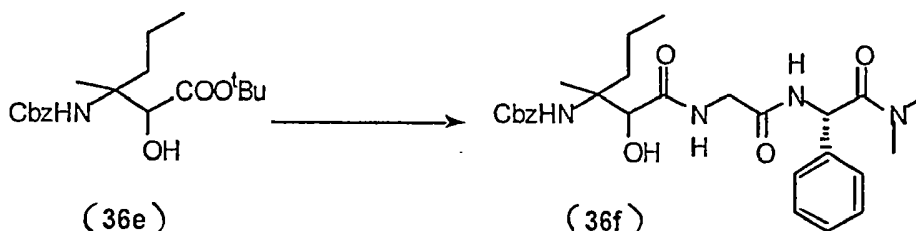
Krok D



Roztok azidu 36d (2,1 g, 8,7 mmol) sa rozpustil v CH_3OH (100 ml) a potom sa pôsobilo Pd/C (50 mg) a zmes sa hydrogenovala (276 kPa (40 psi)) 24 hodín. Reakčná zmes sa prefiltrovala cez vrstvu Celite a filtrát sa skoncentroval za vákua. Zvyšok sa použil v nasledujúcej reakcii bez ďalšieho čistenia.

Roztok Cbz-Cl (1,48 g, 8,7 mmol, 1,23 ml) sa pridal po kvapkách do zmesi amínu a Et_3N (878 mg, 1,25 ml) pri -78°C v CH_2Cl_2 (30 ml). Reakčná zmes sa zahriala na laboratórnu teplotu a skoncentrovala za vákua. Zvyšok sa chromatografoval na SiO_2 (EtOAc/hexán 8:2), čím sa získal produkt 36e (450 mg, 15 %) ako bezfarebná tuhá látka.

Krok E



Roztok produktu 36e (450 mg, 1,29 mmol) v $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{TFA}$ (10 ml, 1:1) sa premiešaval pri laboratórnej teplote počas 4 hodín. Reakčná zmes sa skoncentrovala za vákua, čím sa získala kyselina (250 mg), ktorá sa použila v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

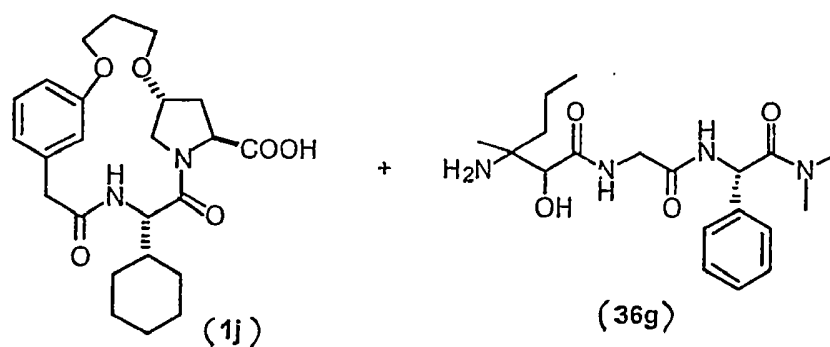
Kyselina získaná hydrolýzou produktu 36e sa rozpustila v CH_2Cl_2 (10 ml) pri $-20\text{ }^\circ\text{C}$ a potom sa na ňu pôsobilo H-glycyl-fenyglycyl- $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ (281 mg, 0,93 mmol), HOObt (208 mg, 1,27 mmol, 1,25 ekvivalentu) EDCI (244 mg, 1,27 mmol) a NMM (343 mg, 3,4 mmol, 490 μl). Reakčná zmes sa uskladnila v mrazničke na 24 hodín a potom sa zriedila vodným roztokom HCl (1 mol/l, 50 ml). Reakčná zmes sa extrahovala CH_2Cl_2 (3x 50 ml). Spojené organické vrstvy sa extrahovali vodným roztokom HCl (1 mol/l, 100 ml), vodným NaHCO_3 (1 mol/l, 100 ml), soľankou (100 ml), vysušili sa (MgSO_4), prefiltrovali a skoncentrovali sa za vákua a chromatografovali na SiO_2 (acetón/hexány 1:3), čím sa získal produkt 36f (330 mg, 75 %) ako bezfarebná tuhá látka.

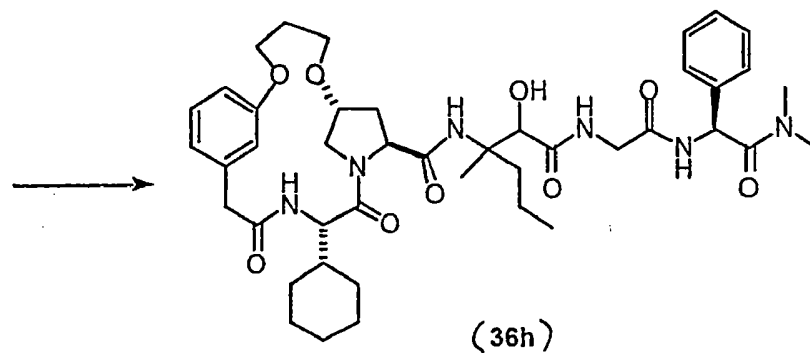
Krok F



Roztok 36f sa rozpustil v CH_3OH (20 ml) a potom sa naň pôsobilo Pd/C (10% (mol.), 20 mg). Reakčná zmes sa hydrogenovala pri 276 kPa (40 psi) 12 hodín. Reakčná zmes sa prefiltrovala cez vrstvu Celite a filtrát sa skoncentroval za vákua a priamo použil v nasledujúcom kroku.

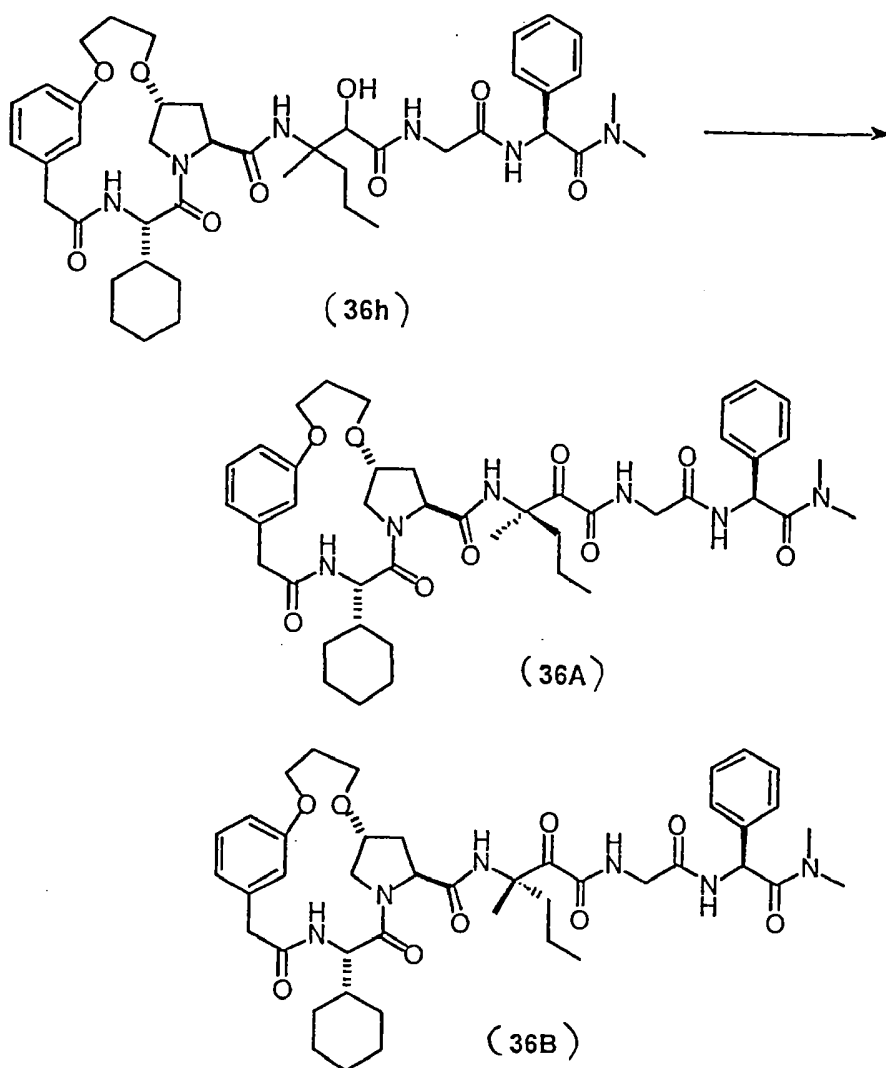
Krok G





Očakávaný produkt 36h sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade I
Krok J. Kopulovaný materiál sa použil priamo v nasledujúcom kroku na syntézu
zlúčenín 36A a 36B.

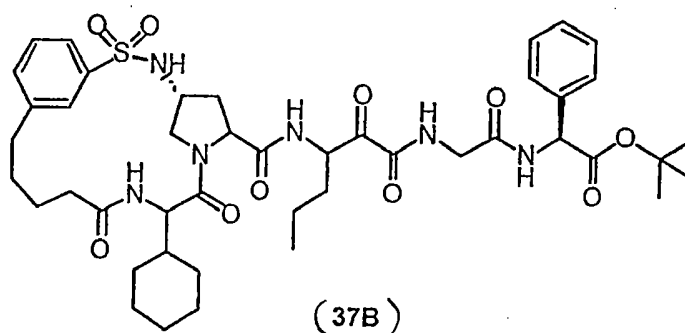
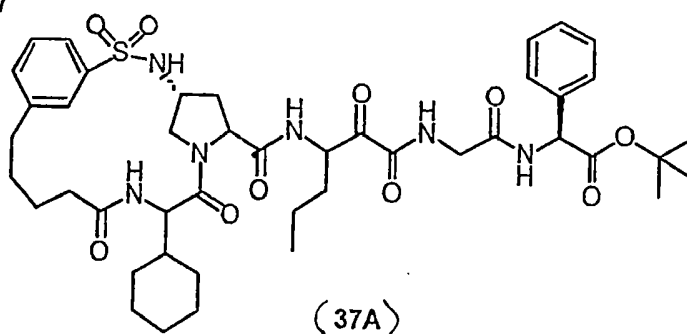
Krok H



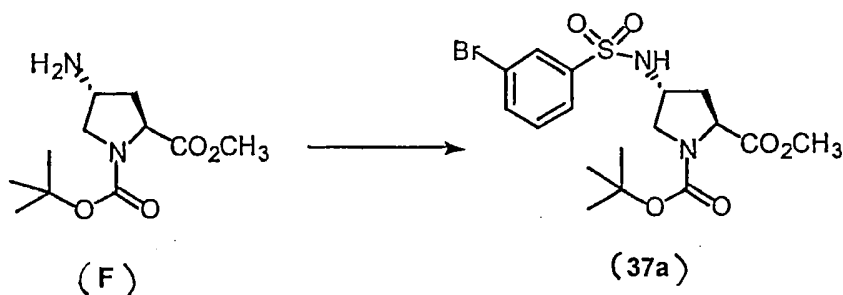
Požadované produkty 36A a 36B sa získali pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K.

Príklad 37

Príprava zlúčeniny 37



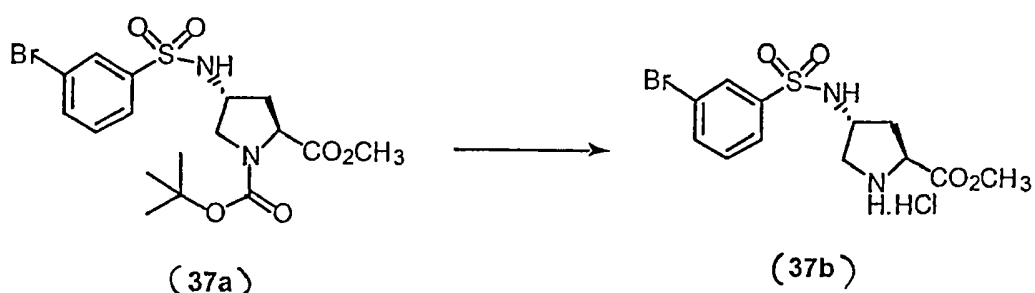
Krok A



Do studeného (0 °C) roztoku F (2,3 g, 9,43 mmol) v dichlórmetáne (20 ml) sa pridal trietylamin (3,97 ml, 28,28 mmol), DMAP (niekoľko kryštálov) a 3-bróm-benzénsulfonylchlorid (3,61 g, 14,14 mmol). Reakčná zmes sa nechala stáť v chladničke (0 °C až 5 °C) počas noci. Reakčná zmes sa premyla nasýteným NaHCO_3 , a 10% roztokom kyseliny citrónovej. Organická vrstva sa vysušila (Na_2SO_4) a skoncentrovala sa. Zvyšok sa čistil pomocou rýchlej chromatografie použitím zmesi 95/5 až 90/10 dichlórmetán/EtOAc, čím sa získalo 2,7 g (62%)

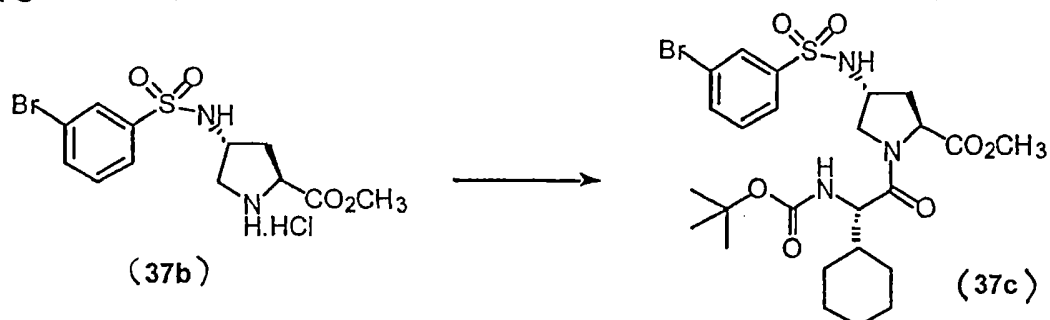
výtěžok) produktu 37a HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{17}H_{24}N_2O_6SBr$: 465,0518 ($M+H$)⁺. Nájdené: 465,0497.

Krok B



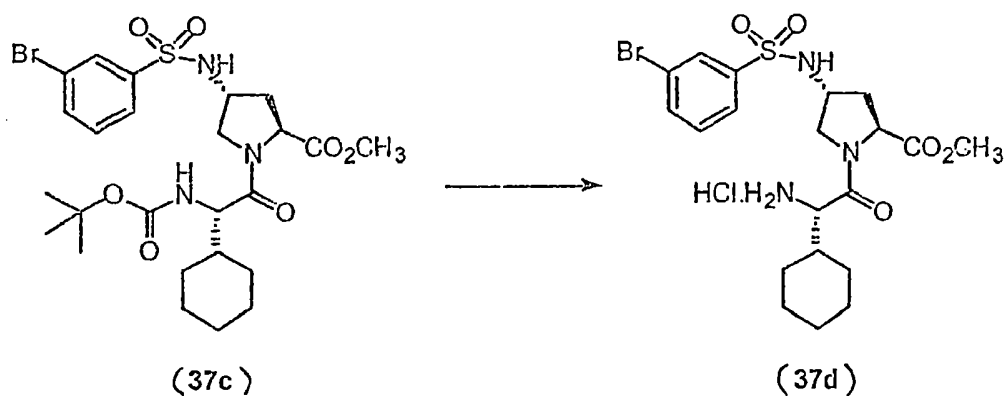
Požadovaný produkt 37b sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok C. Surový materiál sa použil v nasledujúcom kroku bez čistenia.

Krok C



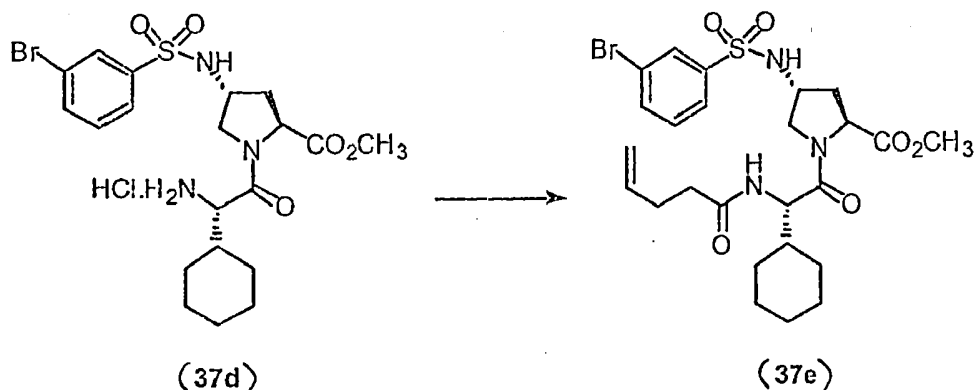
Požadovaný produkt 37c sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok D v 97% výtážku. Tento materiál po spracovaní bol dostatočne čistý na to, aby sa preniesol ďalej.

Krok D



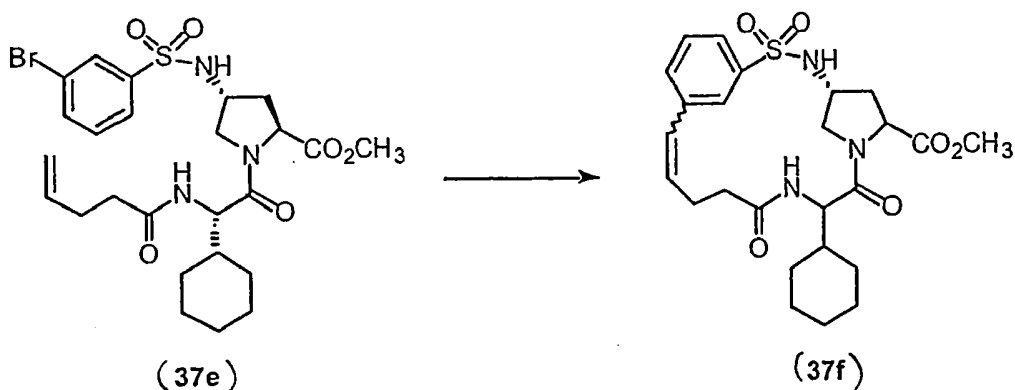
Požadovaný produkt 37d sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok E. Surový materiál sa použil v nasledujúcom kroku bez čistenia.

Krok E



Požadovaný produkt 37e sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok F použitím kyseliny penténovej ako kopulačného partnera. Čistenie zvyšku pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 90/10 až 80/20 dichlórmetán/EtOAc poskytlo 35% výťažok produktu 37e. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{25}H_{35}N_3O_6SBr$: 586,1409 ($M+H$)⁺. Nájdené: 586,1423.

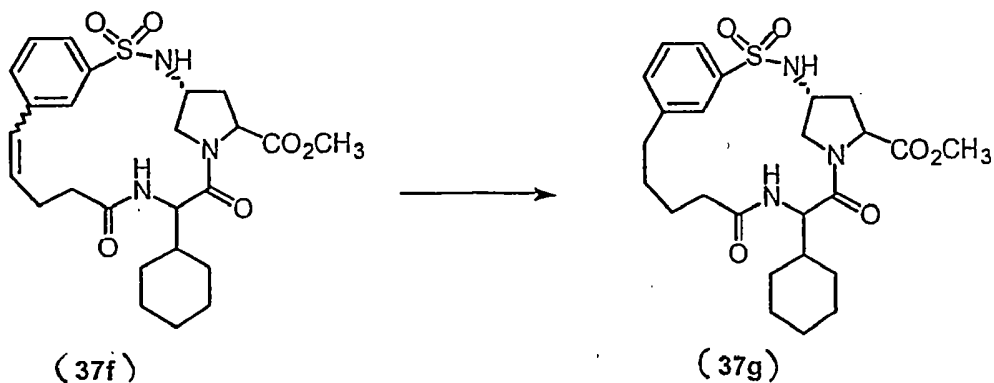
Krok F



Do premiešavaného roztoku produktu 37e (660 mg, 1,13 mmol) v DMF (10 ml) pod dusíkovou atmosférou sa pridal trietylamin (3,61 ml, 32,77 mmol), uhličitan draselný (780 mg, 5,65 mmol), tetrabutylamóniumbromid (730 mg, 2,26 mmol), a octan paládnatý (33 mg, 0,15 mmol). Zmes sa zahrieva pri 100 °C počas 2 hodín. Reakčná zmes sa ochladila na laboratórnu teplotu, zriedila EtOAc a premyla 5% roztokom kyseliny fosforečnej. Organická vrstva sa oddelila, vysušila sa (Na_2SO_4) a skoncentrovala, čím sa získalo 280 mg (49% výťažok) produktu 37f ako zmes

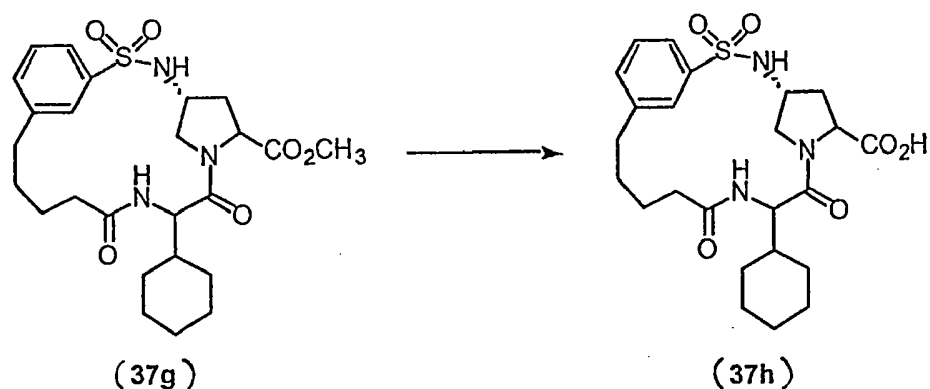
diastereomérov. Tento materiál bol dostatočne čistý na to, aby sa preniesol do nasledujúceho kroku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{25}H_{34}N_3O_6S$: 504,2168 ($M+H$)⁺. Nájdene: 504,2155.

Krok G



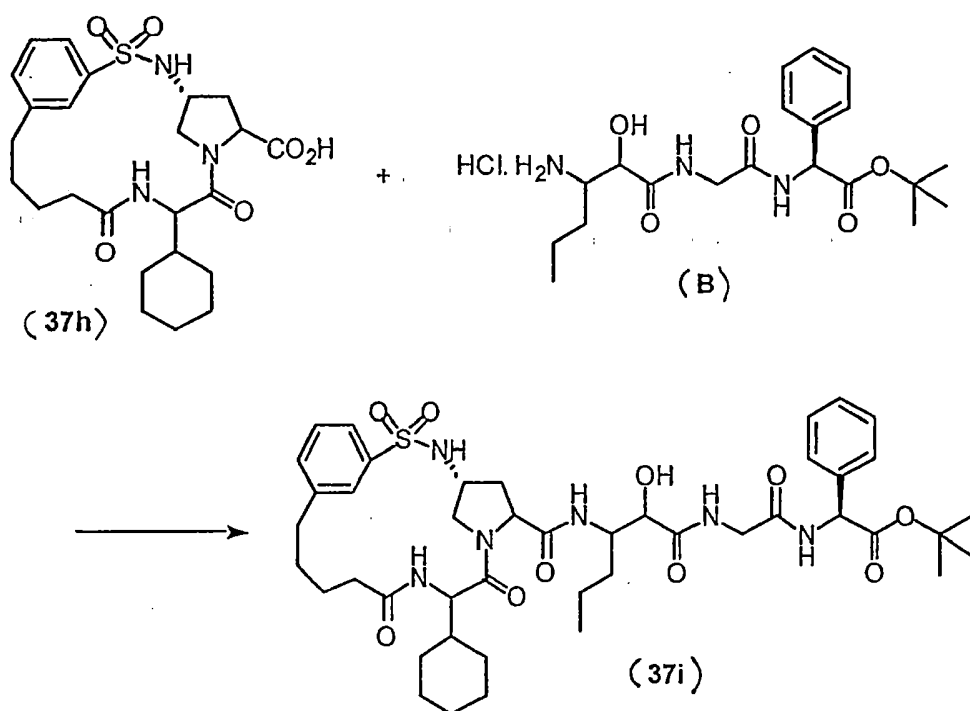
Požadovaný produkt 37g sa získal pomocou hydrogenačného postupu opísaného v Príklade 1 Krok 6 v 73% výťažku. Tento materiál bol dostatočne čistý pre ďalšie štúdium. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{25}H_{36}N_3O_6S$: 506,2325 ($M+H$)⁺. Nájdene: 506,2314.

Krok H



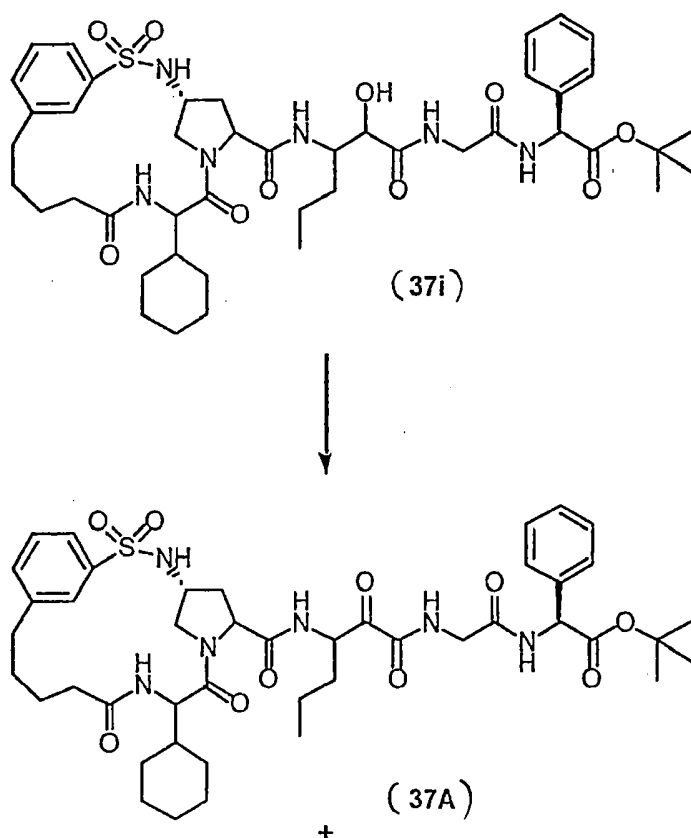
Požadovaný produkt 37h sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok H v 84% výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{24}H_{34}N_3O_6S$: 492,2168 ($M+H$)⁺. Nájdene: 492,2175.

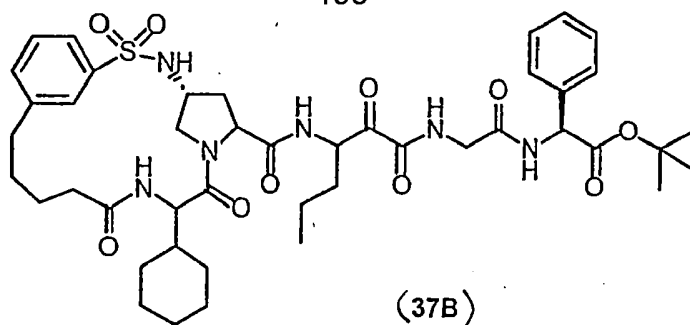
Krok I



Očakávaný produkt 37i sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 2 Krok a v 90% výťažku. Surový materiál bol dostatočne čistý pre ďalšie štúdium. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{44}H_{63}N_6O_{10}S$: 867,4326 ($M+H$)⁺. Nájdené: 867,4342.

Krok J

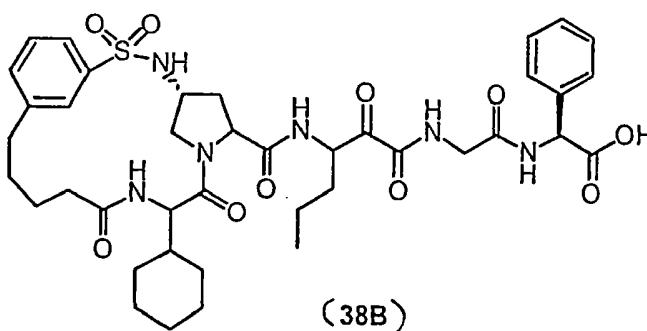
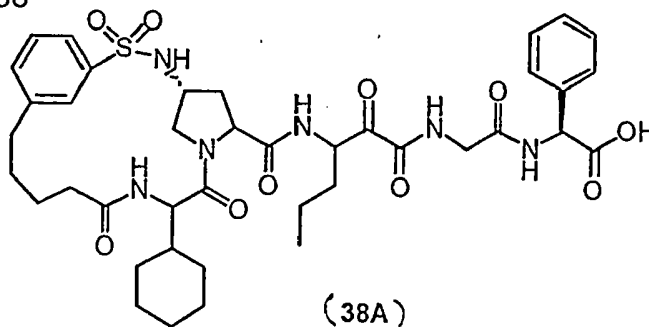




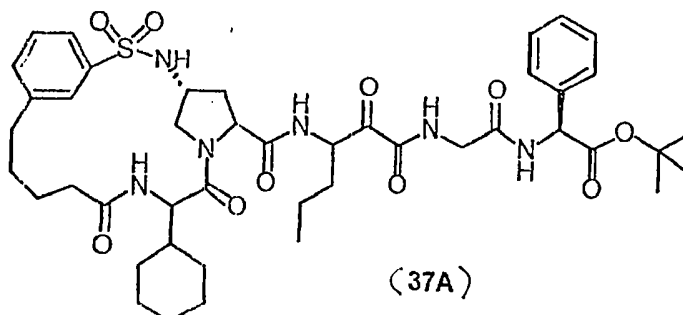
Požadované materiály 37A a 37B boli syntetizované pomocou oxidačného postupu opísaného v Príklade 2 Krok B. Čistenie zvyšku použitím zmesi 98/2 až 96/4 dichlórmetán/MeOH poskytlo produkt 37A (61 %, menej polárny) a 37B (15 %, polárnejší) ako zmes diastereomérov. HRMS (FAB) vypočítané pre C₄₄H₆₁N₆O₁₀S: 865,4170 (M+H)⁺. Nájdené: 865,4190 (37A), 865,4181 (37B).

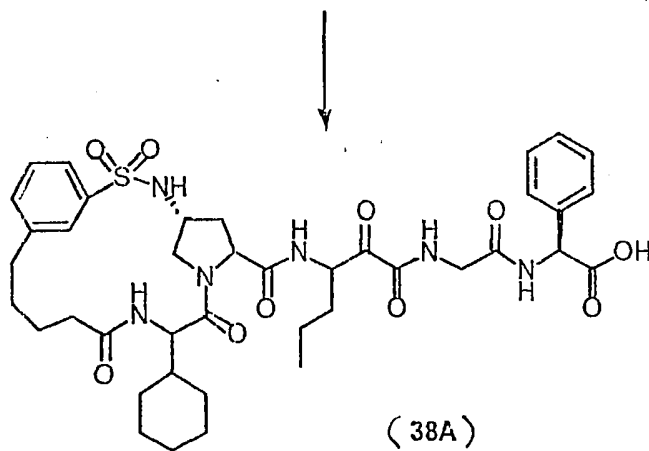
Príklad 38

Príprava zlúčeniny 38



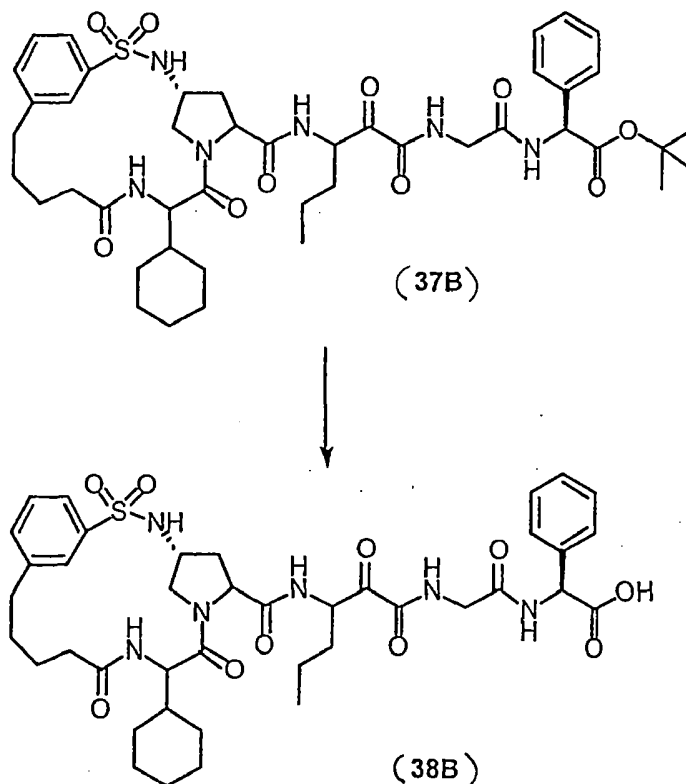
Krok A





Požadovaný materiál 38A sa syntetizoval tak, ako je opísané v Príklade 3
Krok A v 91% výťažku.

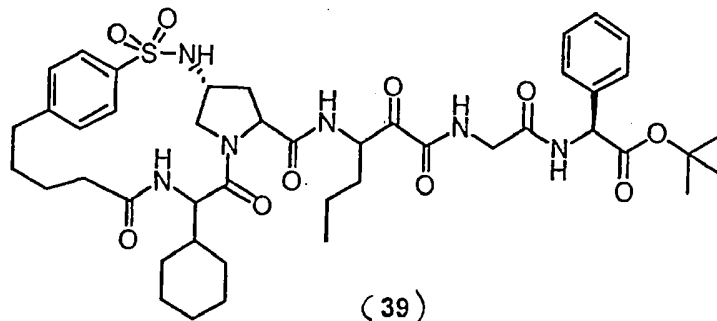
Krok B



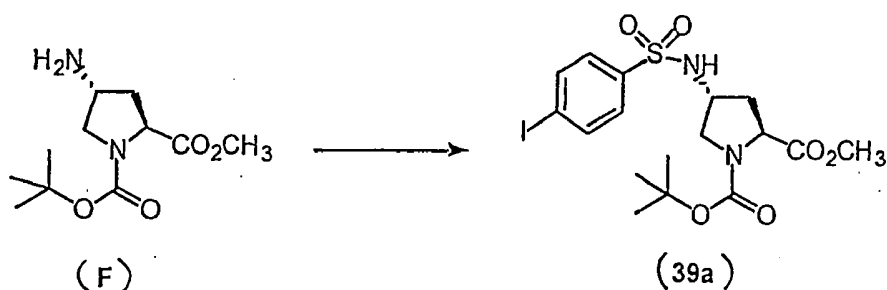
Požadovaný materiál 38B sa syntetizoval tak, ako je opísané v Príklade 3
Krok A v 83% výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre C₄₀H₅₃N₆O₁₀S: 809,3544
(M+H)⁺. Nájdene: 809,3547.

Príklad 39

Príprava zlúčeniny 39

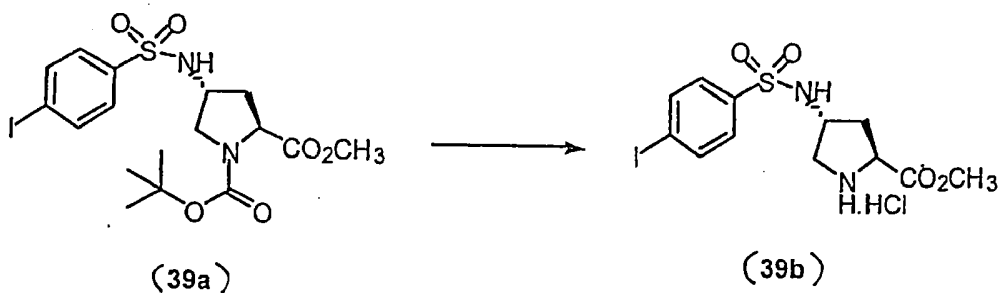


Krok A



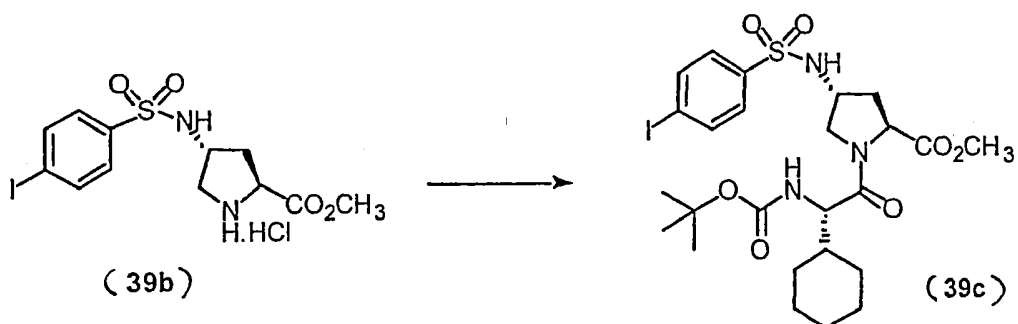
Požadovaný produkt 39a sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 37 Krok A použitím pipsyl-chloridu namiesto 3-brómbenzénsulfonylchloridu. Čistenie zvyšku pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 95/5 až 90/10 dichlórmetán/EtOAc poskytlo 75% výťažok produktu 39a. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{17}H_{24}N_2O_6SI$: 511,0400 (M+H)⁺. Nájdene: 511,0386.

Krok B



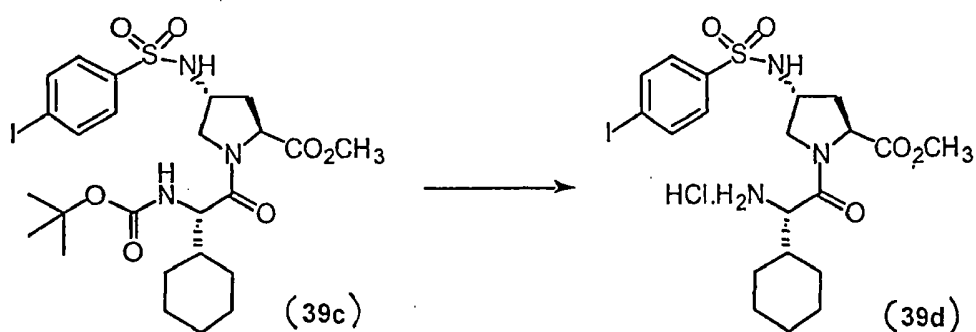
Požadovaný produkt 39b sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok C. Surový materiál sa použil v nasledujúcom kroku bez čistenia.

Krok C



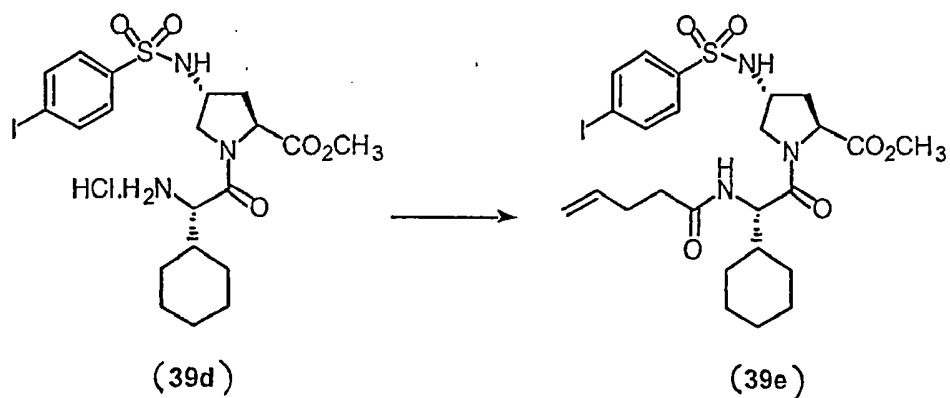
Požadovaný produkt 39c sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok D. Čistenie zvyšku pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 90/10 až 80/20 dichlórmetán/EtOAc poskytlo 68% výťažok produktu 39c. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{25}H_{37}N_3O_7Si$: 650,1397 ($M+H$)⁺. Nájdené: 650,1398.

Krok D



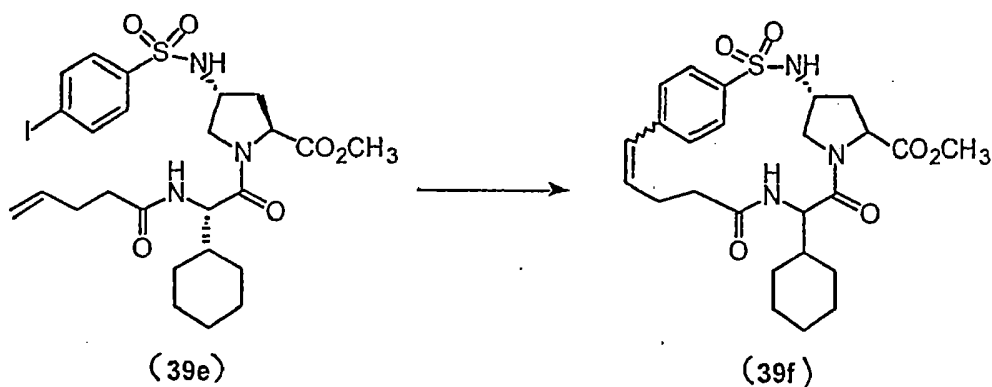
Požadovaný produkt 39d sa získal pomocou spôsobu opísaného pre Príklad 11 Krok E. Surový materiál sa použil v nasledujúcom kroku bez čistenia.

Krok E



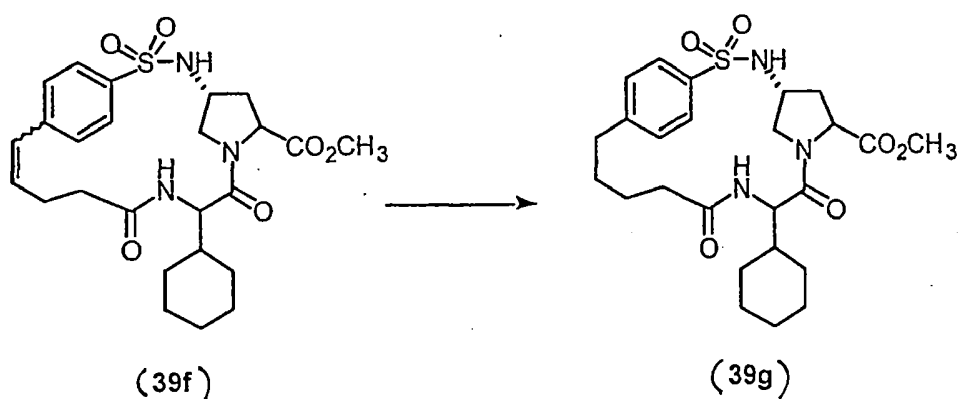
Požadovaný produkt 39e sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok F použitím kyseliny penténovej ako kopulačného partnera. Čistenie zvyšku pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 dichlórmetán/MeOH poskytlo 76% výťažok produktu 39e.

Krok F



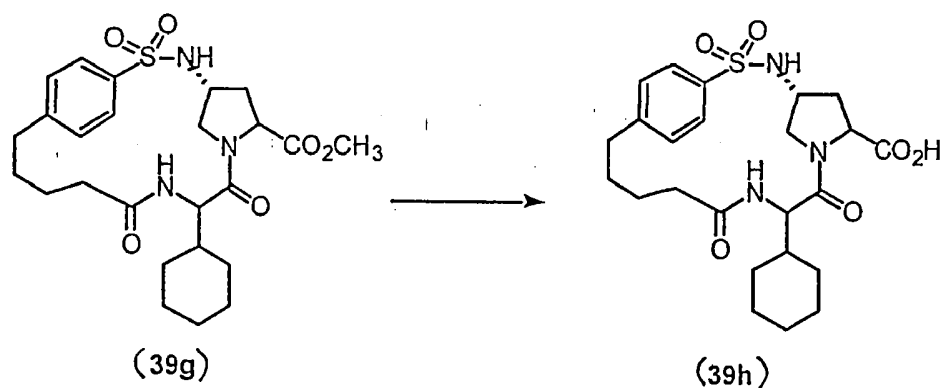
Požadovaný produkt 39f sa získal pomocou spôsobu opísaného pre Príklad 37 Krok F. Čistenie zvyšku pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 dichlórmetán/MeOH poskytlo 28% výťažok produktu 39f ako zmes diastereomérov. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{25}H_{34}N_3O_6S$: 504,2168 ($M+H$)⁺. Nájdené: 504,2160.

Krok G



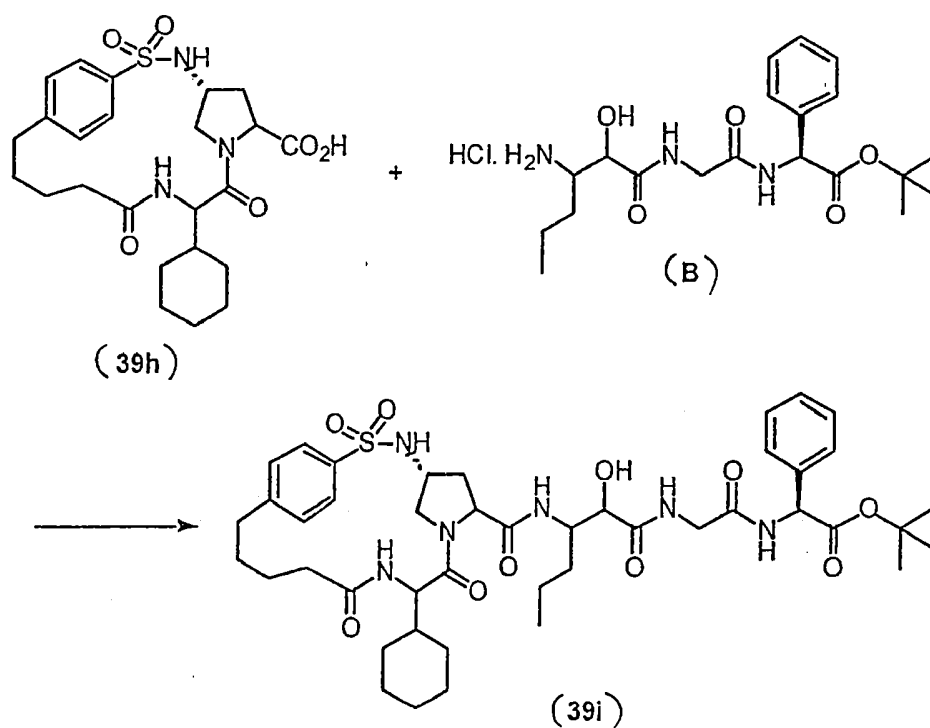
Požadovaný produkt 39g sa získal pomocou hydrogenačného postupu opísaného v Príklade 1 Krok G v 84% výťažku. Tento materiál bol dostatočne čistý pre ďalšie štúdium. HRMS (FAB) Vypočítané pre $C_{25}H_{36}N_3O_6S$: 506,2325 ($M+H$)⁺, Nájdené: 506,2314.

Krok H



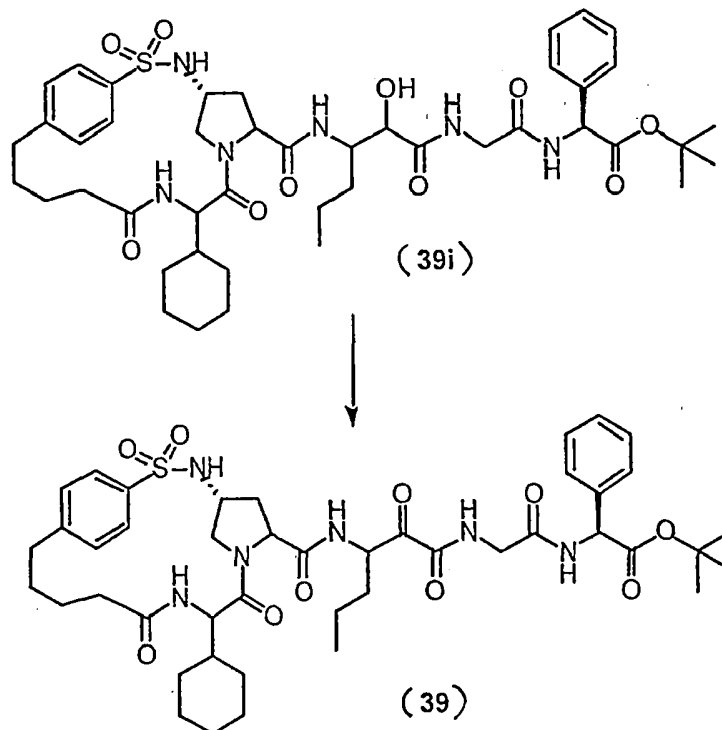
Požadovaný produkt 39h sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok H v kvantitatívnom výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{24}H_{34}N_3O_6S$: 492,2168 (M+H)⁺. Nájdené: 492,2175.

Krok I



Očakávaný produkt 39i sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 2 Krok A v 36% výťažku. Surový materiál bol dostatočne čistý pre ďalšie štúdium. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{44}H_{63}N_6O_{10}S$: 867,4326 (M+H)⁺. Nájdené: 867,4342.

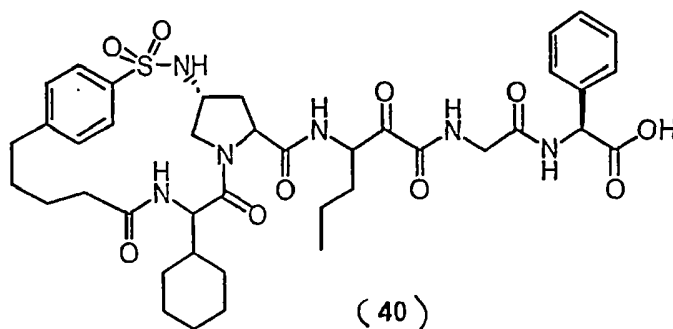
Krok J



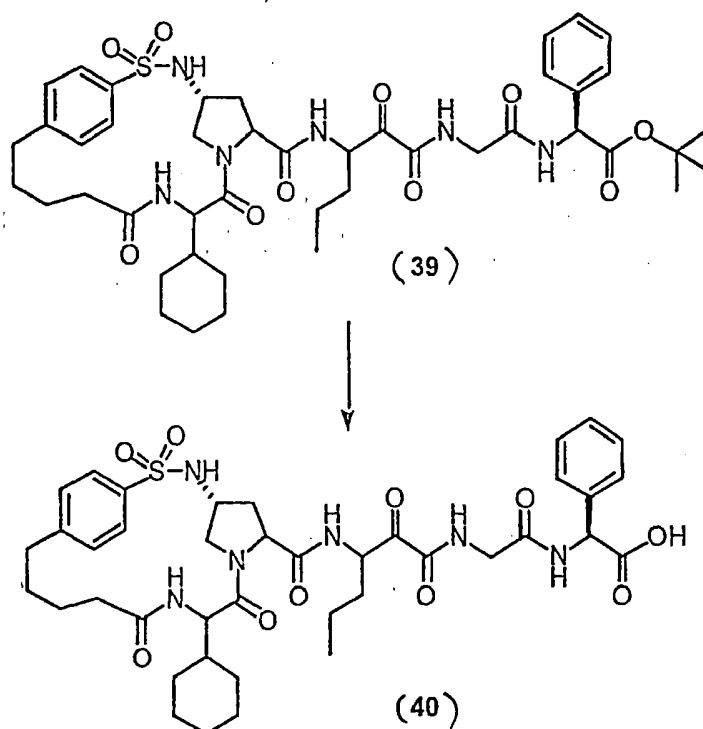
Požadovaný materiál 39 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného v Príklade 2. Krok B. Čistenie zvyšku použitím zmesi 98/2 dichlórmetán/MeOH poskytlo produkt 39 v 24% výťažku ako zmes diastereomérov. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{44}H_{61}N_6O_{10}S$: 865,4170 ($M+H$)⁺. Nájdené: 865A181.

Príklad 40

Príprava zlúčeniny 40



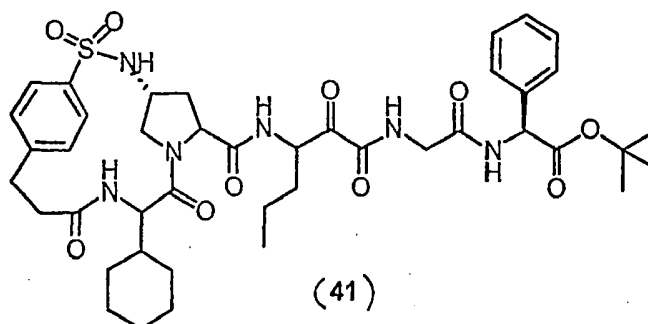
Krok A



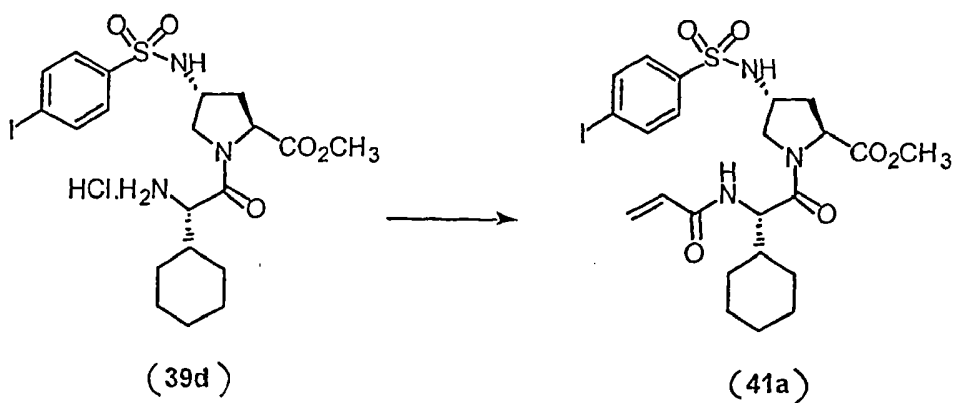
Požadovaný materiál 40 sa získal pomocou postupu opísaného pre Príklad 3 Krok A v 93% výťažku ako zmes diastereomérov. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{40}H_{53}N_6O_{10}S$: 809,3544 ($M+H$)⁺. Nájdené: 809,3544.

Príklad 41

Príprava zlúčeniny 41

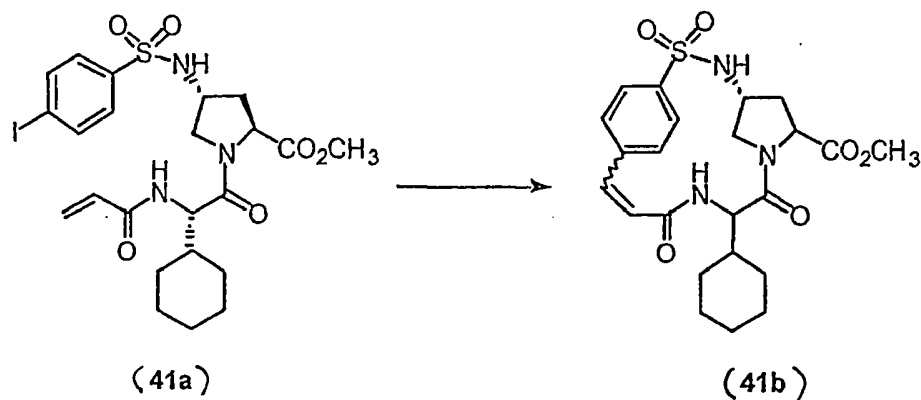


Krok A



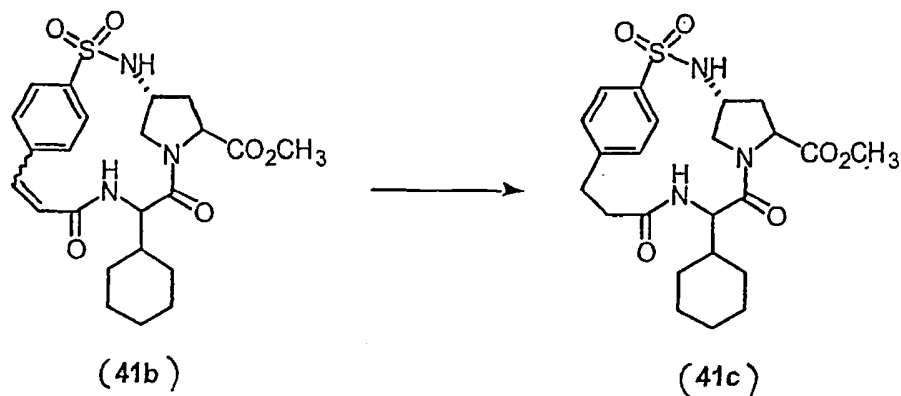
Do 25 ml pridávacieho lievika sa dal benzén (5 ml), DMF (0,32 ml, 4,1 mmol) a tionylchlorid (0,33 ml, 4,5 mmol). Po 5 minút sa objavili dve vrstvy. Spodná vrstva sa oddelila a pridala pomaly do ochladeného (0 až 5 °C) roztoku kyseliny akrylovej (0,19 ml, 2,8 mmol) v dichlórmetáne. Zmes sa udržiavala pri tejto teplote počas 10 minút. Potom sa pridal trietylamin (0,77 ml, 5,5 mmol), po čom nasledoval produkt 39d (1,13 g, 2,1 mmol). Reakčná zmes sa zahriala na okolitú teplotu počas 5 hodín a reakcia sa zastavila nasýteným NaHCO₃. Organická vrstva sa oddelila, premyla 5% roztokom H₃PO₄ a soľankou. Dichlórmetánová vrstva sa vysušila (Na₂SO₄), a skoncentrovala. Surový materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 dichlórmetán/MeOH, čím sa získalo 870 mg produktu 41a (67% výťažok). HRMS (FAB) vypočítané pre C₂₃H₃₁N₃O₆SI: 604,0978 (M+H)⁺. Nájdené: 604,0964.

Krok B



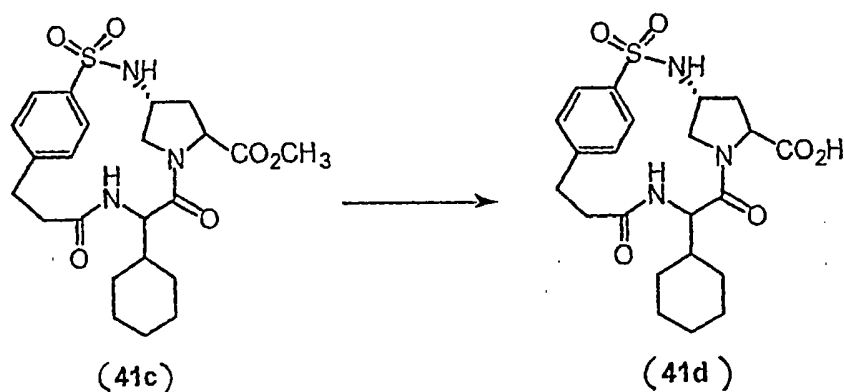
Požadovaný produkt 41b sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 37, Krok F. Zvyšok sa čistil použitím 97/3 dichlórmetán/MeOH, čím poskytol produkt 41b v 26% výťažku. HRMS (FAB) Vypočítané pre C₂₃H₃₀N₃O₆S: 476,1855 (M+H)⁺. Nájdené: 476,1858.

Krok C



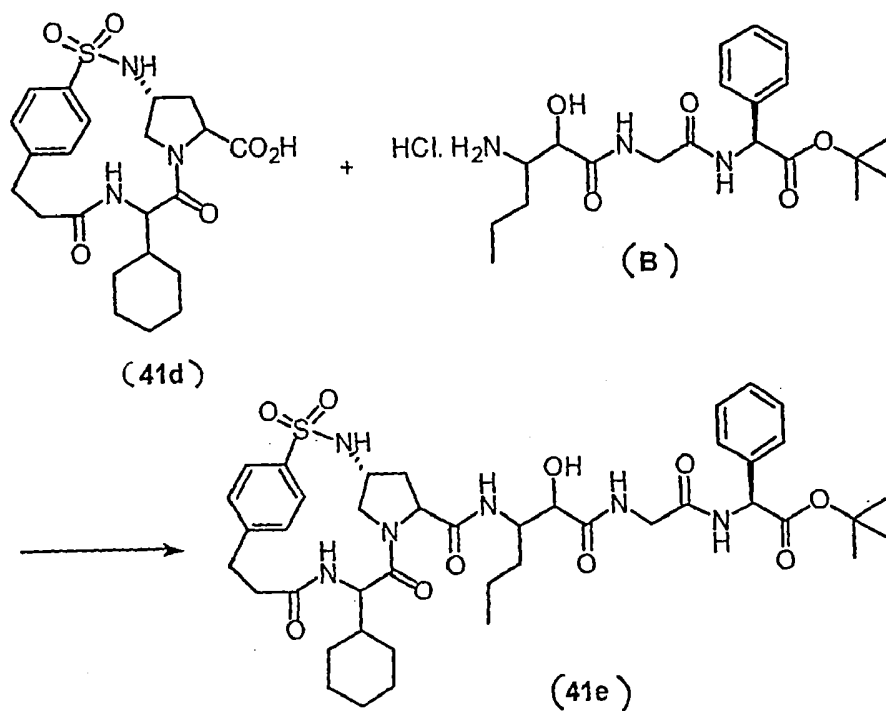
Požadovaný produkt 41c sa získal pomocou hydrogenačného spôsobu opísaného pre Príklad 1 Krok D v 75% výťažku. Tento materiál bol dostatočne čistý pre ďalšie štúdium.

Krok D



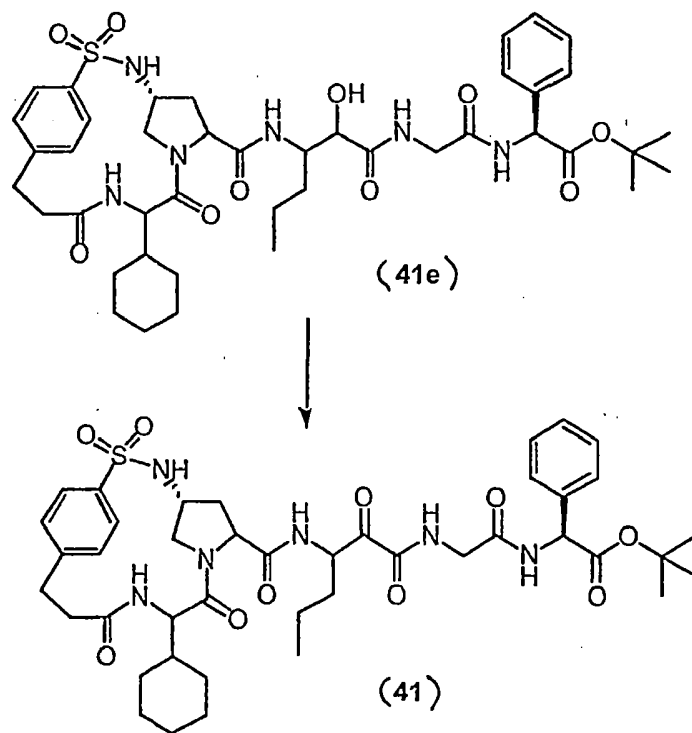
Požadovaný produkt 41d sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok E. Surový materiál sa použil v nasledujúcom kroku bez čistenia.

Krok E



Očakávaný produkt 41e sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 2 Krok A v 63% výťažku. Surový materiál bol dostatočne čistý pre ďalšie štúdium.

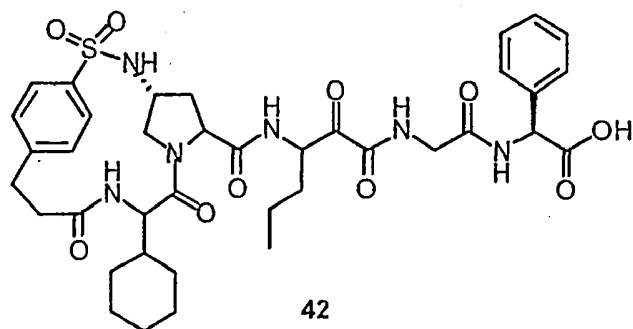
Krok F



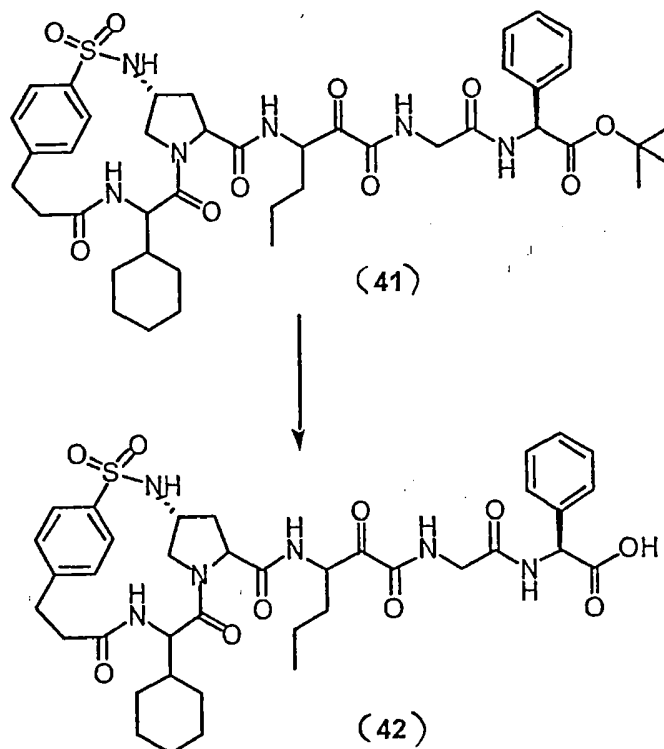
Požadovaný materiál 41 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného v Príklade 2 Krok B. Čistenie zvyšku použitím zmesi 98/2 až 95/5 dichlórmetán/-MeOH poskytlo produkt 41 v 52% výťažku ako zmes diastereomérov.

Príklad 42

Príprava zlúčeniny 42



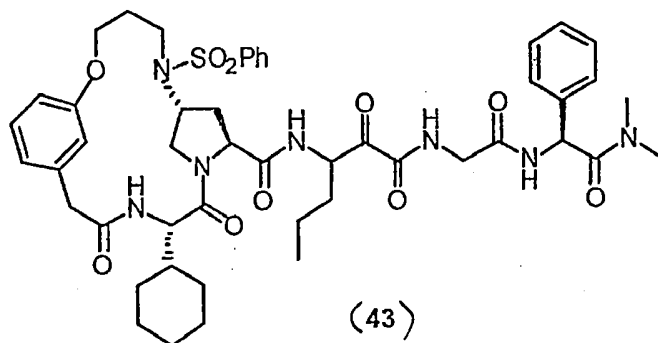
Krok A



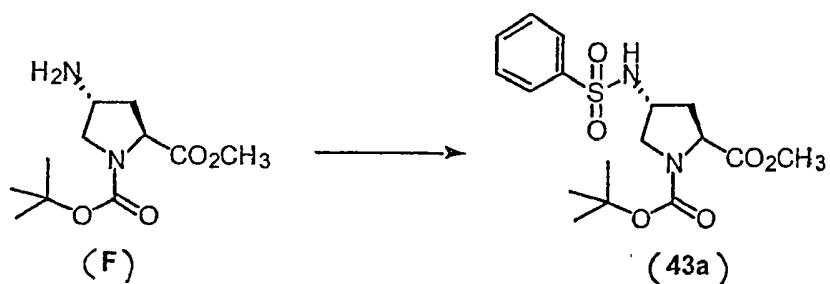
Požadovaný materiál 42 sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 3 Krok A v kvantitatívnom výťažku ako zmes diastereomérov. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{38}H_{49}N_6O_{10}S$: 781,3231 (M+H)⁺. Nájdené: 781,3233.

Príklad 43

Príprava zlúčeniny 43

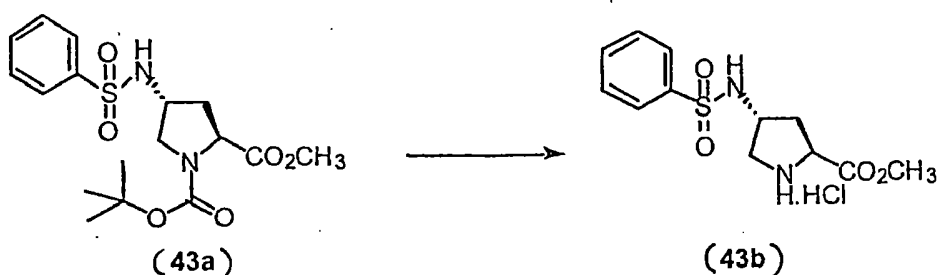


Krok A



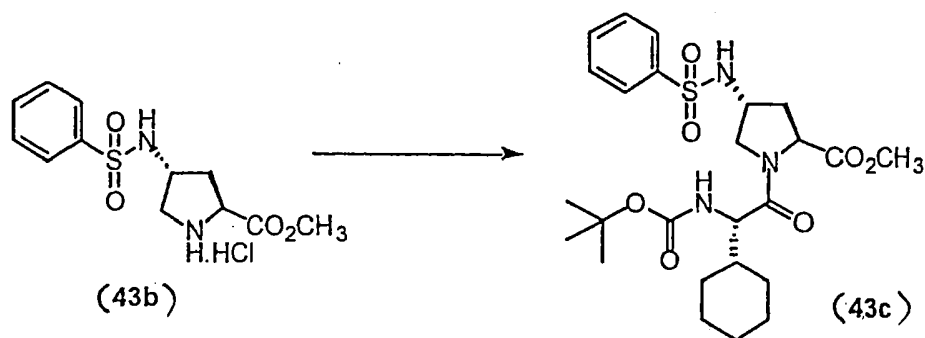
Do studeného (0 °C) roztoku F (5,4 g, 22,1 mmol) v dichlórmetáne (50 ml) sa pridal trietylamín (6,8 ml, 48,6 mmol), DMAP (niekoľko kryštálov) a benzén-sulfonylchlorid (3,29 g, 24,1 mmol). Reakčná zmes sa nechala stáť v chladničke (0 až 5 °C) počas noci. Reakčná zmes sa premyla nasýteným roztokom NaHCO₃ a 10% roztokom kyseliny citrónovej. Organická vrstva sa vysušila (Na₂SO₄) a skoncentrovala. Zvyšok sa čistil pomocou rýchlej chromatografie použitím zmesi 95/5 dichlórmetán/EtOAc, čím sa získalo 5,0 g (59% výťažok) produktu 43a.

Krok B



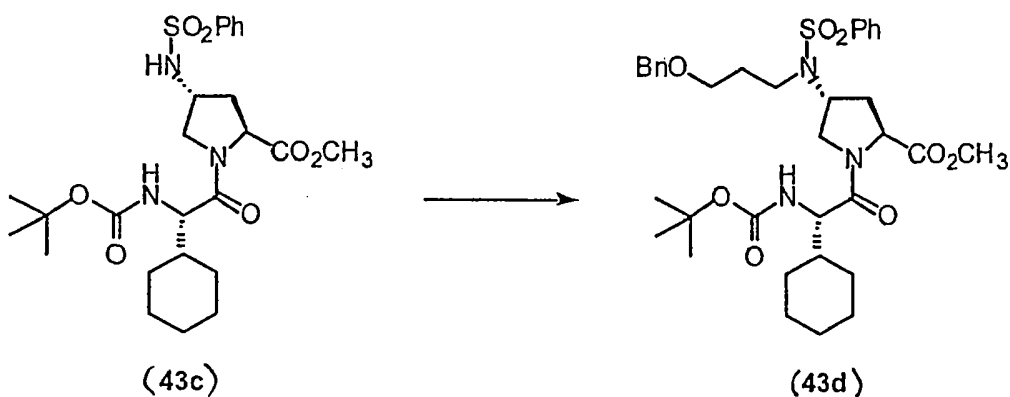
Požadovaný produkt 43b sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok C. Surový materiál sa použil v nasledujúcom kroku bez čistenia.

Krok C



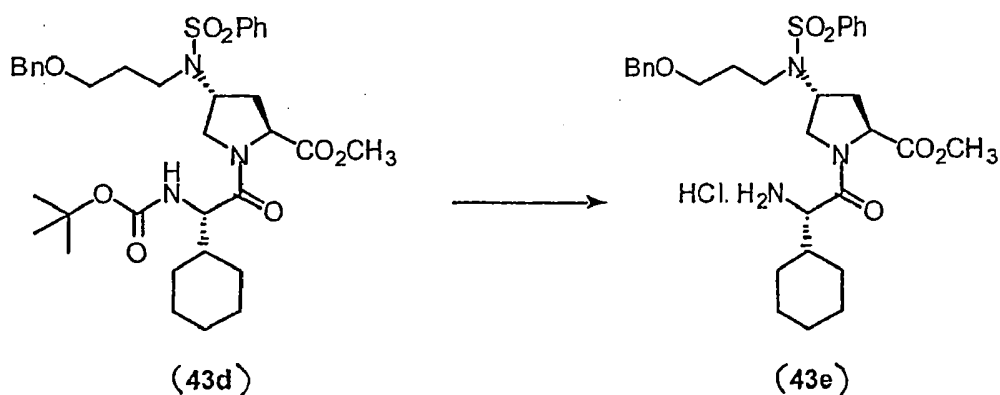
Požadovaný produkt 43c sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok C. Čistenie zvyšku pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 99/1 dichlórmetán/MeOH poskytlo 60% výťažok produktu 43c.

Krok D



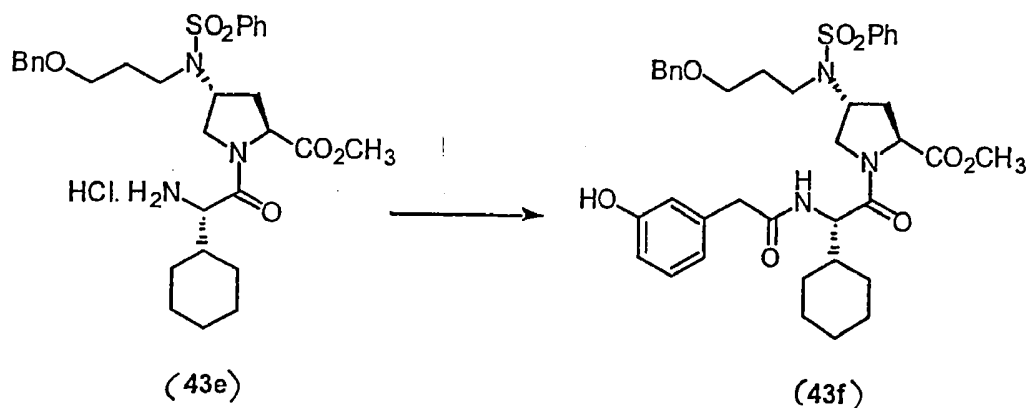
Plynný argón sa prebublával cez studený (0 °C) roztok produktu 43c (1,72 g, 3,28 mmol) v dichlórmetáne (40 ml) počas 20 až 30 minút. Pridal sa ADDP (2,5 g, 9,84 mmol), po čom nasledoval trifenyľfosfín (2,6 g, 9,84 mmol) a 3-benzyl-oxypropanol (0,57 ml, 3,61 mmol). Reakčná zmes sa zahriala na okolitú teplotu a nechala sa stáť počas 2 dní. Reakčná zmes sa skoncentrovala a pridal sa Et₂O (50 ml). Vyzrážaný tuhý materiál sa odfiltroval. Táto operácia sa opakovala dvakrát, čím sa odstránila väčšina vedľajších produktov. Filtrát sa skoncentroval a čistil pomocou rýchlej chromatografie použitím zmesi 90/10 až 85/15 dichlórmetán/EtOAc, čím sa získalo 330 mg produktu 43d. Získané východiskové materiály, spolu s trifenyľfosfínoxidom, sa znova podrobili vyššie opísaným podmienkam, čím sa získalo ďalších 420 mg produktu 43d. Kombinovaný výťažok = 34 %. HRMS (FAB) vypočítané pre C₃₅H₅₀N₃O₈S: 672,3319 (M+H)⁺. Nájdené: 672,3330.

Krok E



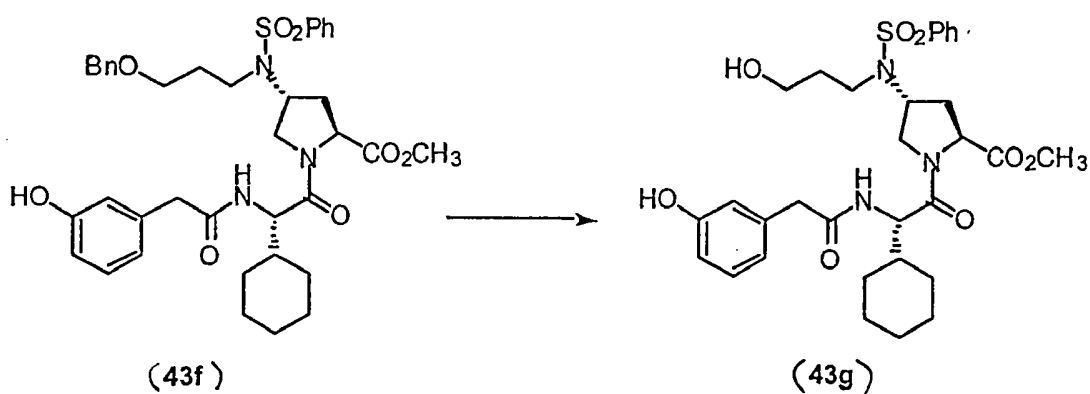
Požadovaný produkt 43e sa získal pomocou spôsobu opísaného pre Príklad 1 Krok E. Surový produkt sa preniesol do nasledujúceho kroku.

Krok F



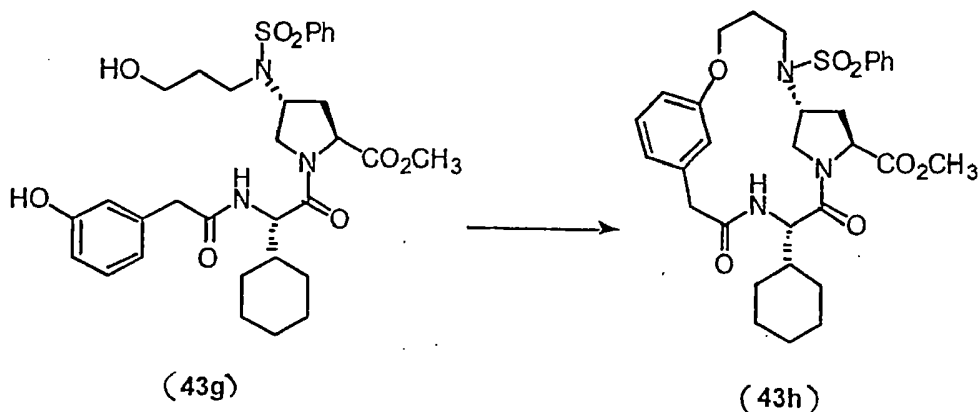
Požadovaná zlúčenina 43f sa pripravila pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok F. Čistenie pomocou rýchlej chromatografie sa uskutočnilo so zmesou 60/40 až 50/50 dichlórmetán/EtOAc, čím sa získal produkt 43f v kvantitatívnom výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{38}\text{H}_{48}\text{N}_3\text{O}_8\text{S}$: 706,3162 $(\text{M}+\text{H})^+$. Nájdené: 706,3157.

Krok G



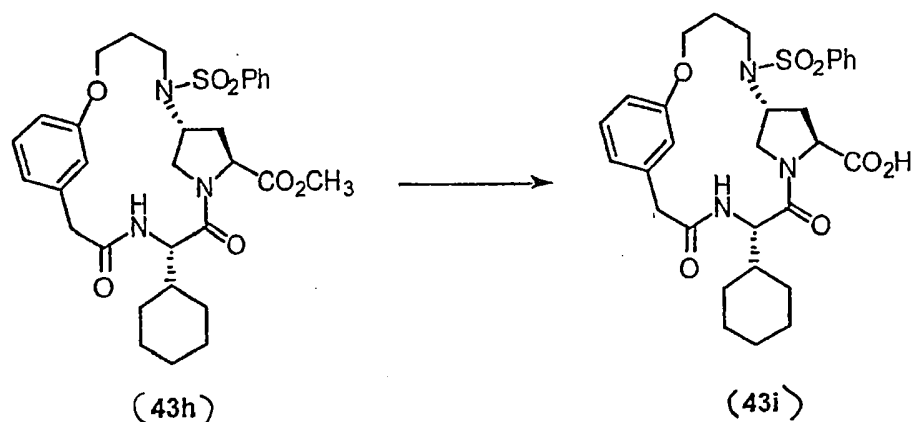
Požadovaný produkt 43g sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok G. Tento materiál bol dostatočne čistý pre ďalšie štúdium.

Krok H



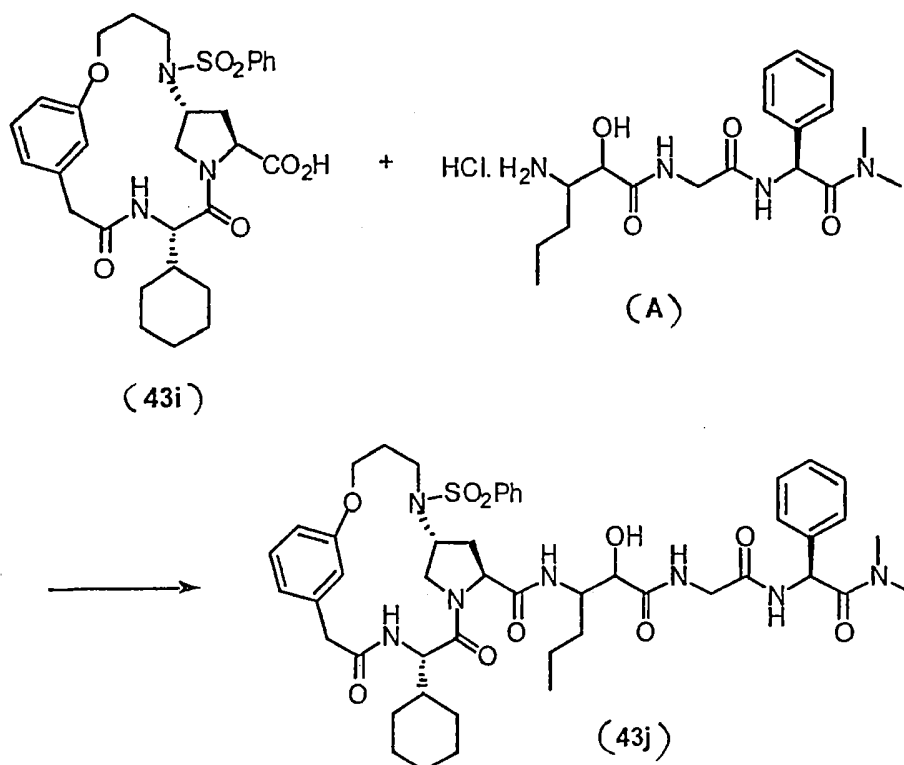
Požadovaný produkt 43h sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok H. Po ukončení reakcie sa rozpúšťadlo odparilo. Pridal sa Et₂O (50 ml) a tuhé látky sa odfiltrovali. Filtrát sa skoncentroval a pridal sa Et₂O/EtOAc (50 ml/50 ml). Vyzrážané tuhé látky sa odfiltrovali a filtrát sa skoncentroval. Zvyšok sa čistil pomocou rýchlej chromatografie použitím zmesi 85/15 až 80/20 dichlórmetán/-EtOAc, čím sa získal čistý produkt 43h v 20% výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre C₃₁H₄₀N₃O₇S: 598,2587 (M+H)⁺. Nájdené: 598,2581.

Krok I



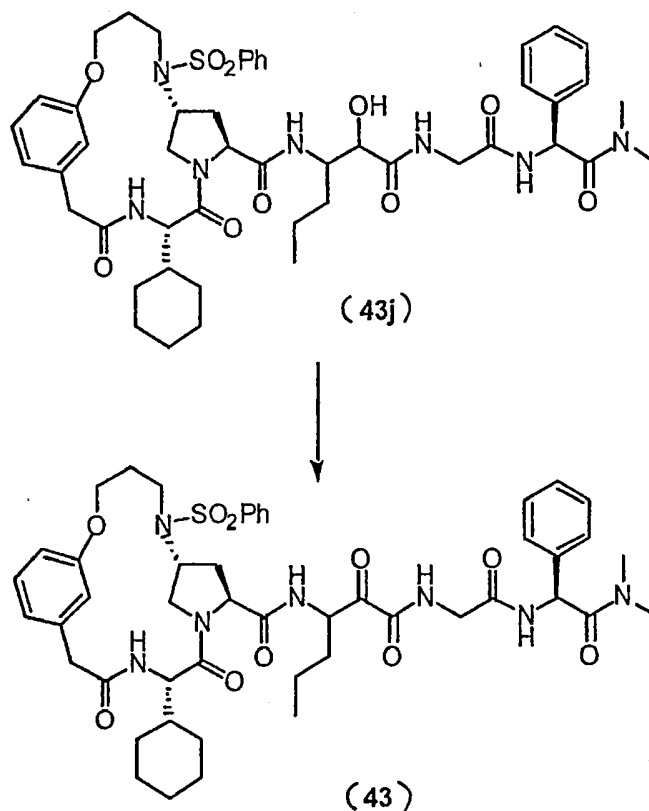
Očakávaný produkt 43i sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok I v 92% výťažku.

Krok J



Požadovaný materiál 43j sa syntetizoval tak, ako je opísané v Príklade 1
Krok J. Surový produkt bol dostatočne čistý na to, aby sa preniesol ďalej.

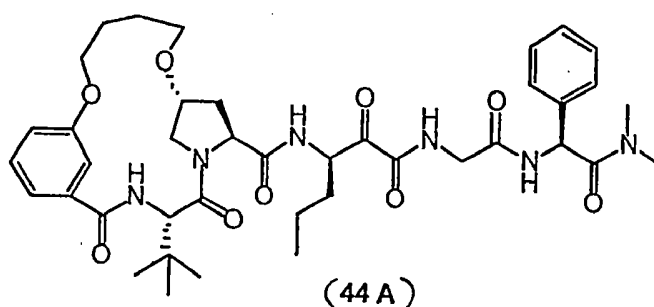
Krok K

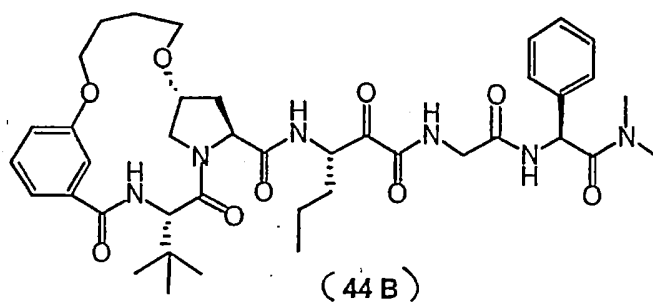


Očakávaný produkt 43 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 97/3 dichlórmetán/MeOH poskytlo produkt 43 ako zmes diastereo-
mérov. Kombinovaný výťažok = 60 % (pre 2 kroky). HRMS (FAB) vypočítané pre C₄₈H₆₂N₇O₁₀S: 928,4279 (M+H)⁺. Nájdené: 928,4290.

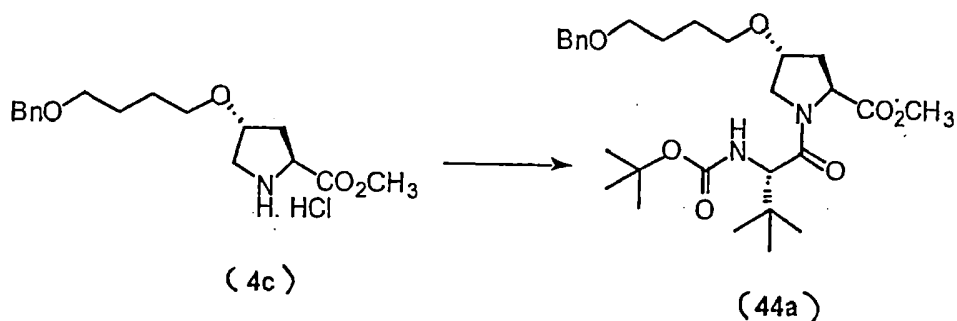
Príklad 44

Príprava zlúčeniny 44



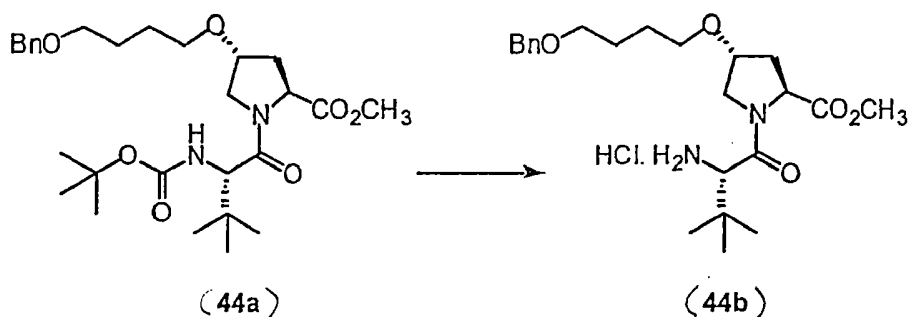


Krok A



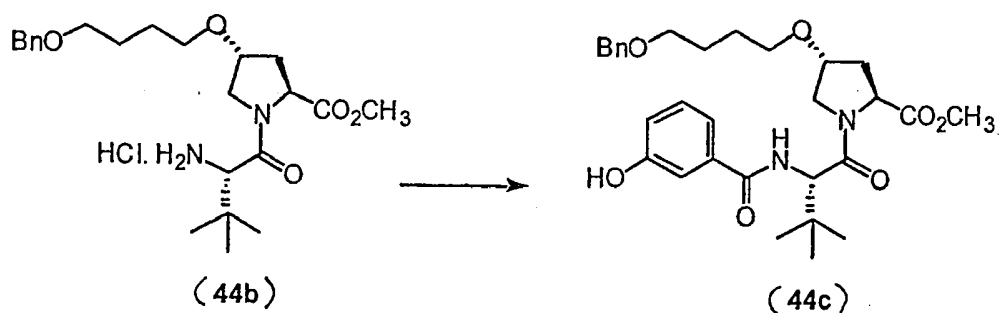
Požadovaný produkt 44a sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok D použitím *N*-*boc*-*tert*-butylglycínu ako kopulačného partnera. Tento materiál po spracovaní bol dostatočne čistý na to, aby sa preniesol do nasledujúceho kroku.

Krok B



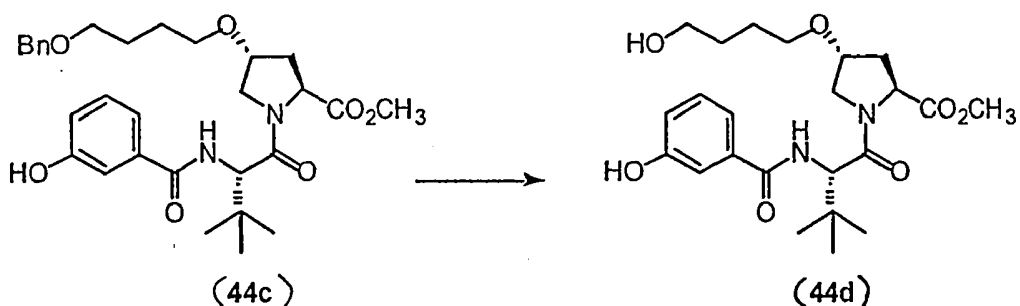
Požadovaný produkt 44b sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok E. Surový materiál bol prenesený ďalej bez čistenia.

Krok C



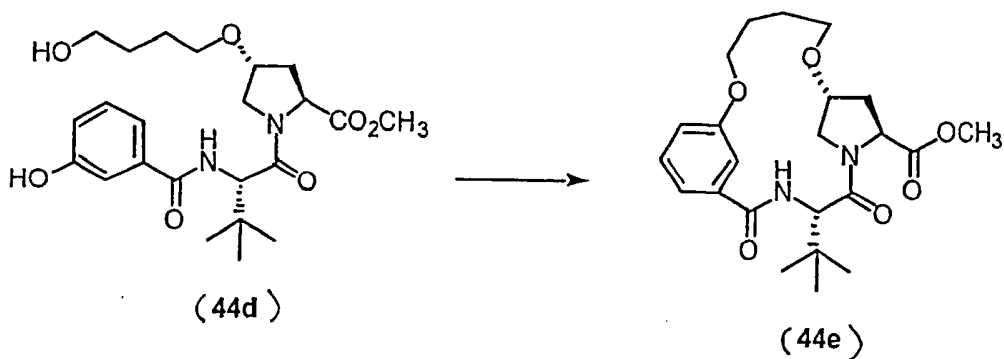
Požadovaný produkt sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok F, použitím kyseliny 3-hydroxybenzoovej. Tento materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 85/15 až 65/35 dichlórmetán/etylacetát, čím sa získal produkt 44c v 81% výťažku.

Krok D



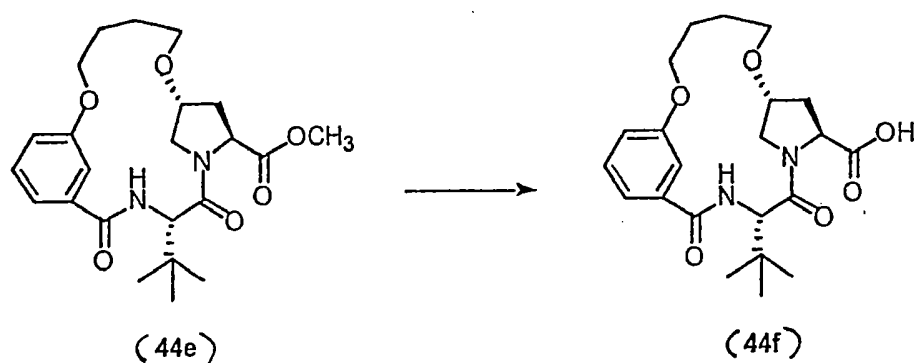
Požadovaný produkt 44d sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok G. Zvyšok po spracovaní bol dostatočne čistý na ďalšie použitie.

Krok E



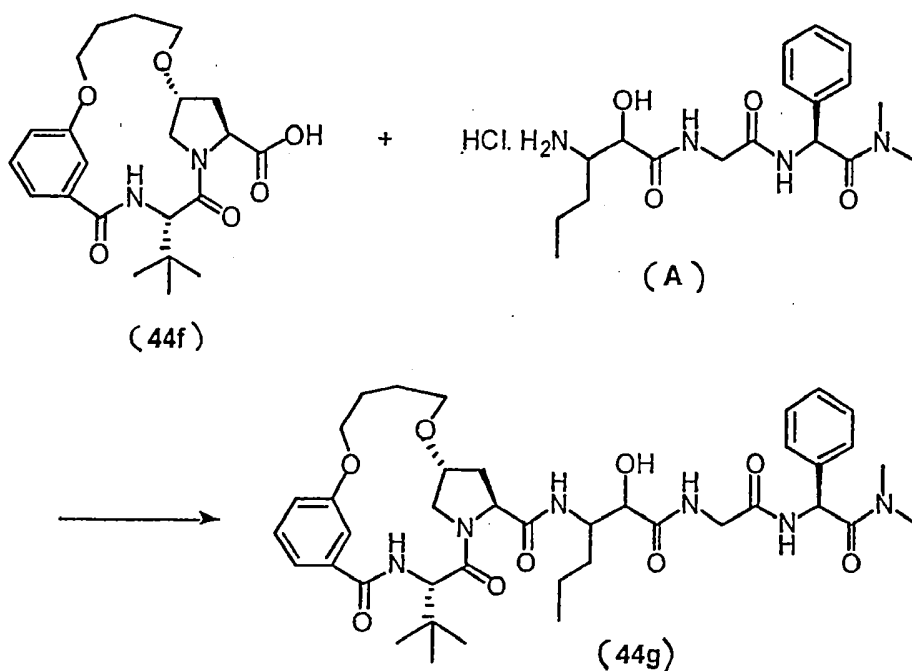
Požadovaný produkt 44e sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok H. Surový zvyšok sa po skoncentrovaní rozpustil v zmesi hexánu/EtOAc (1/1) a tuhý materiál sa odfiltroval. Táto operácia sa uskutočnila znova, čím sa odstránila časť vedľajších produktov. Čistenie pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 80/20 dichlórmetán/EtOAc poskytlo produkt 44e spolu s trifenylfosfínoxidom. Táto zmes sa vzala do nasledujúceho kroku.

Krok F



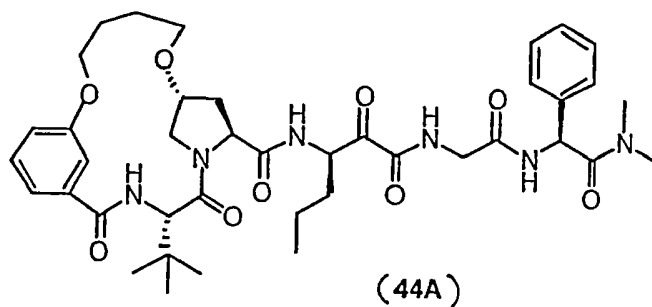
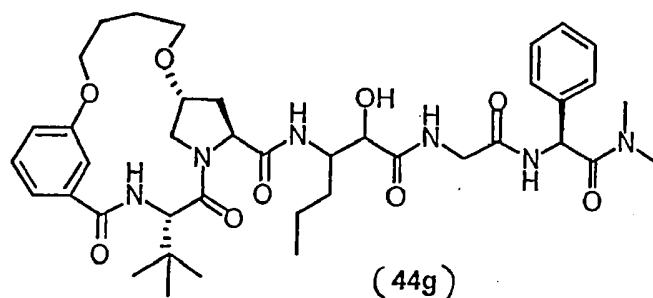
Požadovaný produkt 44f sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok I. Výťažok produktu 44f (pre 2 kroky) 11%.

Krok G

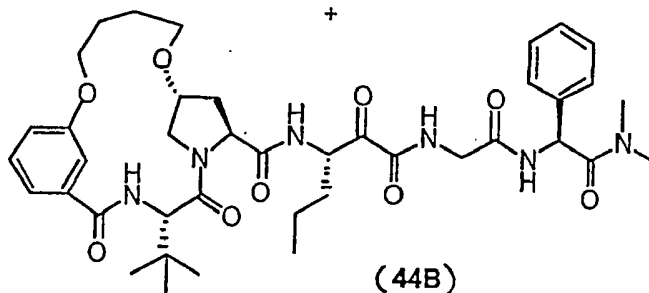


Očakávaný produkt 44g sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 1 Krok J. Tento materiál po spracovaní bol prenesený ďalej do nasledujúceho kroku.

Krok H



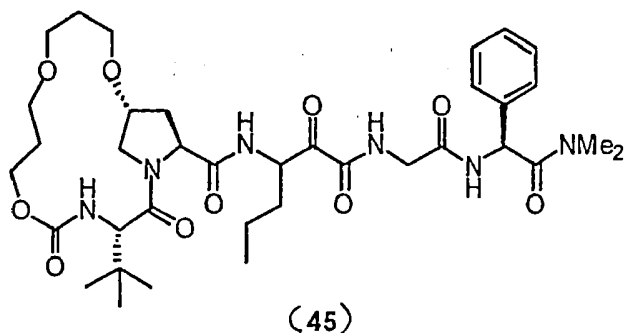
+



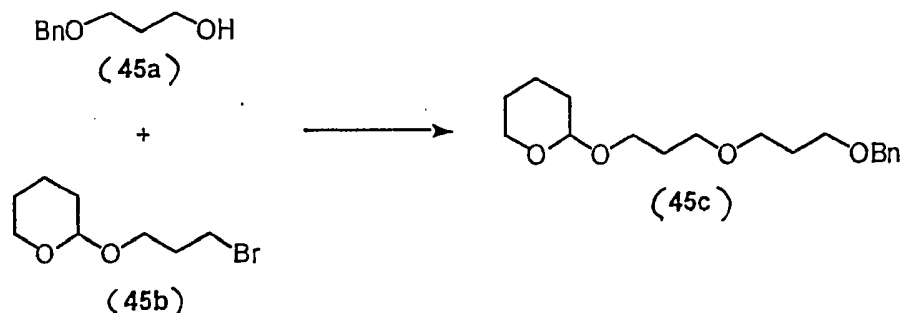
Požadované produkty 44A a 44B sa získali pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 97/3 až 96/4 dichlórmetán/metanol poskytlo rovnaké množstvá samostatných izomérov 44A a 44B. Kombinovaný výťažok = 58 % (pre 2 kroky).

Príklad 45

Príprava zlúčeniny 45



Krok A



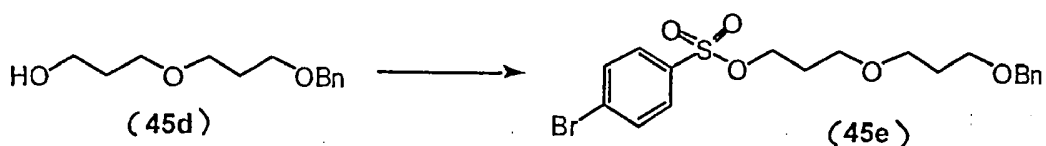
Alkylácia 45a s 45b sa uskutočnila použitím postupu opísaného v Príklade 1 Krok A. Surový produkt sa čistil použitím 85/0/15 až 85/5/10 hexány/EtOAc/dichlórmetán, čím sa získal produkt 45c v 37% výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{18}H_{29}O_4$: 309,2066 ($M+H$)⁺. Nájdené: 309,2060.

Krok B



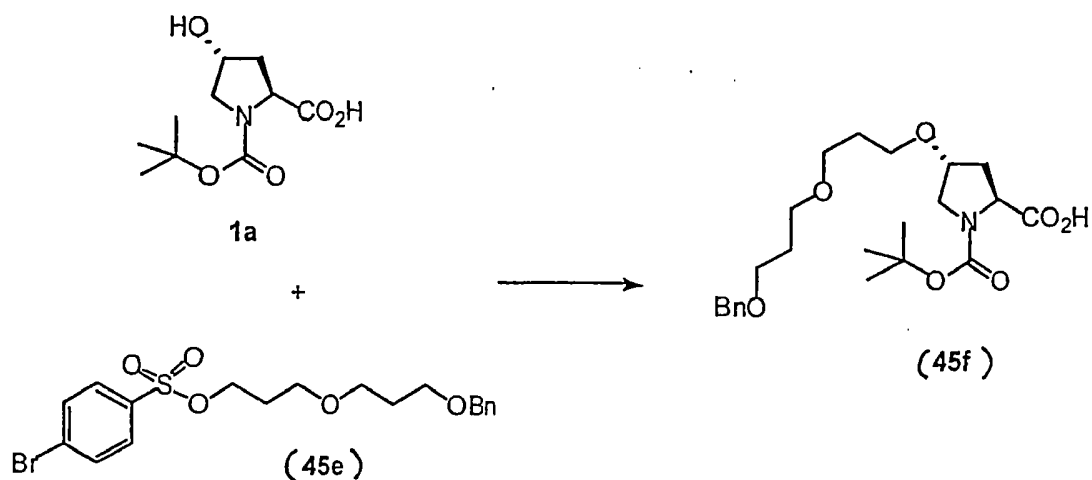
Do roztoku 45c (4,8 g, 15,5 mmol) v MeOH (30 ml) sa pridal pyridínium *p*-toluénsulfonát (780 mg, 3,1 mmol) a refluxoval sa počas 3 hodín, keď sa všetok východiskový materiál spotreboval. Reakčná zmes sa skoncentrovala. Zvyšok sa rozpustil v EtOAc, premyl nasýteným roztokom $NaHCO_3$, vysušil sa (Na_2SO_4) a organická vrstva sa skoncentrovala, čím sa získalo 3,2 g produktu 45d (92% výťažok). Tento materiál bol dostatočne čistý pre ďalšie štúdium. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{13}H_{21}O_3$: 225,1491 ($M+H$)⁺. Nájdené: 225,1486.

Krok C



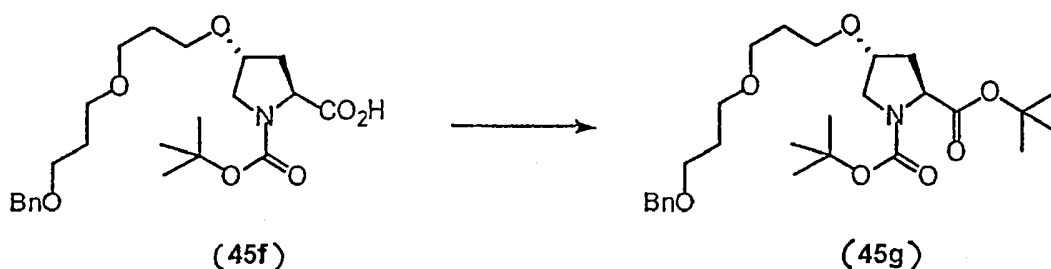
Požadovaný produkt 45e sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 10 Krok A použitím 45d ako východiskového materiálu. Surový produkt sa čistil použitím zmesi 90/10 hexány/EtOAc, čím sa získal produkt 45e v 70% výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{19}H_{24}O_5SBr$: 443,0528 ($M+H$)⁺. Nájdené: 443,0552.

Krok D



Požadovaný produkt 45f sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok A použitím produktu 45e ako východiskového materiálu. Surový produkt sa preniesol ďalej bez čistenia.

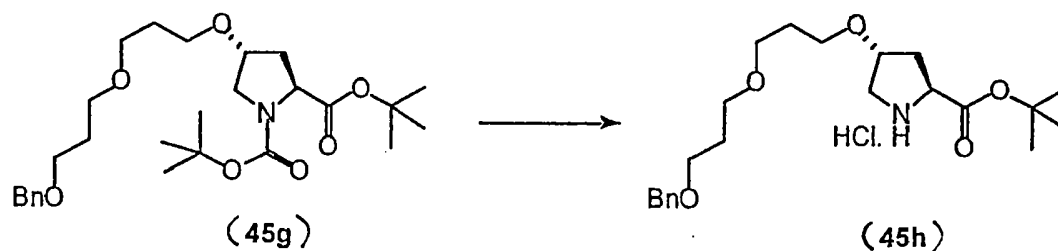
Krok E



Požadovaný produkt 45g sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 18 Krok B použitím produktu 45f ako východiskového materiálu. Zvyšok sa čistil

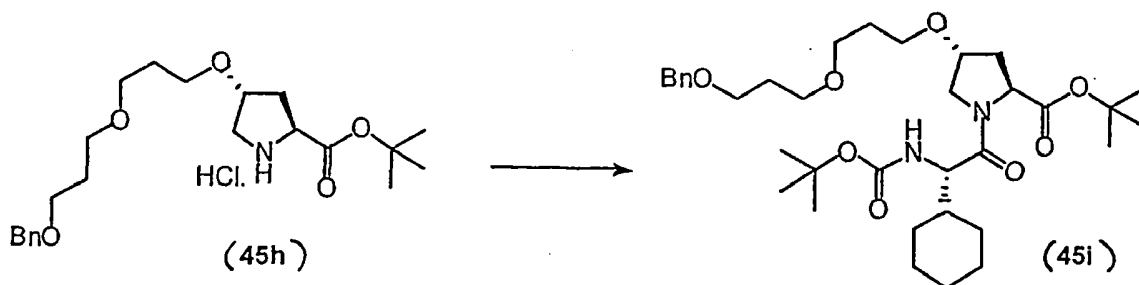
pomocou rýchlej chromatografie použitím zmesi 90/10 dichlórmetán/EtOAc, čím sa získal produkt 45g v 61% výťažku (pre 2 kroky). HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{27}H_{44}NO_7$: 494,3118 (M+H)⁺. Nájdené: 494,3107.

Krok F



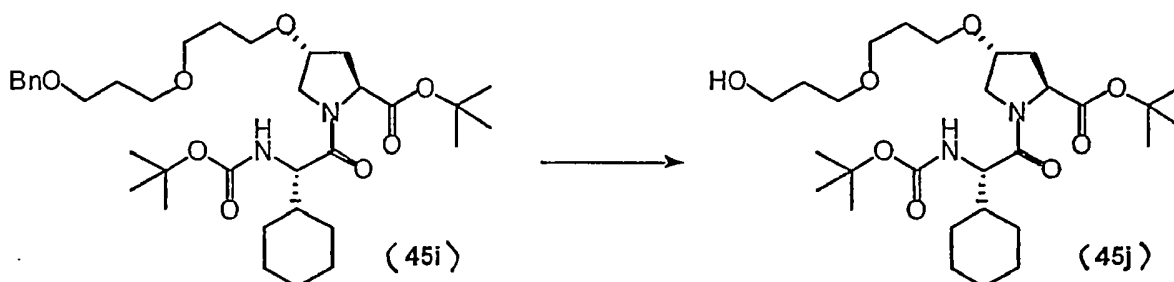
Požadovaná zlúčenina 45h sa pripravila pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok C. Tento materiál bol prenesený ďalej.

Krok G



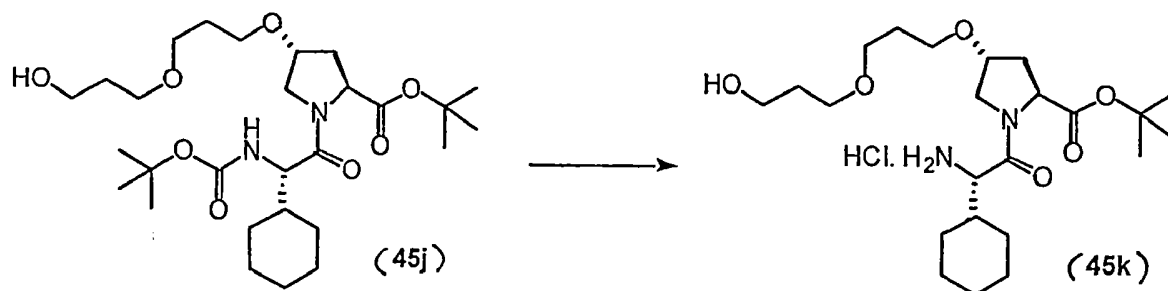
Požadovaný produkt 45i sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok D. Zvyšok sa čistil pomocou rýchlej chromatografie použitím zmesi 90/10 až 85/15 dichlórmetán/EtOAc, čím sa získal produkt 45i v 41% výťažku.

Krok H



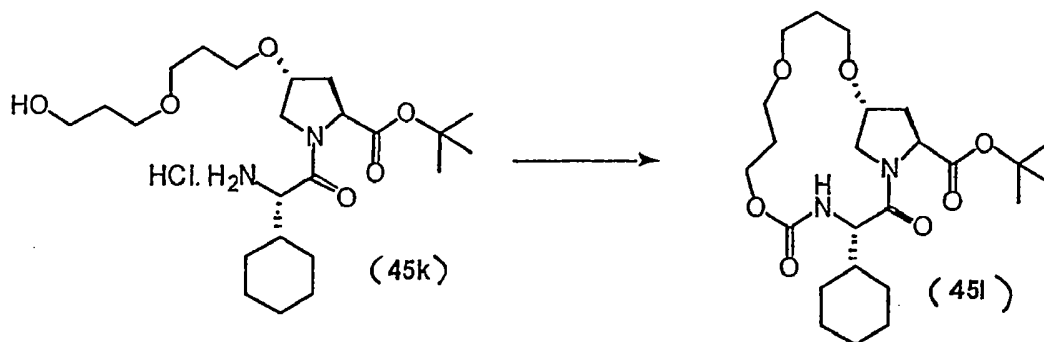
Požadovaný produkt 45j je získal pomocou hydrogenačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok G.

Krok I



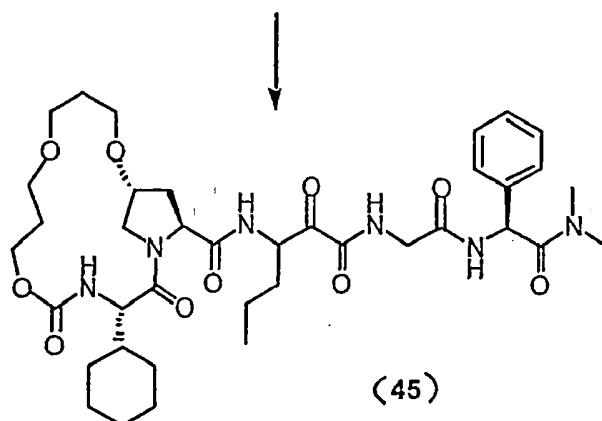
Požadovaný produkt 45k sa získal pomocou postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok C.

Krok J



Do studeného (0 °C) roztoku 45k v dichlórmetáne sa pridal trietylamin, po čom nasledoval karbonyldiimidazol. Očakáva sa, že pomalé zahriatie na okolitú teplotu počas noci poskytne požadovaný produkt 45l. Tento produkt sa môže čistiť použitím konvenčnej rýchlej kolónovej chromatografie, čím sa získal čistý produkt 45l.

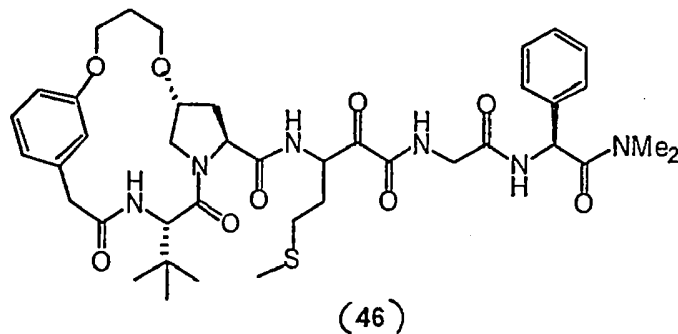
Krok K



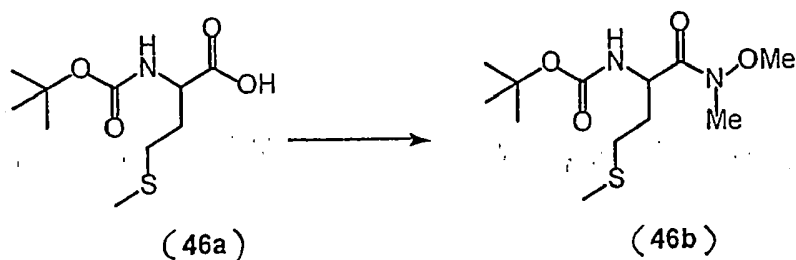
Požadovaný produkt 45 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie poskytlo čistý produkt 45.

Príklad 46

Príprava zlúčeniny 46



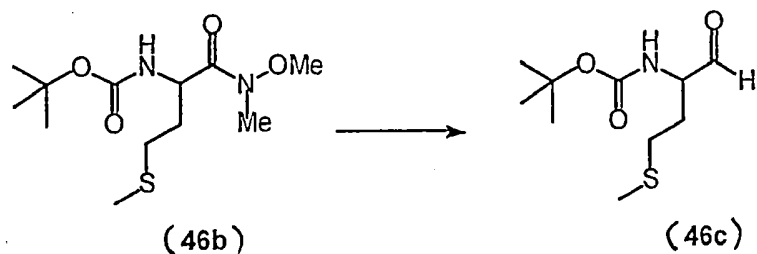
Krok A



Do roztoku 46a (10,0 g, 42,9 mmol) v dichlórmetáne (100 ml) sa pridal BOP (22,75 g, 51,5 mmol) a premiešaval sa pri laboratórnej teplote 10 minút. Potom sa pridal *N,O*-dimetylhydroxylamín hydrochlorid (4,18 g, 42,9 mmol), po čom nasledoval trietylamín (18,1 ml, 128,7 mmol). Reakčná zmes sa premiešavala pri okolitej teplote počas 3 hodín a potom sa premyla s roztokom 3 mol/l HCl,

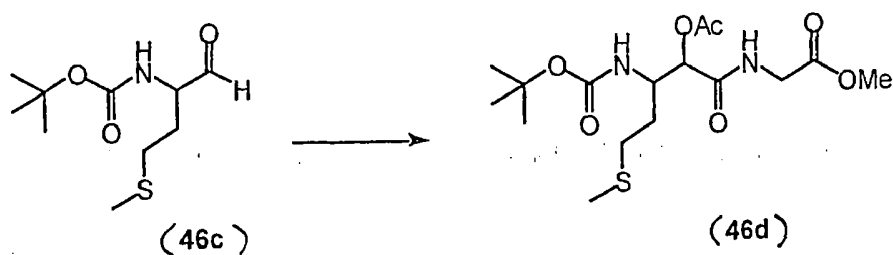
nasýteným NaHCO_3 a soľankou. Organická vrstva sa vysušila (Na_2SO_4) a skoncentrovala. Surový materiál 46b sa použil v nasledujúcom kroku bez čistenia.

Krok B



Do studeného (0 °C) roztoku produktu 46b v THF (60 ml) sa pridal roztok LAH (1 mol/l v THF, 50 ml, 50 mmol) pod dusíkovou atmosférou. Reakčná zmes sa udržiavala pri tejto teplote počas 30 minút. Reakcia sa zastavila (pomalým prídavkom) 10% vodným roztokom hydrogenfosforečnanu sodného (30 ml). Zmes sa extrahovala s EtOAc dvakrát. Spojené organické vrstvy sa premyli s roztokom 3 mol/l HCl, nasýteným NaHCO_3 a soľankou. EtOAc vrstva sa vysušila nad síranom sodným a skoncentrovala. Zvyšok sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 10/90 až 30/70 EtOAc/dichlórmetán, čím sa získalo 4,2 g produktu 46c (45% výťažok - pre 2 kroky). HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{10}\text{H}_{20}\text{NO}_3\text{S}$: 234,1164 ($\text{M}+\text{H}$)⁺. Nájdené: 234,1168.

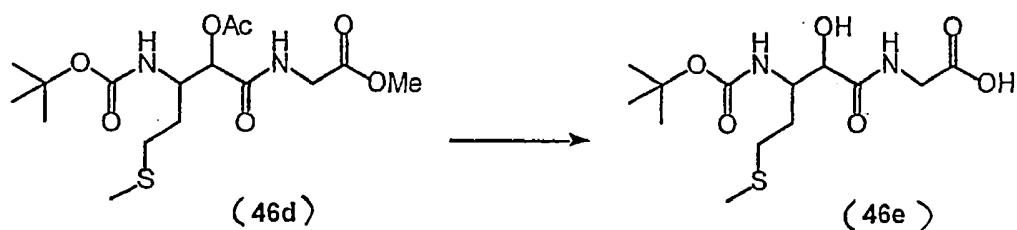
Krok C



Do studeného (-15 °C) roztoku produktu 46c (4,2 g, 19,4 mmol) v dichlórmetáne sa pridalá kyselina octová (2,14 ml, 38,8 mmol), po čom nasledoval metylizokyanooctan (1,76 ml, 19,4 mmol). Reakčná zmes sa zahriala na laboratórnu teplotu a nechala stáť počas 16 hodín. Reakčná zmes sa zriedila s EtOAc a premyla nasýteným roztokom NaHCO_3 , soľankou a vodou. Organická vrstva sa

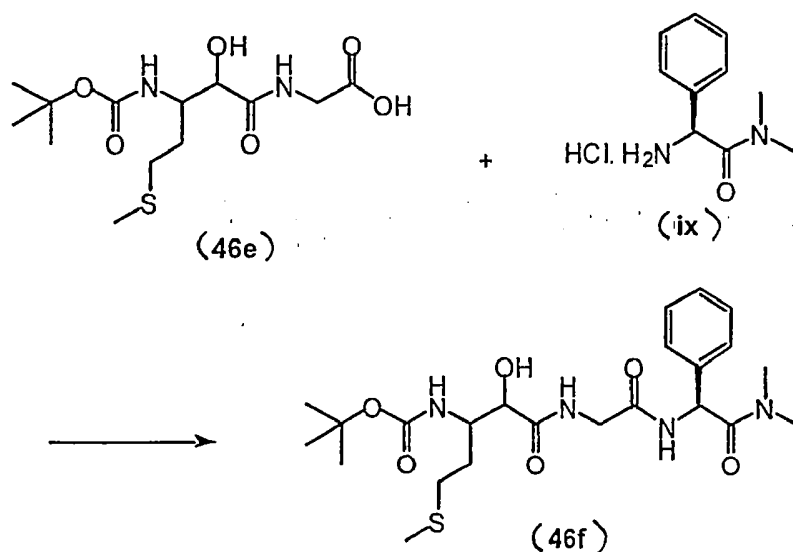
vysušila (Na_2SO_4) a skoncentrovala. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 30/70 EtOAc/dichlórmetán poskytlo čistý produkt 46d (6,5 g) ako bielu tuhú látku v 92% výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$: 393,1695 ($\text{M}+\text{H}$)⁺. Nájdené: 393,1692.

Krok D



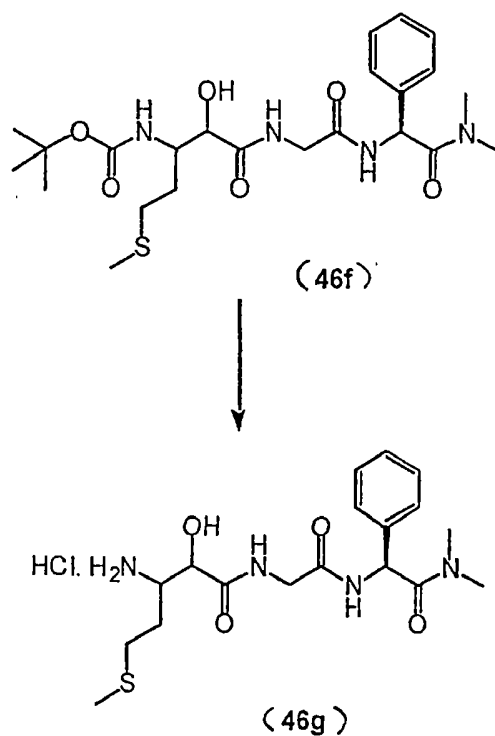
Do roztoku produktu 46d (6,5 g, 16,6 mmol) v MeOH (30 ml) sa pridal roztok hydroxidu lítneho (1,19 g, 50 mmol) vo vode (30 ml). Po 45 minútach sa reakčná zmes skoncentrovala. Pridal sa vodný roztok kyseliny citrónovej kým nebol kyslý (pH 3) a produkt sa extrahoval do EtOAc. Skoncentrovanie organickej vrstvy viedlo ku kyseline 46e (5,6 g, 90% výťažok). HRMS (FAB) vypočítané pre $\text{C}_{13}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$. 337,1433 ($\text{M}+\text{H}$)⁺. Nájdené 337,1430.

Krok E



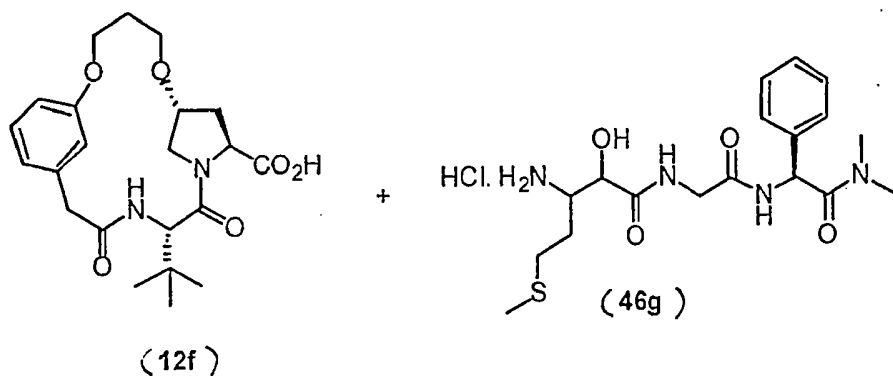
Požadovaný produkt 46f sa získal pomocou spôsobu opísaného pre medzi-produkt A Krok 3. Čistenie zvyšku pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 20/0/80 až 50/5/45 EtOAc/NH₃ v MeOH/dichlórmetán poskytlo 3,0 g produktu 46f (51 %). HRMS (FAB) vypočítané pre C₂₃H₃₇N₄O₆S: 497,2434 (M+H)⁺. Nájdené: 497,2439.

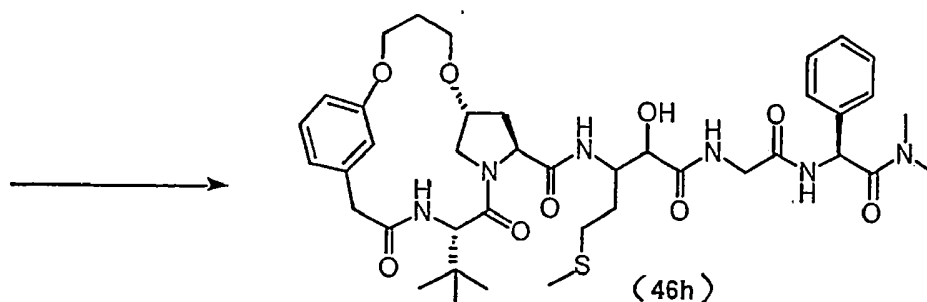
Krok F



Požadovaná zlúčenina 46g sa pripravila pomocou postupu opísaného pre medziprodukt A Krok 4. Tento materiál sa preniesol ďalej pre ďalšie štúdium.

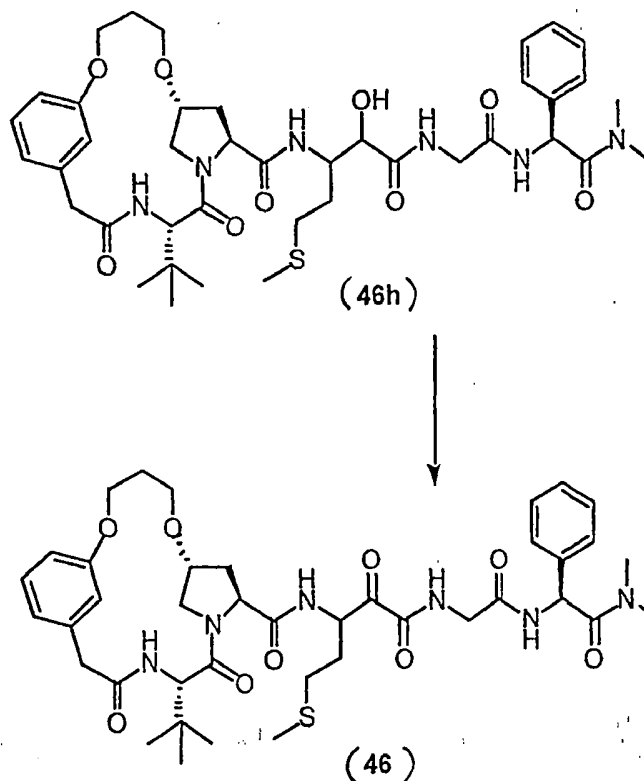
Krok G





Požadovaný produkt 46h sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok J. Surový materiál bol dostatočne čistý na ďalšie spracovanie HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{40}H_{57}N_6O_9S$: 797,3908 ($M+H$)⁺. Nájdené: 797,3896.

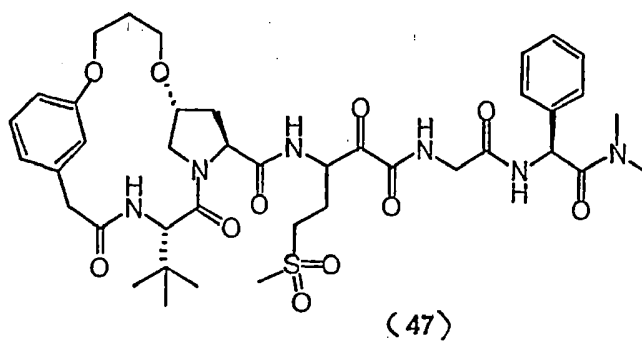
Krok H



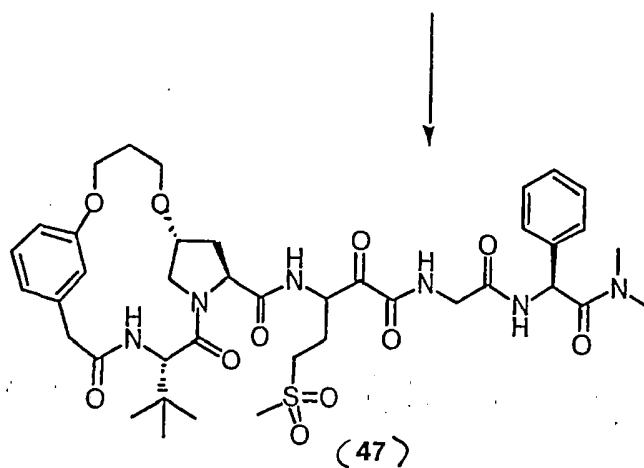
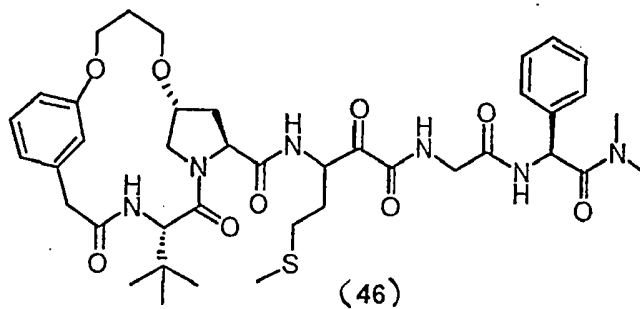
Požadovaný produkt 46 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 10 Krok J. Reakcia trvala 4 dni, kým prebehla úplne. Čistenie zvyšku pomocou rýchlej kolónovej chromatografie (dvakrát) a preparatívna TLC použitím zmesi 98/2 dichlórmetán/MeOH poskytli produkt 46 ako zmes diastereomérov v 12% výťažku (pre 2 kroky). HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{40}H_{55}N_6O_9S$: 795,3751 ($M+H$)⁺. Nájdené: 795,3761.

Príklad 47

Príprava zlúčeniny 47



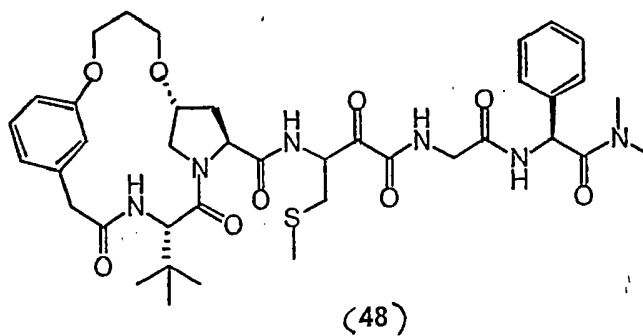
Krok A



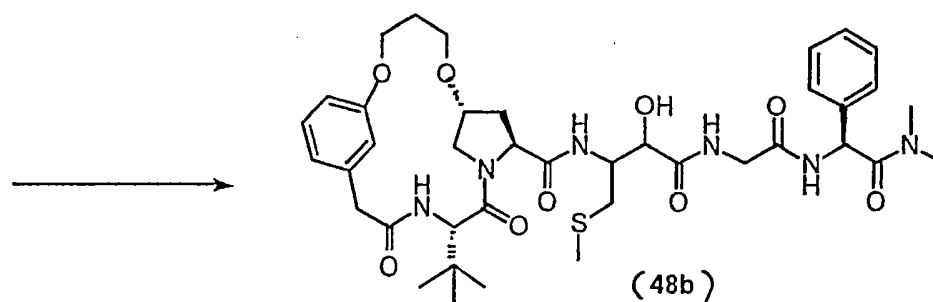
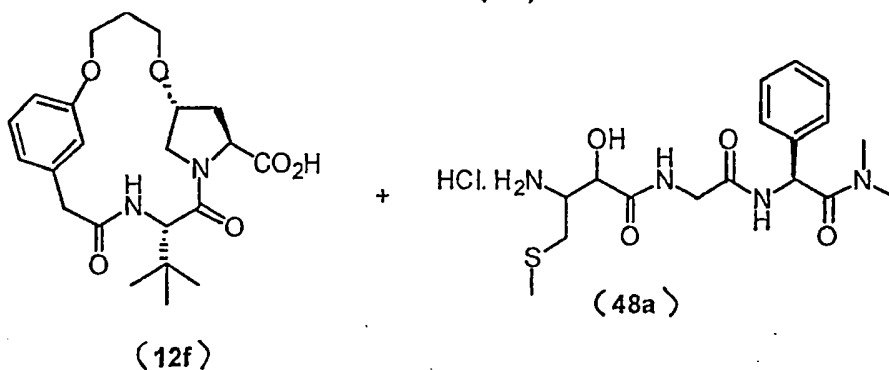
Požadovaný produkt 47 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 11 Krok A.

Príklad 48

Príprava zlúčeniny 48

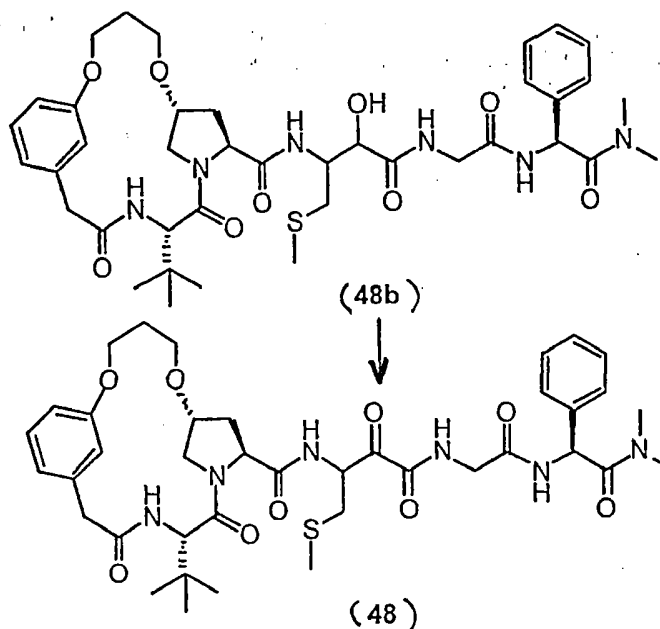


Krok A



Požadovaný produkt 48b sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok J. Surový materiál bol dostatočne čistý na ďalšie spracovanie. (Poznámka: Prekurzor 48a sa získal z komerčne dostupného *N*-*boc*-*S*-metylcysteínu pomocou podobných postupov, ako je opísané pre produkt 46g)

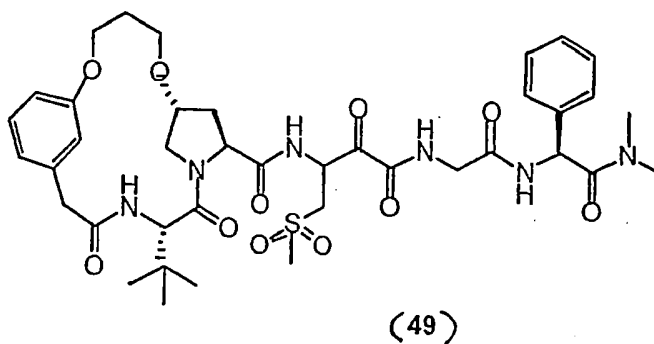
Krok B



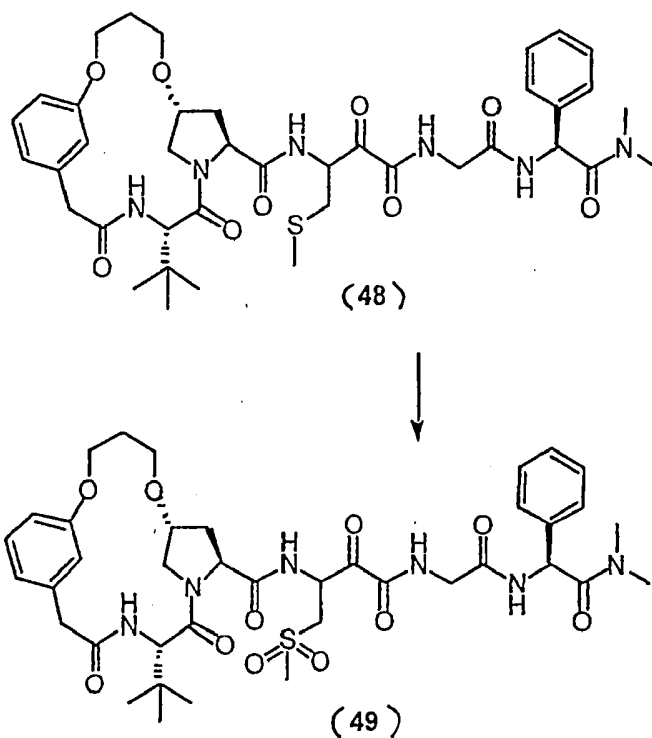
Požadovaný produkt 48 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 10 Krok J. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 dichlórmetán/MeOH poskytlo produkt 48 ako zmes diastereo-
mérov v 21% výťažku (pre 2 kroky).

Príklad 49

Príprava zlúčeniny 49



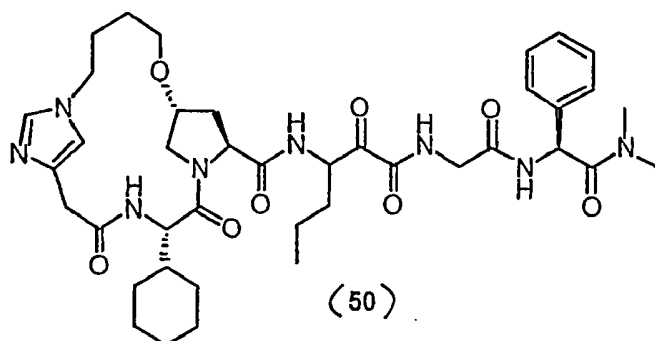
Krok A



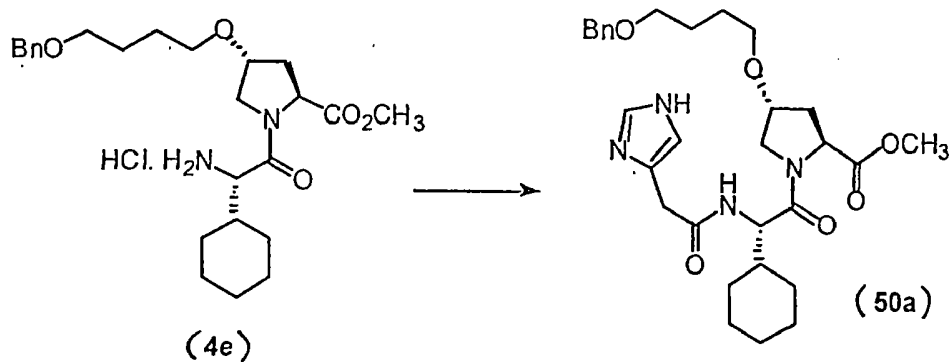
Požadovaný produkt 49 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 11 Krok A.

Príklad 50

Príprava zlúčeniny 50

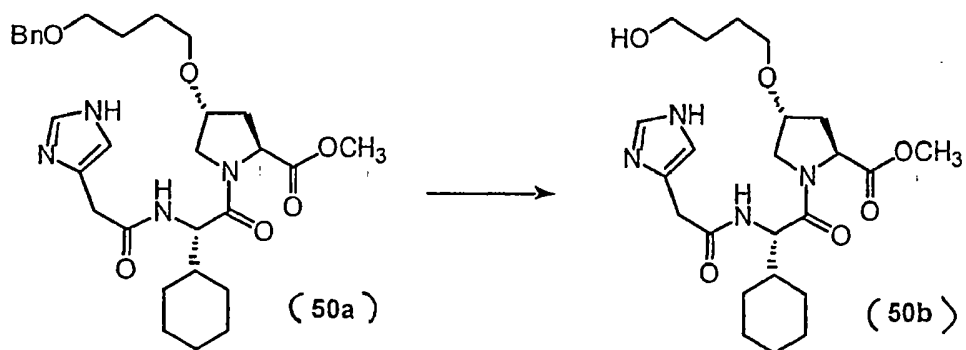


Krok A



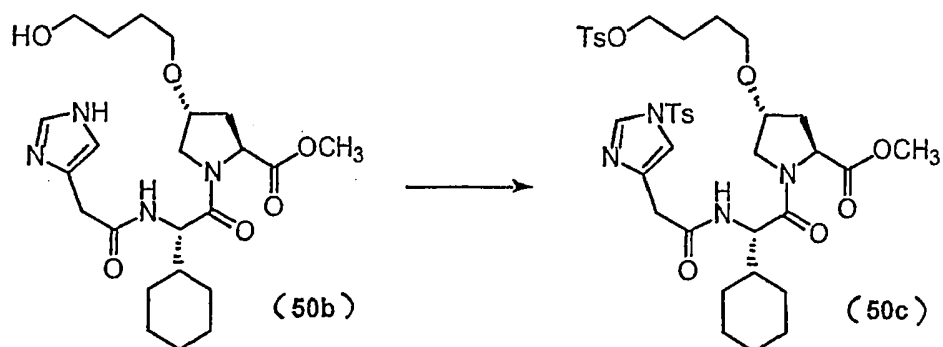
Požadovaný produkt 50a sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok F, použitím kyseliny imidazol-4-octovej ako kopulačného partnera.

Krok B



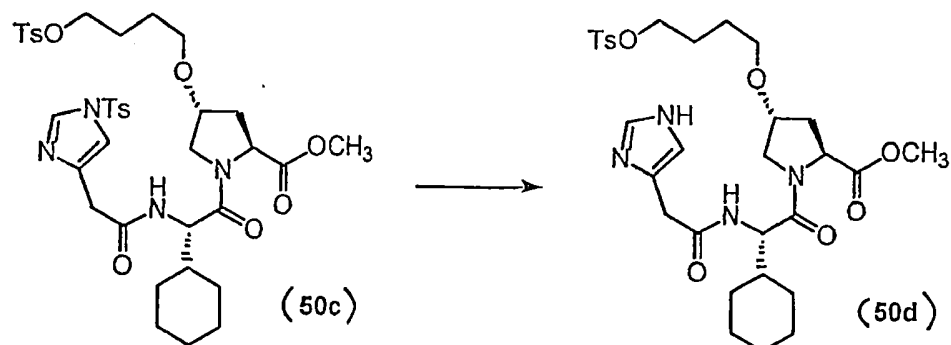
Požadovaný produkt 50b sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok G.

Krok C



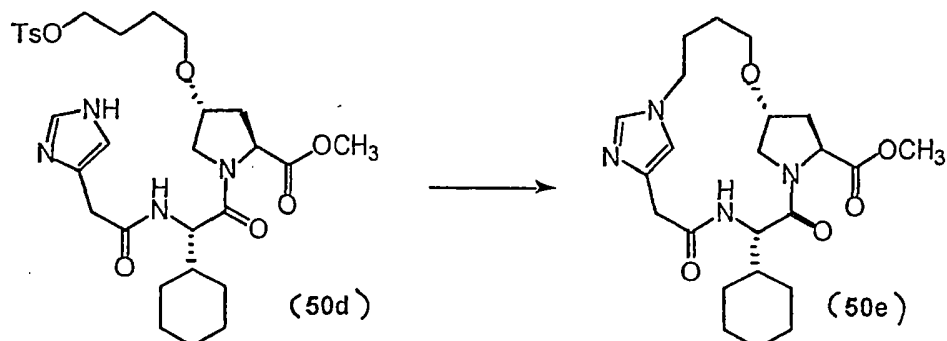
Požadovaný produkt 50c sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade. 10. Krok A použitím *p*-toluénsulfonylchloridu ako východiskového materiálu.

Krok D



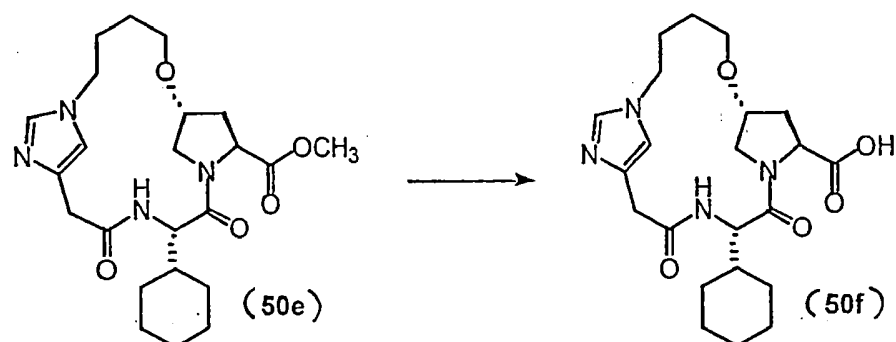
Požadovaný produkt 50d sa získal pomocou opracovania 50c s HOBt v THF pri okolitej teplote počas niekoľkých hodín.

Krok E



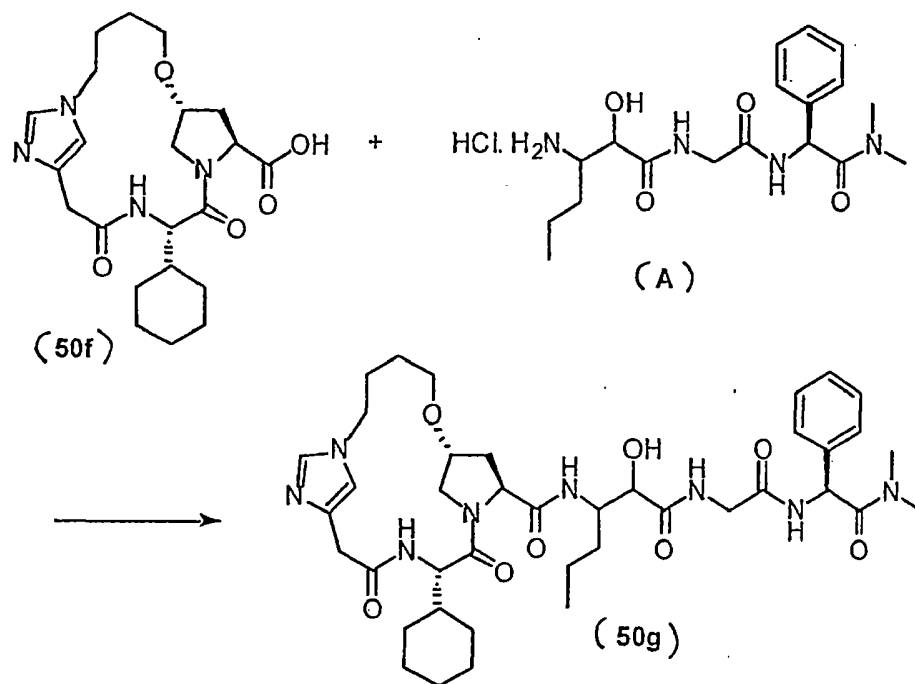
Očakávaný produkt 50e sa syntetizuje zahriatím produktu 50d s uhlíčitanom sodným a jodidom sodným v acetóne pri 50 °C počas niekoľkých hodín. Produkt sa môže čistiť pomocou konvenčnej rýchlej chromatografie.

Krok F



Požadovaný produkt 50f sa získal pomocou hydrolyzného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok 1.

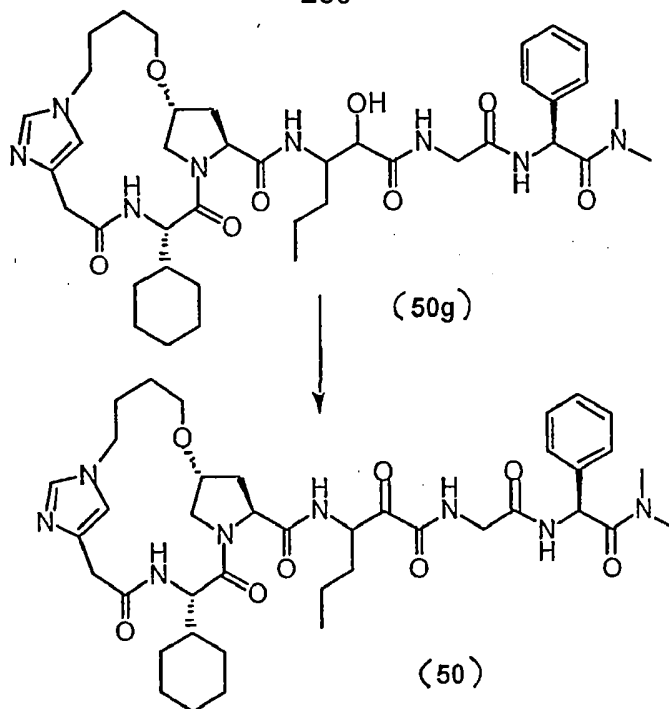
Krok G



Očakávaný produkt 50g sa syntetizuje tak, ako je skôr opísané v Príklade 1

Krok J.

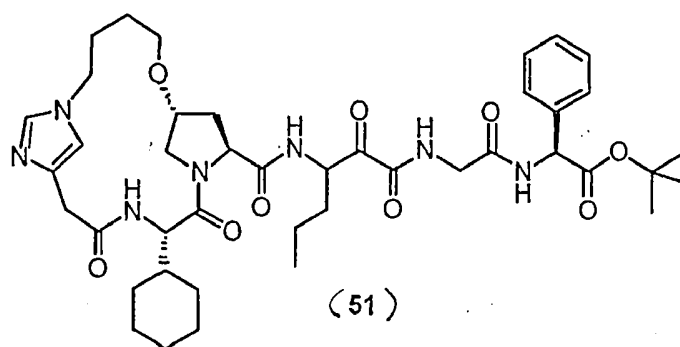
Krok M



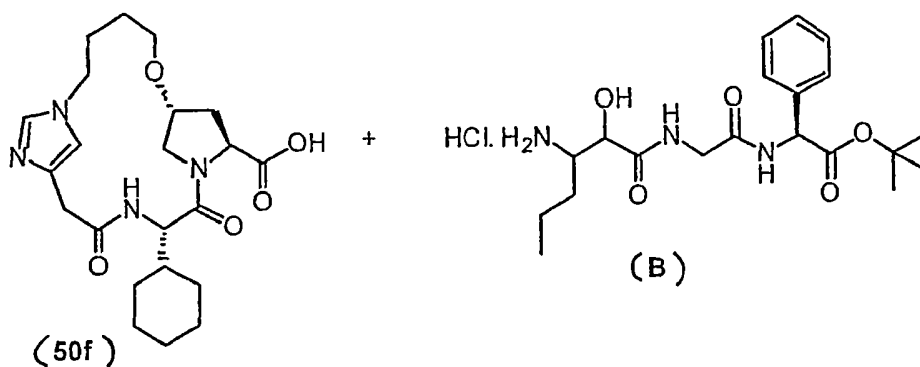
Požadovaný produkt 50 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie poskytlo čistý produkt 50.

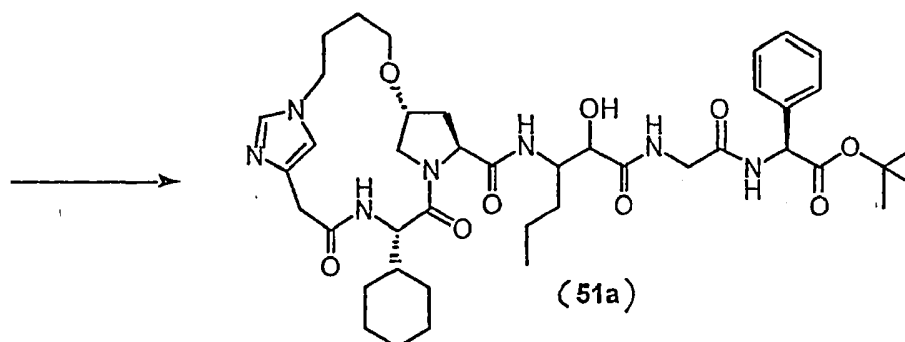
Príklad 51

Príprava zlúčeniny 51



Krok A

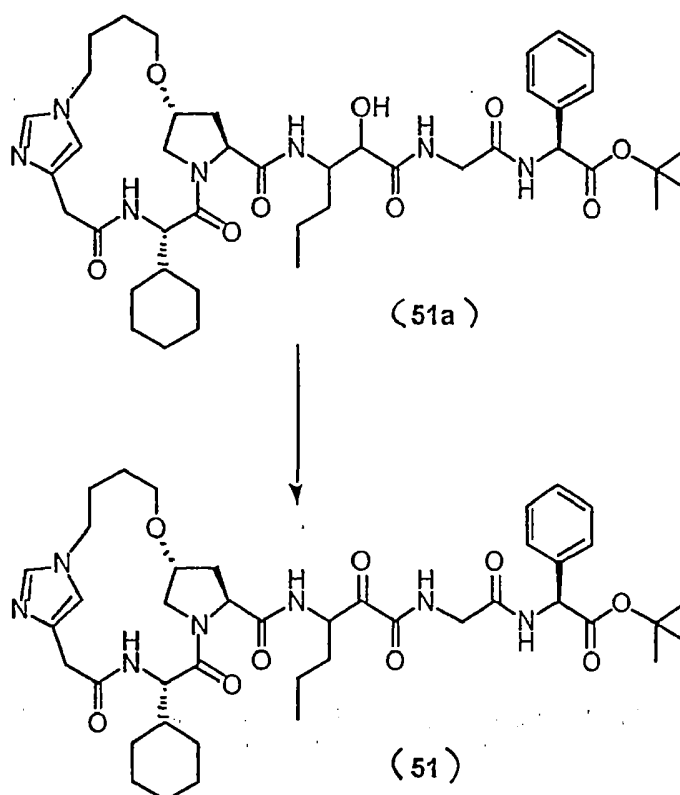




Očakávaný produkt 51a sa syntetizuje tak, ako je skôr opísané v Príklade 2 .

Krok A.

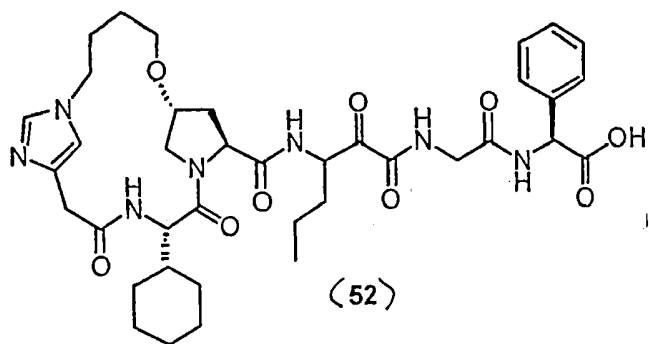
Krok B



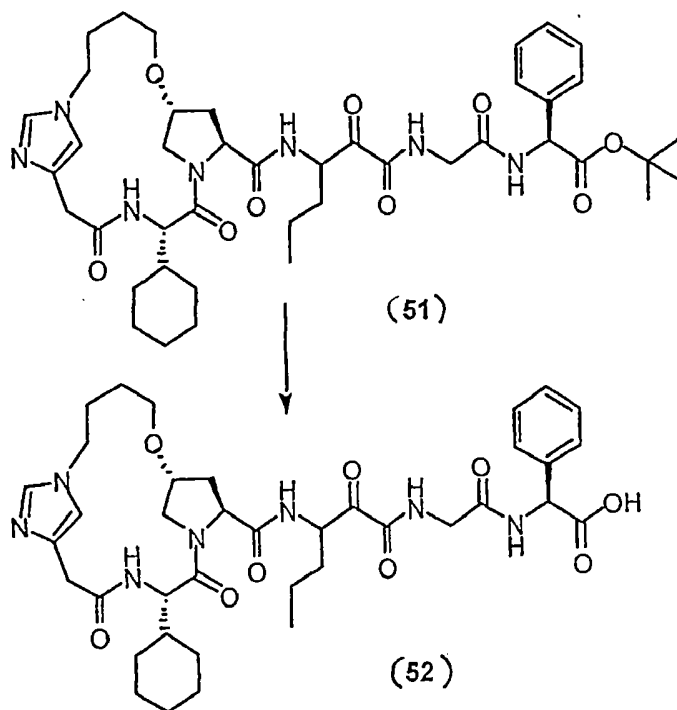
Požadovaný produkt 51 sa získal pomocou oxidáčného postupu opísaného skôr v Príklade 2 Krok B. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie poskytlo čistý produkt 51.

Príklad 52

Príprava zlúčeniny 52



Krok A

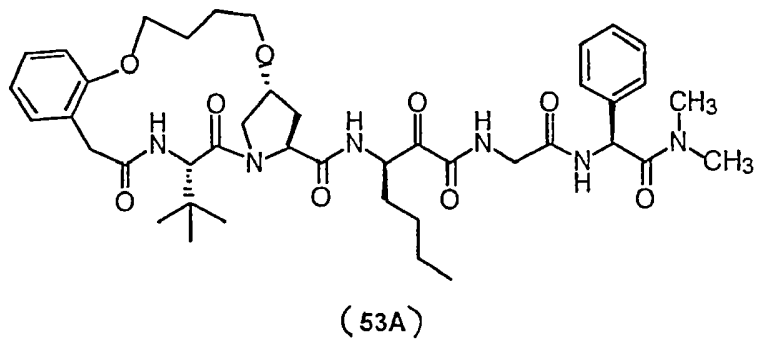


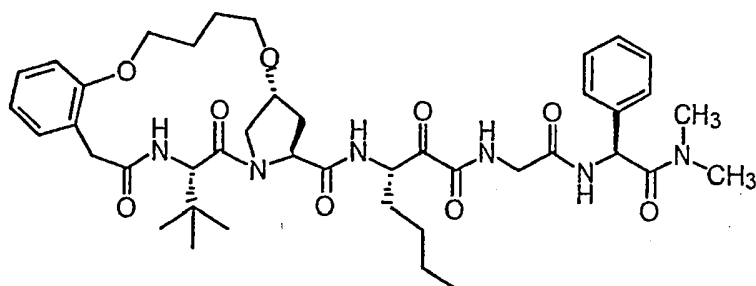
Očakávaný produkt 52 sa získal postupom, ako je skôr opísané v Príklade 3

Krok A.

Príklad 53

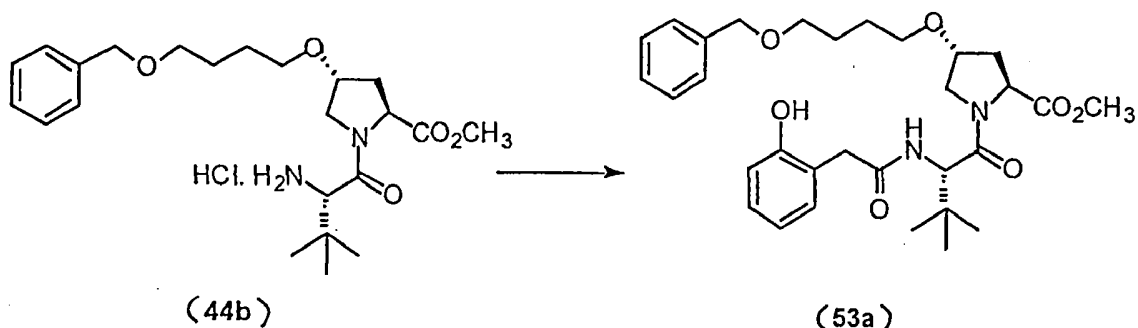
Príprava zlúčenín vzorca 53A a 53B





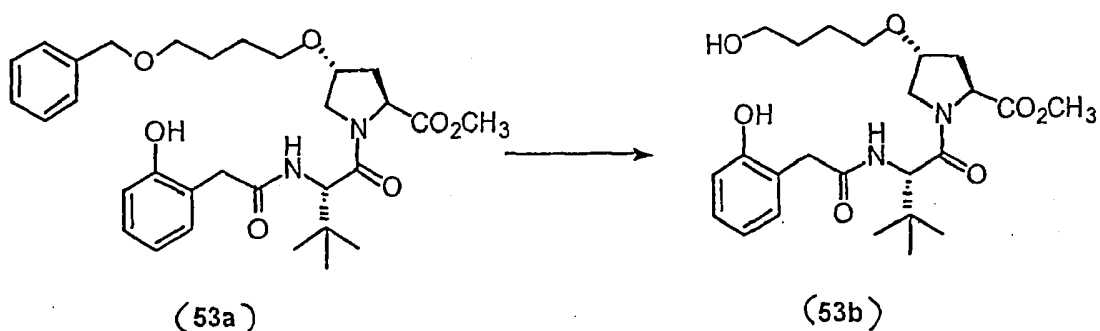
(53B)

Krok A



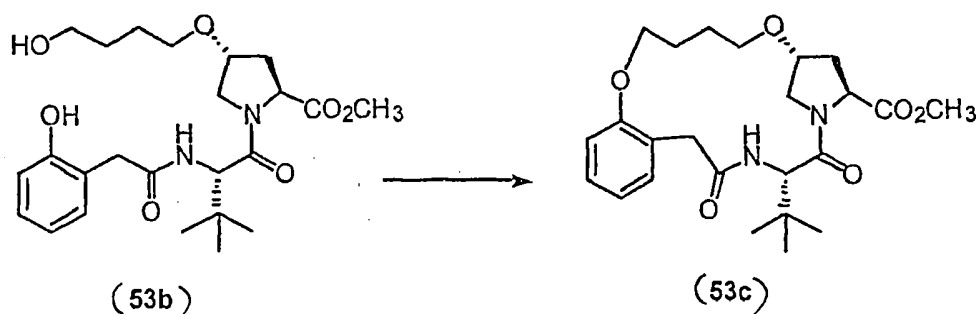
Požadovaný produkt 53a sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok F. Tento materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 80/20 až 60/40 dichlórmetán/etylacetát, čím sa získal produkt 53a.

Krok B



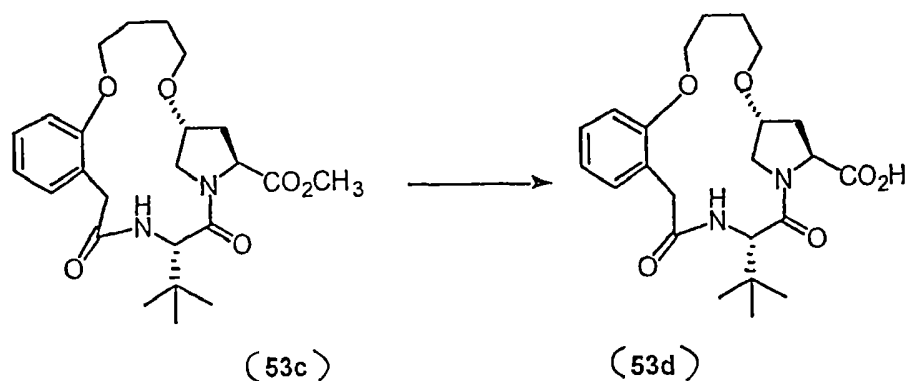
Požadovaný produkt 53b sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok G. Surový materiál sa preniesol do nasledujúceho kroku bez úpravy.

Krok C



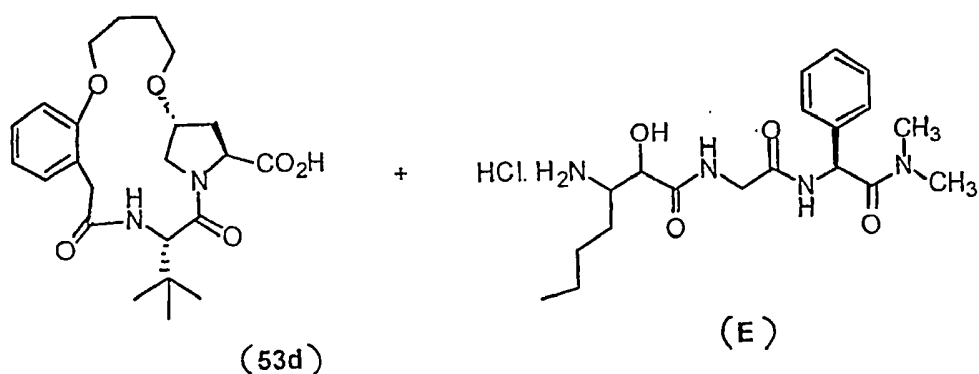
Požadovaný produkt 53c sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok H. Čistenie pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 99/1 dichlórmetán/metanol poskytlo produkt 53c spolu s trifenylfosfínoxidom. Táto zmes sa vzala do nasledujúceho kroku.

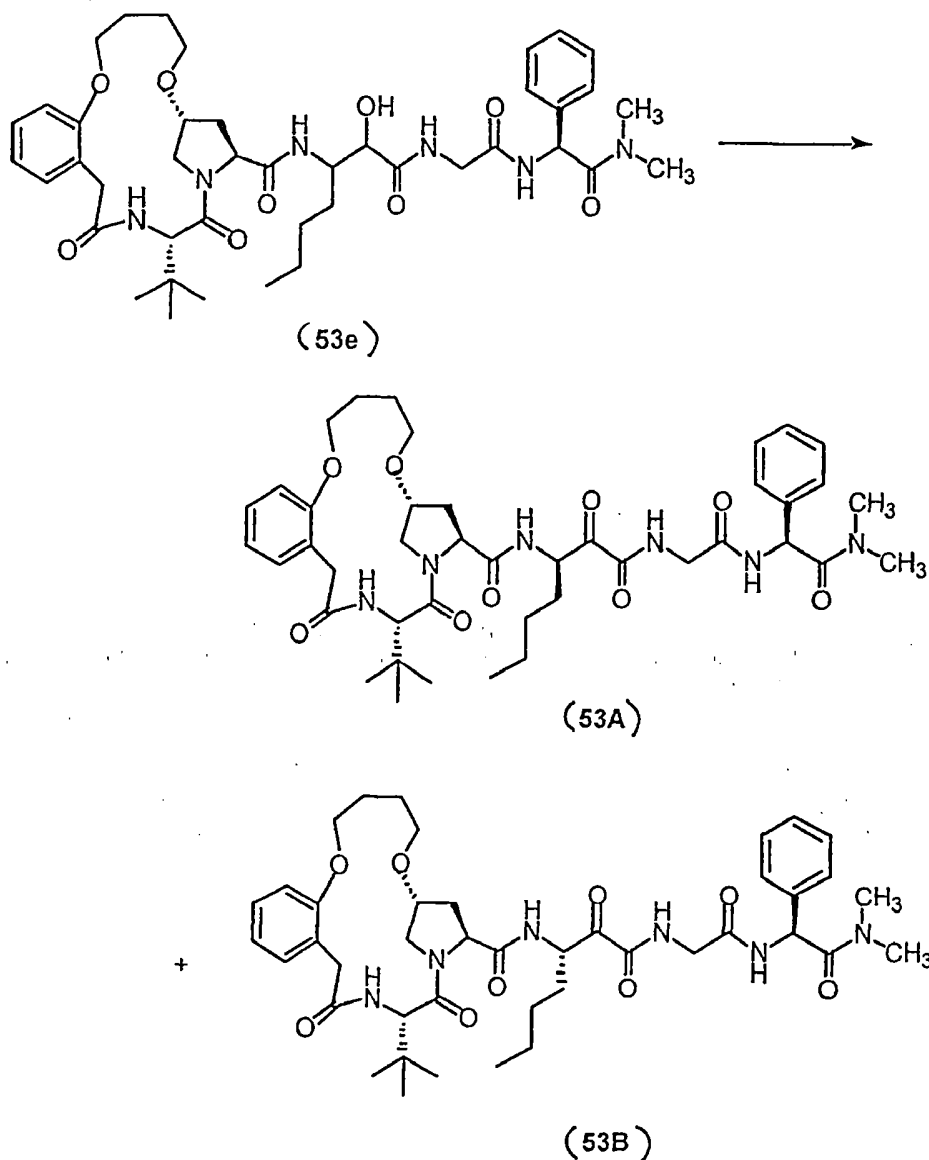
Krok D



Požadovaný produkt sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok I.

Krok E

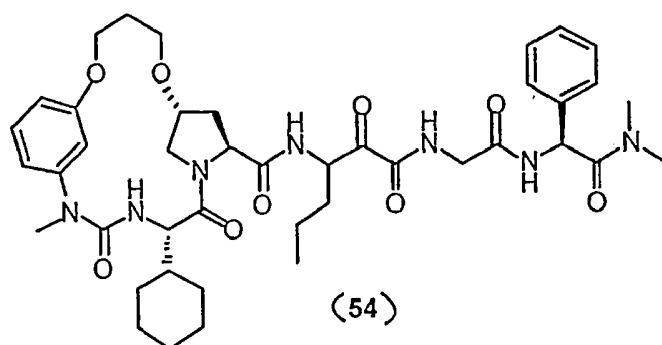




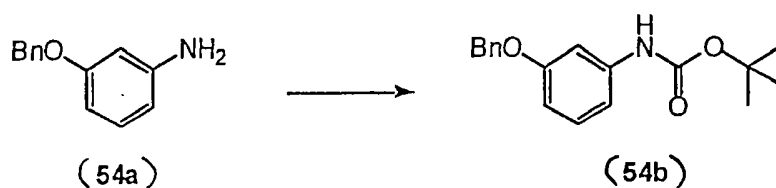
Požadované produkty 53A a 53B sa získali pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 100/0 až 99/1 dichlórmetán/metanol poskytlo oddelené izoméry 53A a 53B, a ich zmes.

Príklad 54

Príprava zlúčeniny 54

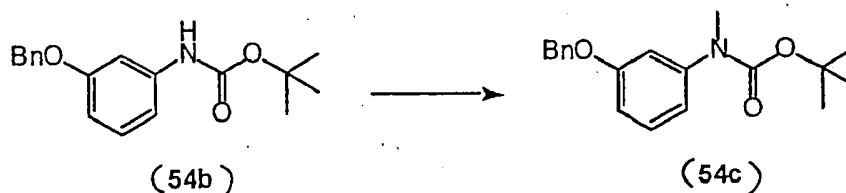


Krok A



Komerčne dostupná zlúčenina 54a sa konvertuje na požadovaný produkt 54b použitím postupu opísaného pre medziprodukt A Krok 3 v kvantitatívnom výťažku.

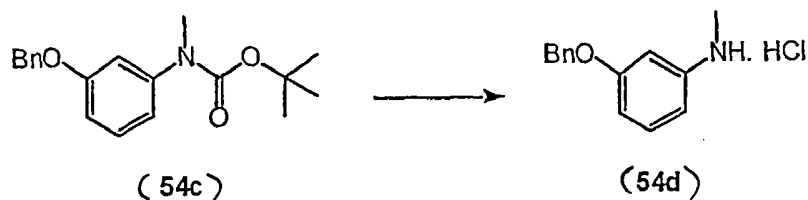
Krok B



Do studeného (0 °C) roztoku produktu 54b (8 g, 26,8 mmol) v DMF (100 ml) sa pridal hydrid sodný (60% disperzia v oleji, 1,3 g, 32,16 mmol). Po 10 minútach sa pridal jódmetán (2,8 ml, 42,8 mmol) a reakčná zmes sa zahriala na okolitú teplotu počas 2 hodín. Reakcia sa zastavila vodným roztokom NH₄Cl a zmes sa

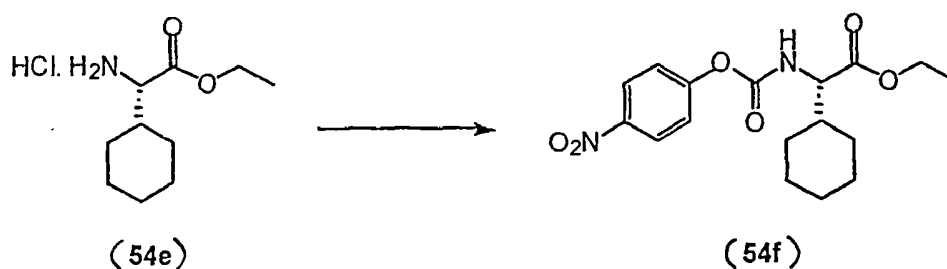
extrahovala EtOAc. Organická vrstva sa oddelila, vysušila sa (Na_2SO_4) a skoncentrovala, čím sa získal produkt 54c, ktorý bol dostatočne čistý pre ďalšie štúdium.

Krok C



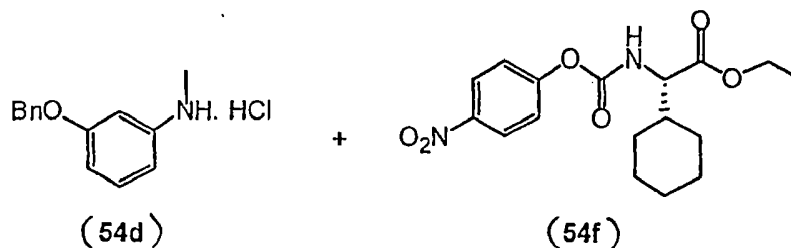
Požadovaný produkt 54d sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok C. Surový produkt sa použil bez ďalšieho čistenia.

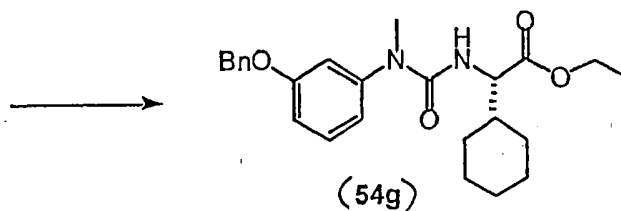
Krok D



Požadovaný produkt 54f sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 26 Krok A použitím produktu 54e ako východiskového materiálu. Surový produkt sa čistil pomocou rýchlej chromatografie použitím zmesi 80/20 až 100/0 dichlórmetán/hexán, čím sa získal produkt 54f.

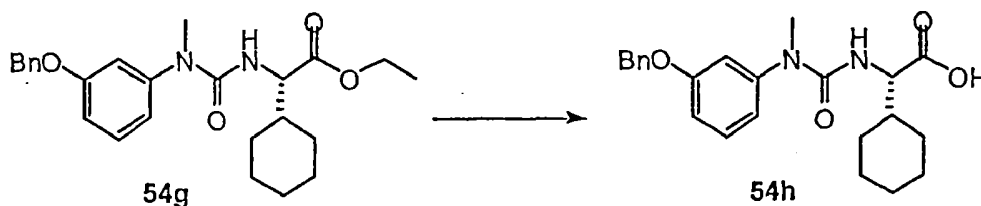
Krok E





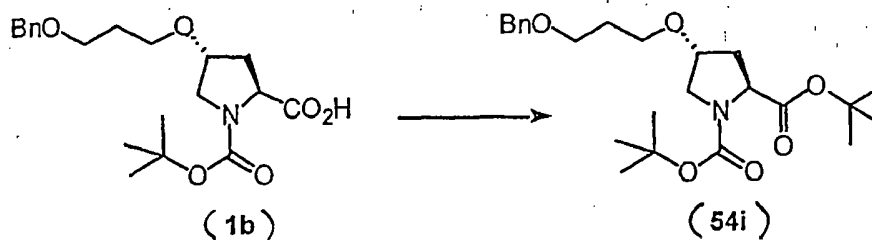
Požadovaný produkt 54g sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 26 Krok B použitím produktov 54d a 54f ako východiskových materiálov. Reakcia sa uskutočňuje v chloroforme pri 50 °C. Zvyšok sa čistil pomocou rýchlej chromatografie použitím 85/15 hexány/EtOAc, čím sa získal produkt 54g v 56% výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{25}H_{33}N_2O_4$: 425,2440 ($M+H$)⁺. Nájdene: 425,2424.

Krok F



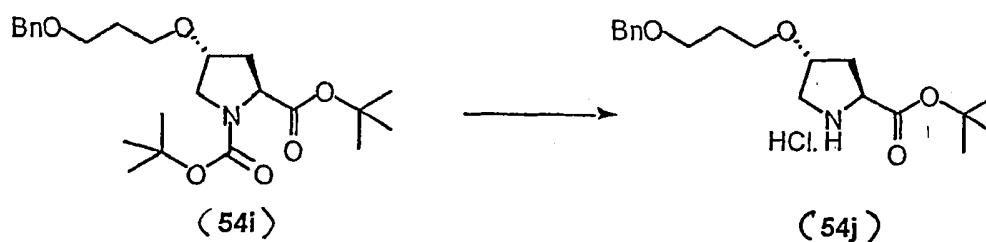
Požadovaná zlúčenina 54h sa získala pomocou postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok I použitím EtOH ako rozpúšťadla.

Krok G



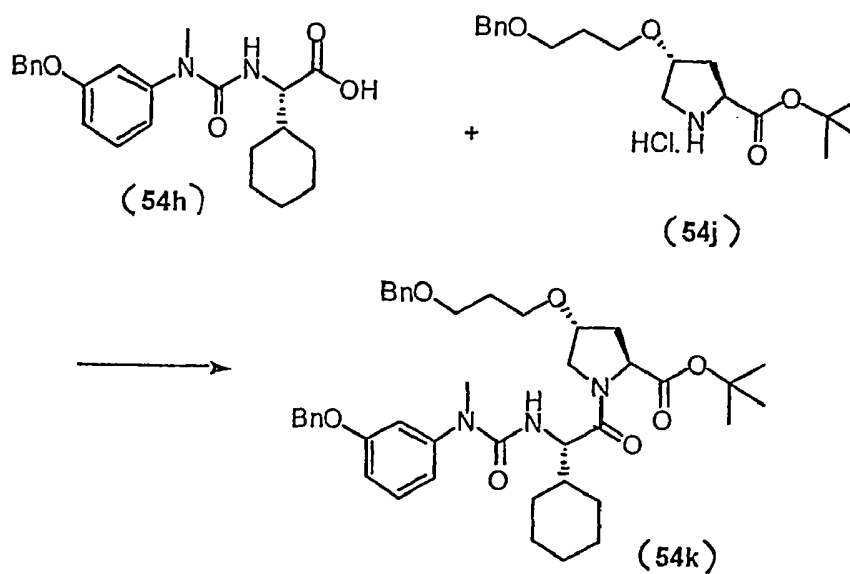
Požadovaná zlúčenina 54i sa pripravila pomocou postupu opísaného v Príklade 18 Krok B.

Krok H



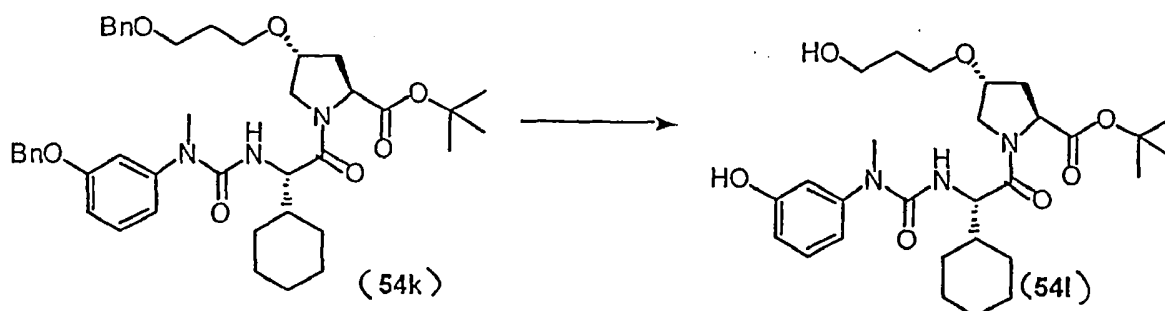
Požadovaný produkt 54j sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok C. Surový materiál sa použil bez čistenia.

Krok I



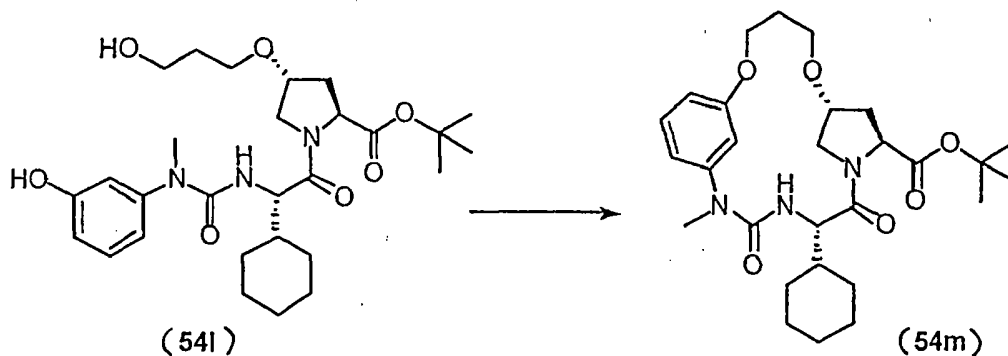
Požadovaný produkt 54k sa získal pomocou kopulačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok D.

Krok J



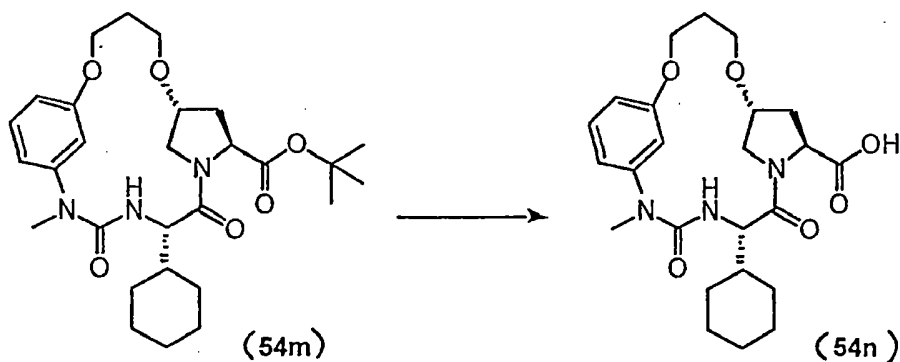
Požadovaný produkt 54l sa získal pomocou hydrogenačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok G.

Krok K



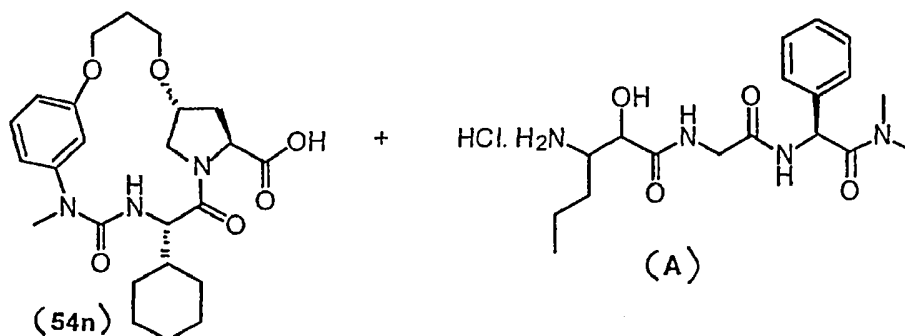
Požadovaný produkt 54m sa získal pomocou cyklizačného postupu opísaného v Príklade 1 Krok H.

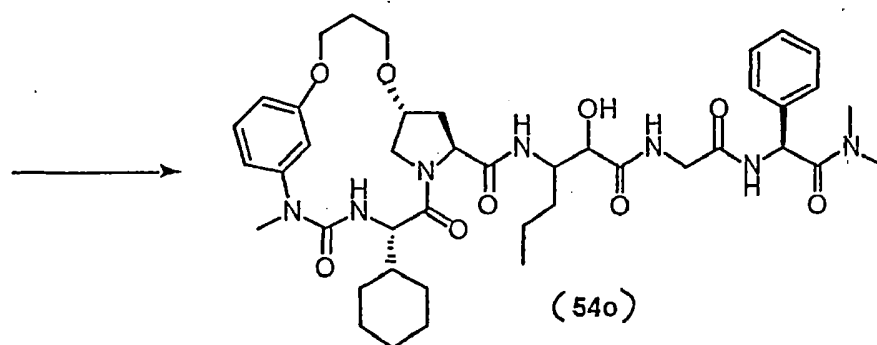
Krok L



Požadovaný produkt 54n sa získal pomocou postupu opísaného skôr v Príklade 3 Krok A.

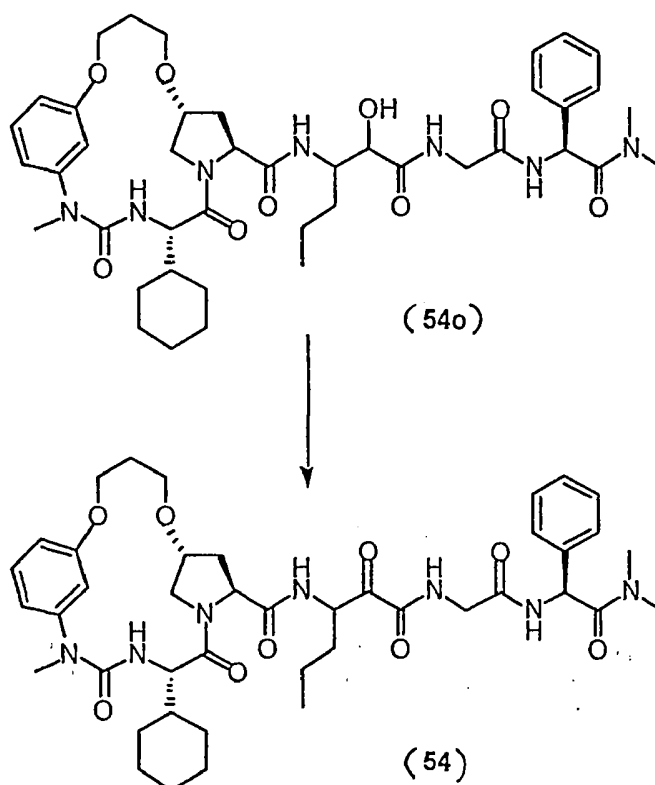
Krok M





Očakávaný produkt 54o sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 1 Krok J.

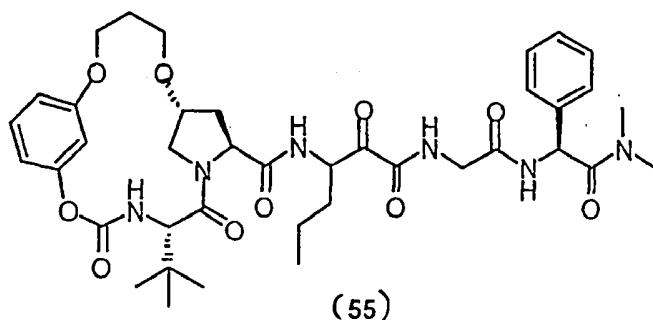
Krok N



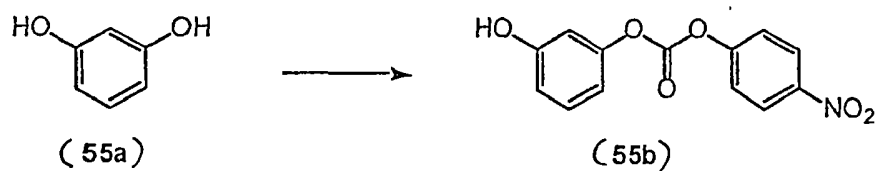
Požadovaný produkt 54 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej, kolónovej chromatografie poskytlo čistý produkt 54.

Príklad 55

Príprava zlúčeniny 55

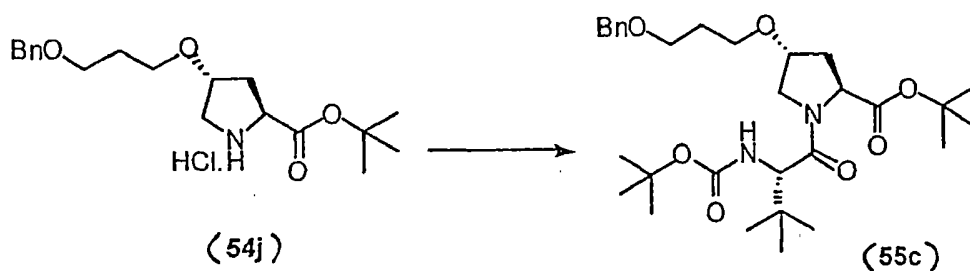


Krok A



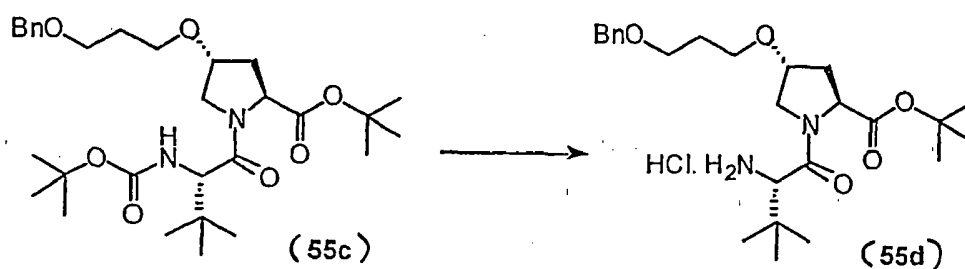
Komerčne dostupná zlúčenina 55a sa konvertuje na požadovaný produkt 55b použitím postupu opísaného v Príklade 26 Krok A v 41% výťažku.

Krok B



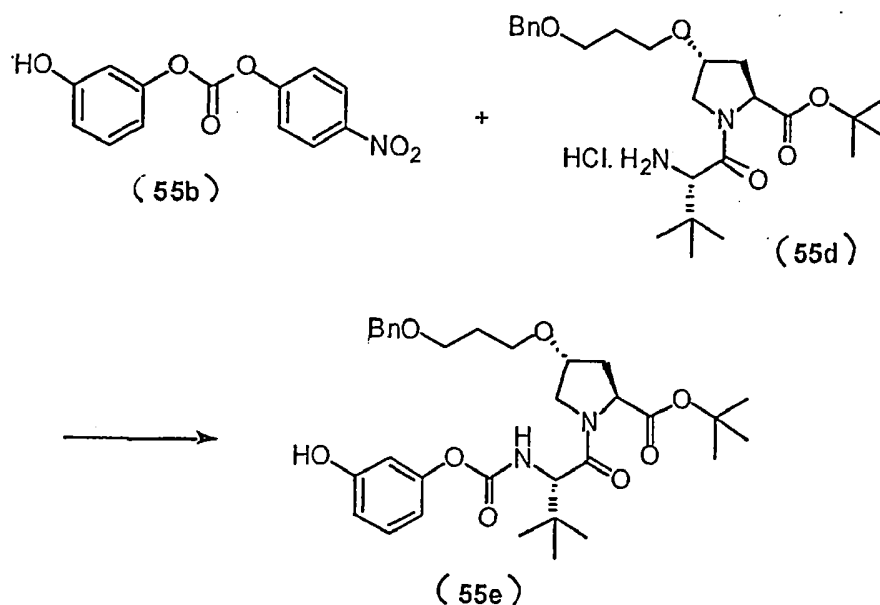
Požadovaný produkt 55c sa získal pomocou kopulačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok D použitím *N*-*tert*-butylglycínu ako kopulačného partnera. Čistenie použitím zmesi 95/5 dichlórmetán/EtOAc poskytlo produkt 55c v 57% výťažku.

Krok C



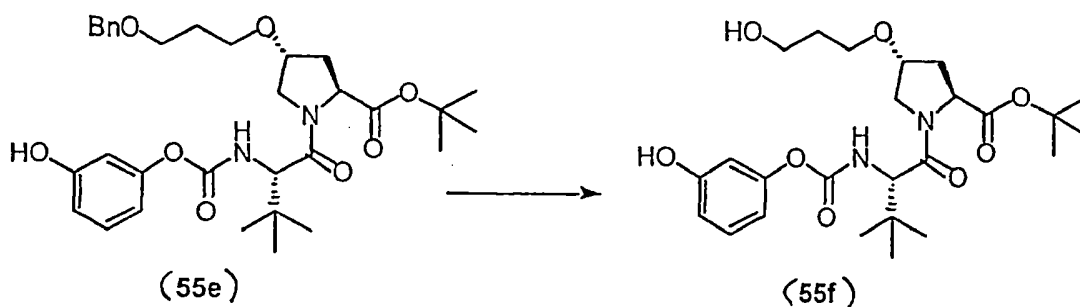
Požadovaný produkt 55d sa získal pomocou postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok C. Surový materiál sa preniesol ďalej.

Krok D



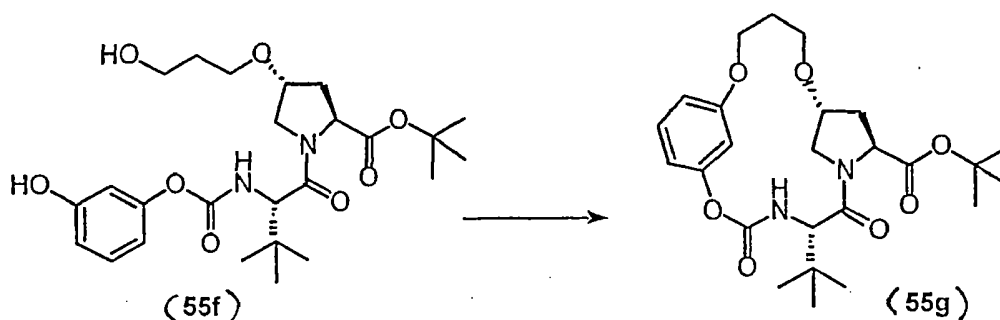
Požadovaný produkt 55e sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 26 Krok B. Čistenie použitím zmesi 80/20 dichlórmetán/EtOAc poskytlo produkt 55e v 20% výťažku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{32}H_{45}N_2O_8$: 585,3176 (M+H)⁺. Nájdené: 585,3177.

Krok E



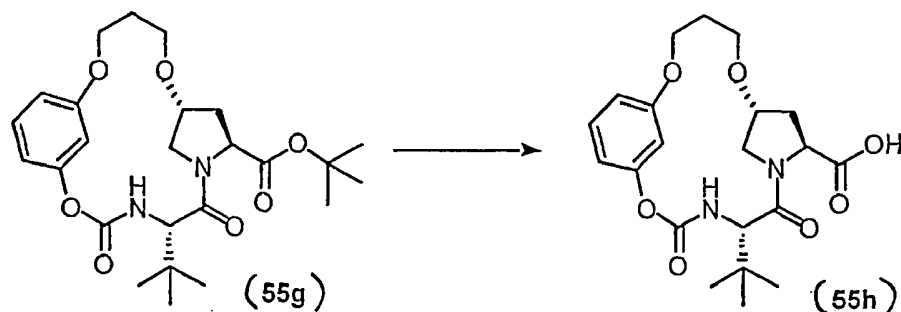
Požadovaný produkt 55f sa získal pomocou postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok G. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{25}H_{39}N_2O_8$: 495,2706 (M+H)⁺. Nájdené: 495,2704.

Krok F



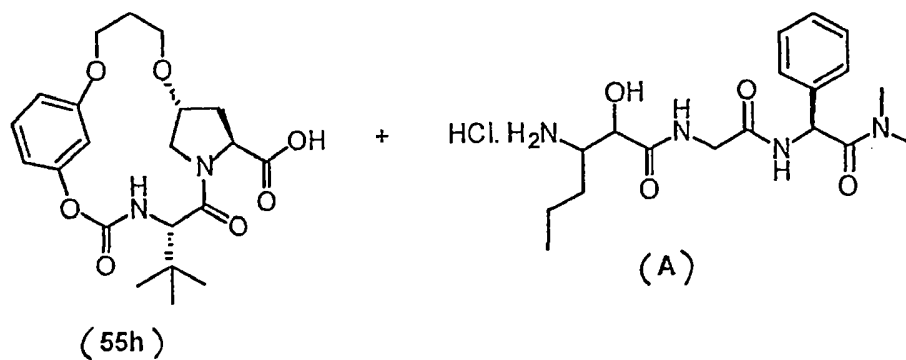
Očakávaný produkt 55g sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 1 Krok H. Čistenie pomocou rýchlej chromatografie použitím zmesi 85/15 dichlórmetán/EtOAc poskytlo produkt 55g v 10% výťažku.

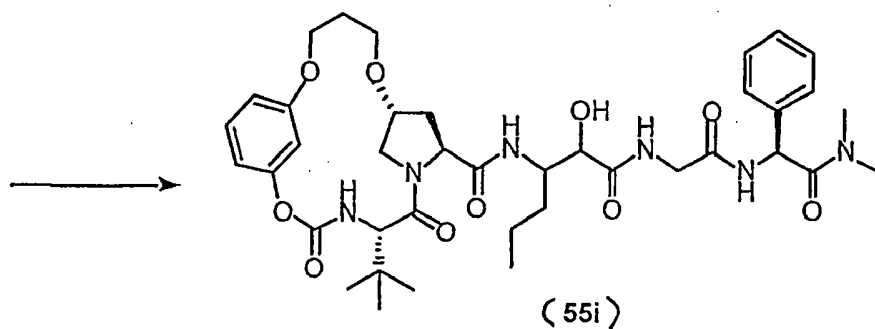
Krok G



Požadovaný produkt 55h sa získal pomocou spôsobu opísaného skôr v Príklade 3 Krok A. Surový materiál sa preniesol ďalej bez čistenia.

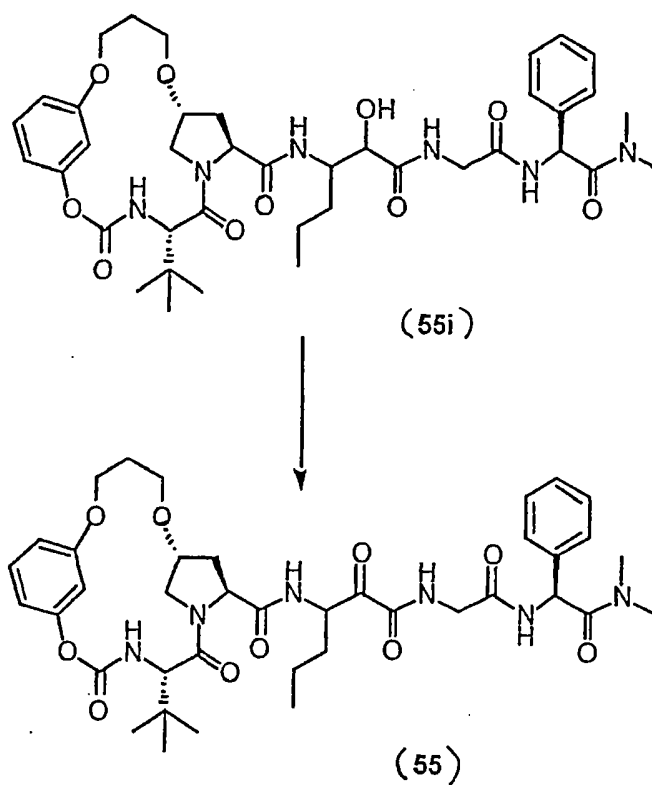
Krok H





Očakávaný produkt 55i sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 1
Krok J. Surový materiál sa preniesol ďalej bez čistenia.

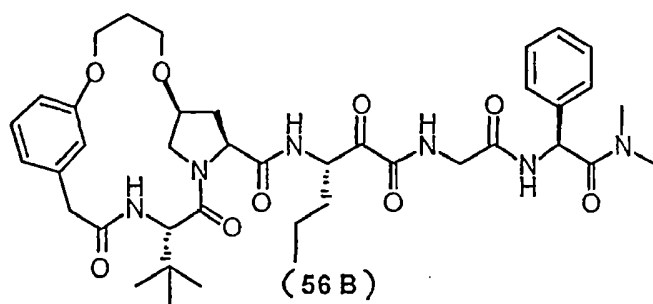
Krok I



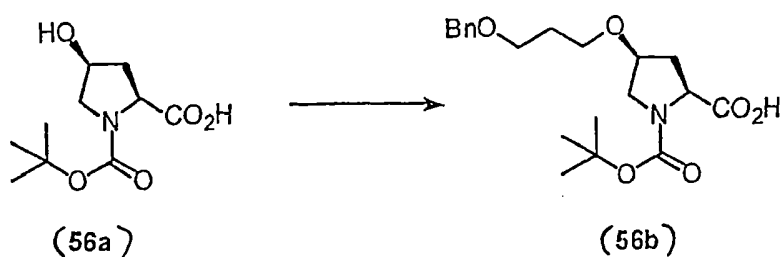
Požadovaný produkt 55 sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 dichlórmetán/MeOH poskytlo produkt 55.

Príklad 56

Príprava zlúčeniny 56

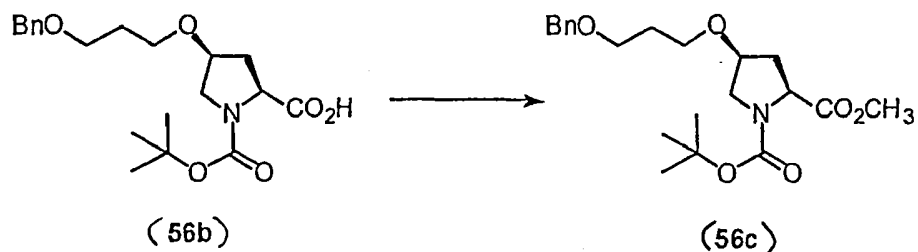


Krok B



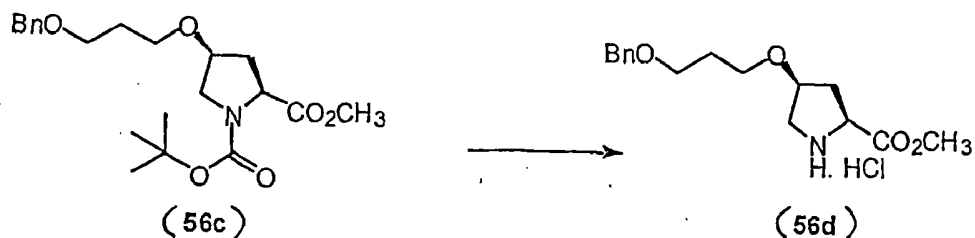
Požadovaný produkt 56b sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok A. Surový materiál sa konvertuje na metylester bez čistenia.

Krok C



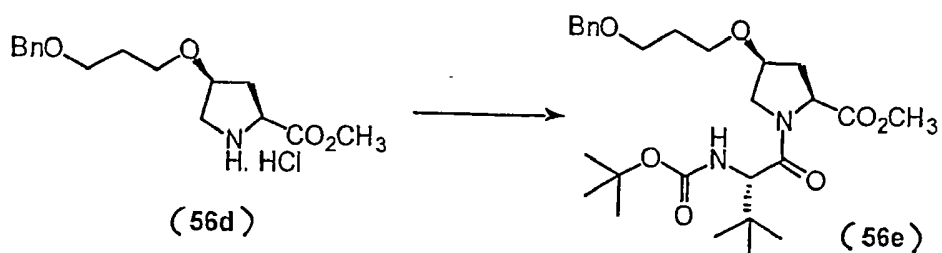
Požadovaný produkt 56c sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok B. Čistenie zvyšku pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 80/20 až 50/50 hexány/EtOAc a potom 70/30 až 40/60 dichlórmetán/EtOAc poskytlo 13 % produktu 56c. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{21}H_{31}NO_6$: 394,2230 ($M+H$)⁺. Nájdené: 394,2224.

Krok D



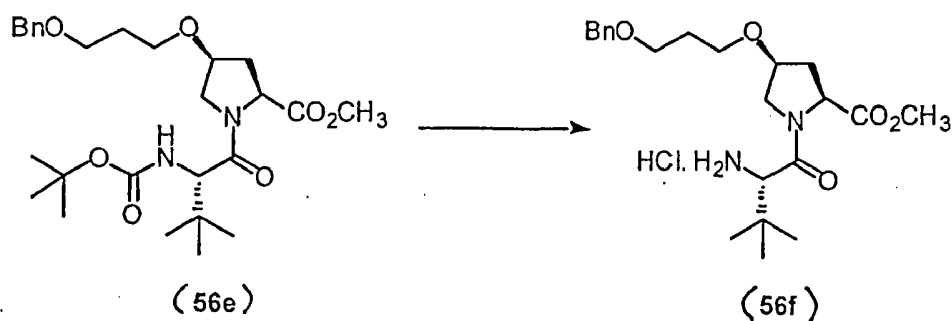
Požadovaný produkt 56d sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok C. Surový materiál sa použil bez čistenia.

Krok E



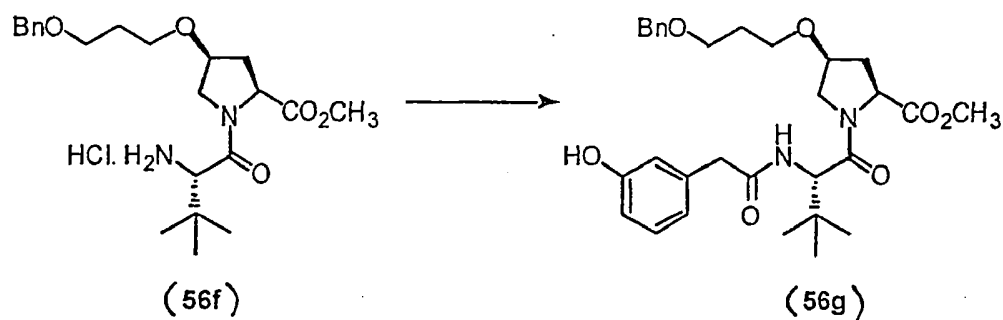
Požadovaný produkt 56e sa získal pomocou spôsobu opísaného v Príklade 1 Krok D, použitím *N*-*boc*-*tert*-butyl-glycinu ako kopulačného partnera. Čistenie zvyšku pomocou kolónovej chromatografie použitím zmesi 90/10 dichlórmetán/-EtOAc poskytlo 86 % produktu 56e. HRMS (FAB) vypočítané pre C₂₇H₄₃N₂O₇ 507,3070 (M+H)⁺. Nájsené: 507,3072.

Krok F



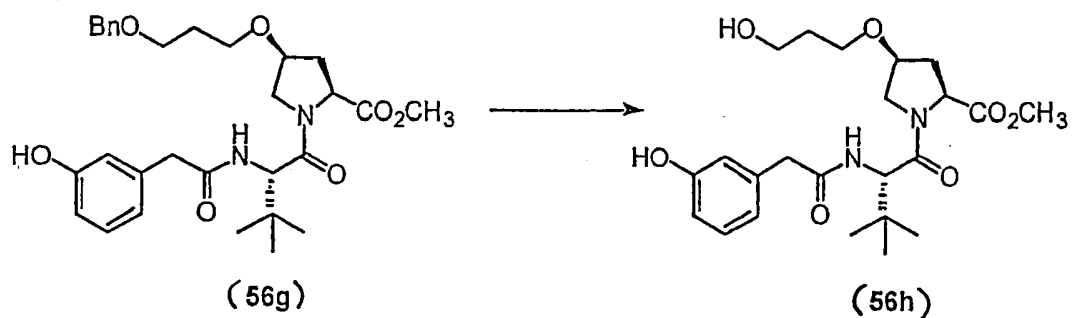
Požadovaná zlúčenina 56f sa pripravila pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok E. Tento materiál bol prenesený ďalej bez úpravy.

Krok G



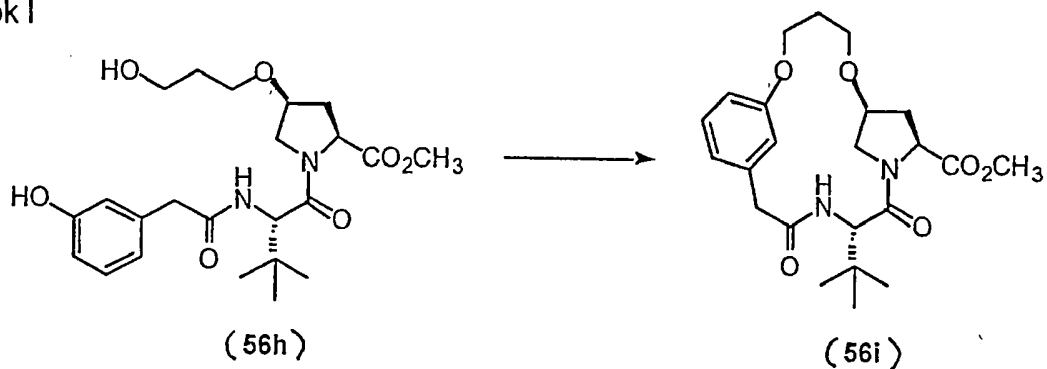
Požadovaný produkt 56g sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok F. Tento materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 dichlórmétán/MeOH, čím sa získal produkt 56g v 78% výťažku ako biela pena. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{30}H_{41}N_2O_7$: 541,2914 (M+H)⁺. Nájdene: 541,2916.

Krok H



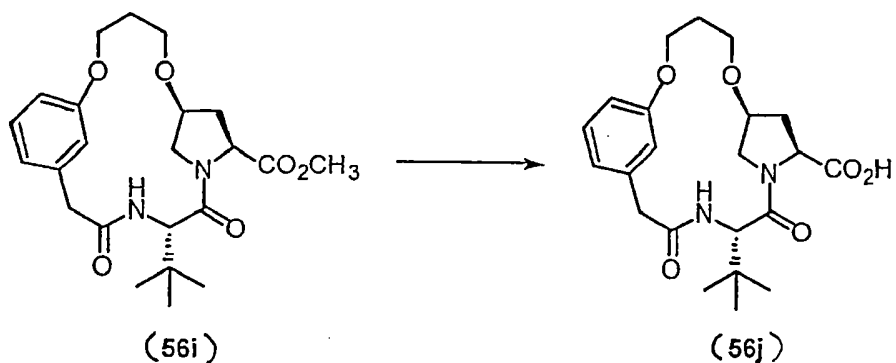
Požadovaný produkt 56h sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok G. Produkt získaný po odfiltrovaní katalyzátora bol dostatočne čistý na následné spracovanie. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{23}H_{35}N_2O_7$: 451,2444 ($M+H$)⁺. Nájdené: 451,2449.

Krok I



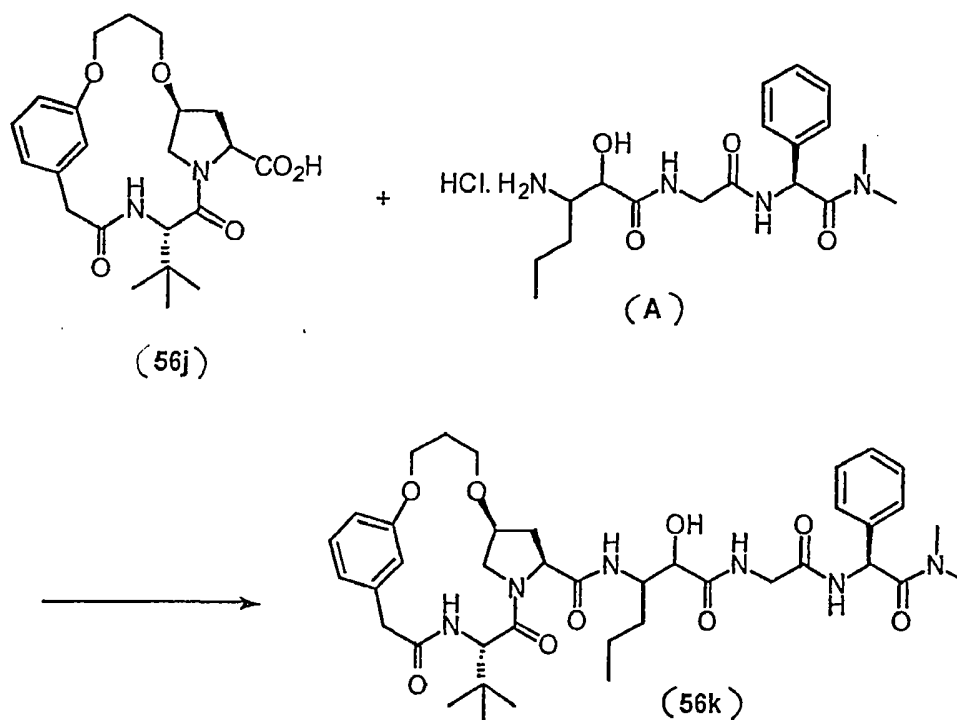
Požadovaný produkt 56i sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok H. Čistenie surového zvyšku použitím zmesi 75/25 hexány/acetón poskytlo zmes produktu 56i spolu s trifenylfosfínoxidom. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{23}H_{33}N_2O_6$: 433,2339 ($M+H$)⁺. Nájdené: 433,2343.

Krok J



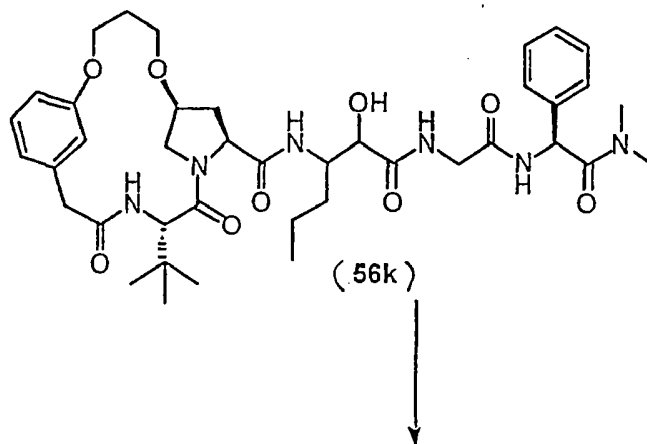
Očakávaný produkt 56j sa syntetizoval tak, ako je opísané v Príklade 1 Krok I. Výťažok pre dva kroky 16 %. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{22}H_{31}N_2O_6$: 419,2182 $(M+H)^+$. Nájdené: 419,2176.

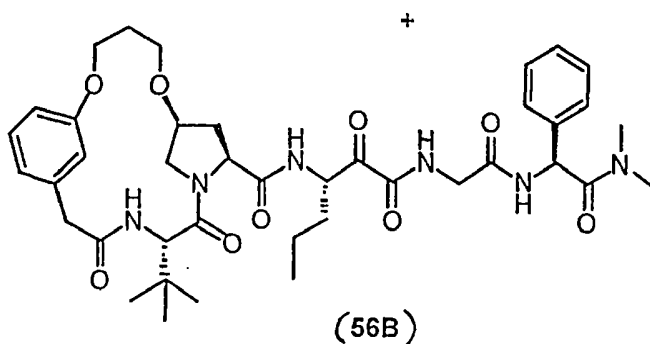
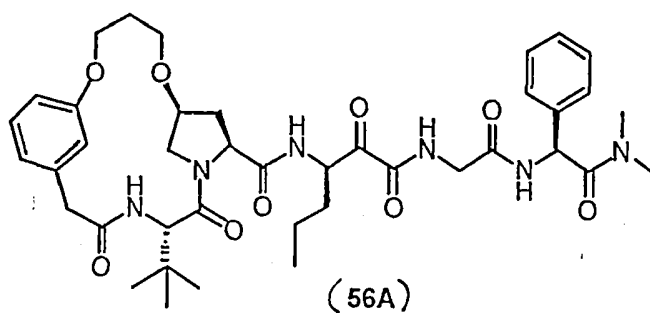
Krok K



Očakávaný produkt 56k sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 1 Krok J. Tento materiál po spracovaní bol dostatočne čistý na to, aby sa preniesol do nasledujúceho kroku. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{40}H_{57}N_6O_9$: 765,4187 $(M+H)^+$. Nájdené: 765,4198.

Krok L

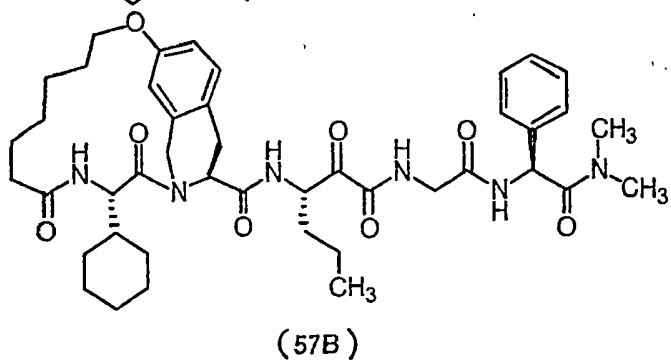
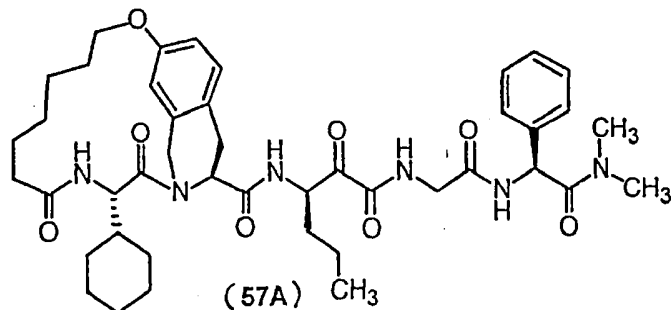




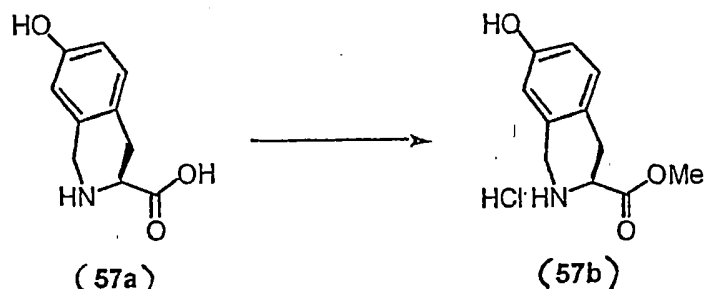
Požadované produkty 58A a 56B sa získali pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K. Čistenie pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi 98/2 až 96/4 dichlórmetán/MeOH poskytlo oddelené izoméry 56A a 56B, a ich zmes. Kombinovaný výťažok = 35 % (pre 2 kroky). HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{40}H_{55}N_6O_9$: 763,4031 ($M+H$)⁺. Nájdené: 763,4025 (56A), 763,4040 (56B).

Príklad 57

Príprava zlúčenín vzorcov 57A a 57B

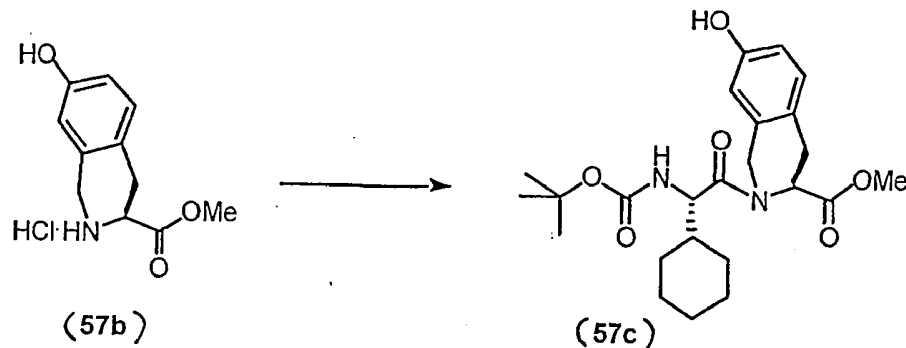


Krok A



Do roztoku komerčného dihydrátu aminokyseliny (3S)-7-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroizochinolín-3-karboxylovej kyseliny 57a (5,0 g, 21,8 mmol) v metanole (180 ml) sa pridala koncentrovaná kyselina chlorovodíková (5,0 ml, 60 mmol). Výsledný číry roztok sa potom zahrieval pod refluxom v olejovom kúpeli počas 18 hodín. Rozpúšťadlá sa odstránili za vákua, čím sa získal metylester 57b ako biela tuhá látka, ktorá sa použila v nasledujúcej reakcii bez ďalšieho čistenia.

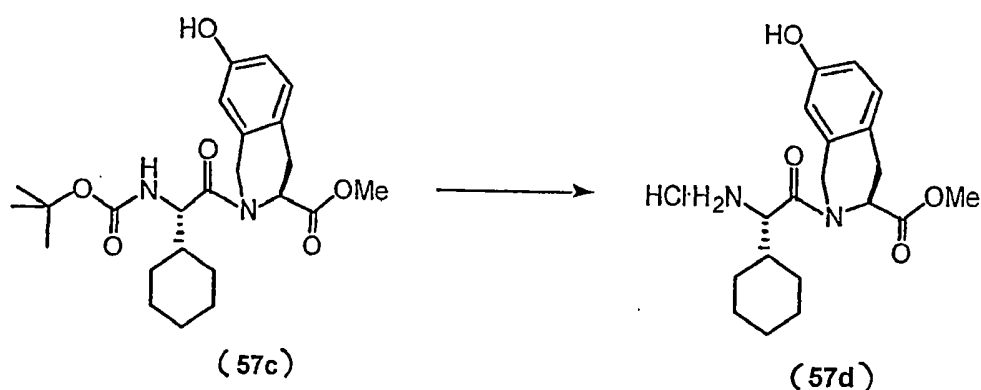
Krok B



Do roztoku hydrochloridu amínu 57b, *N*-Boc-cyklohexylglycín (5,95 g, 21,8 mmol), HOObt (3,73 g, 22,9 mmol) a EDCI (5,00 g, 26,1 mmol) v bezvodom DMF (200 ml) a CH_2Cl_2 (200 ml) pri $-20\text{ }^\circ\text{C}$ sa pridal NMM (7,20 ml, 65,5 mmol). Po premiešavaní pri tejto teplote počas 30 minút sa reakčná zmes udržiavala v mrazničke počas noci (18 hodín), po čom sa pridali EtOAc (600 ml), soľanka (150 ml) a 5% H_3PO_4 (150 ml). Oddelený organický roztok sa premyl s 5% H_3PO_4 (200 ml), nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (2x 200 ml), vodou (200 ml) a soľankou (200 ml), vysušil sa síranom horečnatým, prefiltroval a skoncentroval sa za vákua, čím získal produkt 57c (10,3 g, kvantitatívne 2 kroky) ako bielu tuhú látku. ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 9,32 (s, 1H), 8,35 - 8,32 (m,

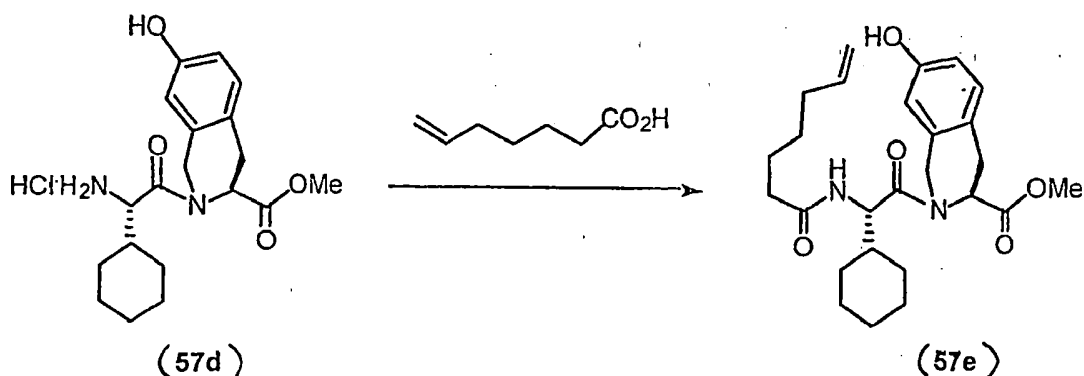
1H), 6,99 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 6,65 - 6,54 (m, 1H), 4,92 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H), 4,50 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H), 4,43 - 4,36 (m, 1H), 4,29 - 4,19 (m, 1H), 3,53 (s, 3H), 3,02 - 2,81 (m, 2H), 1,98 - 1,62 (m, 8H), 1,42 - 1,11 (m, 14H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 171,6, 171,2, 162,3, 156,0, 133,7, 128,8, 125,3, 114,1, 112,6, 78,0, 54,8, 52,4, 51,9, 45,0, 29,5, 28,1, 28,0, 25,9, 25,6, 25,5; HRMS m/z 447,2492 [vypočítané pre $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6$, 447,2495].

Krok C



Boc-aminometyléster 57c (7,20 g, 16,1 mmol) sa rozpustil v 4 mol/l HCl (100 ml, 400 mmol) a výsledný roztok sa premiešaval pri laboratórnej teplote. Postup reakcie bol monitorovaný pomocou TLC. Po 4 hodinách sa roztok skoncentroval za vákua a zvyšok bol pod vákuom počas noci, čím sa získal produkt 57d ako biela tuhá látka, ktorá sa použila v nasledujúcej kopulačnej reakcii bez ďalšieho čistenia.

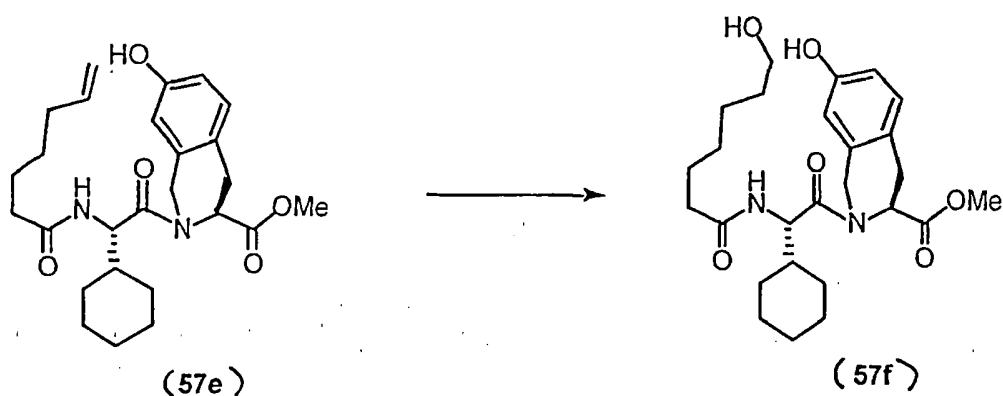
Krok D



Do roztoku amín hydrochloridu 57d (z Kroku D), kyseliny 6-hepténovej a (2,90 g, 22,6 mmol), HOObt (3,70 g, 22,7 mmol) a EDCI (4,80 g, 25,0 mmol) v

bezvodom DMF (250 ml) a CH_2Cl_2 (150 ml) pri $-20\text{ }^\circ\text{C}$ sa pridal NMM (7,50 ml, 68,2 mmol). Po premiešavaní pri tejto teplote počas 30 minút sa reakčná zmes udržiavala v mrazničke počas 2 dní. Potom sa premiešavala na vzduchu a ponechala sa zahriať na laboratórnu teplotu počas 1 hodiny. Pridali sa EtOAc (500 ml), soľanka (100 ml) a 5% H_3PO_4 (100 ml). Oddelený organický roztok sa premyl 5% H_3PO_4 (100 ml), nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (2x 150 ml), vodou (150 ml) a soľankou (150 ml), vysušil sa síranom horečnatým, prefiltraval a skoncentroval sa za vákua. Rýchla chromatografia (zmes 5 až 30% EtOAc/ CH_2Cl_2) poskytla produkt 57e (2,309, 5,04 mmol, 31 % (2 kroky)) ako bielu tuhú látku. ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 9,32 (s, 1H), 8,06 - 8,01 (m, 1H), 7,00 - 6,6,96 (m, 1H), 6,63 - 6,54 (m, 2H), 5,78 - 5,70 (m, 1H), 5,04 - 4,89 (m, 4H), 4,73 - 4,69 (m, 1H), 4,53 (d, $J = 15,5\text{ Hz}$, 1H), 3,54 (s, 3H), 3,01 - 2,91 (m, 2H), 2,15 - 1,93 (m, 4H), 1,76 - 0,97 (m, 15H); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 172,0, 171,5, 171,1, 156,0, 138,6, 134,0, 128,7, 122,5, 114,6, 114,1, 112,5, 52,9, 52,2, 51,29, 45,0, 34,5, 32,8, 32,7, 29,4, 28,7, 28,1, 27,7, 25,9, 25,5, 25,5, 24,8; HRMS m/z 457,1 [vypočítané pre $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_5$, 456,6].

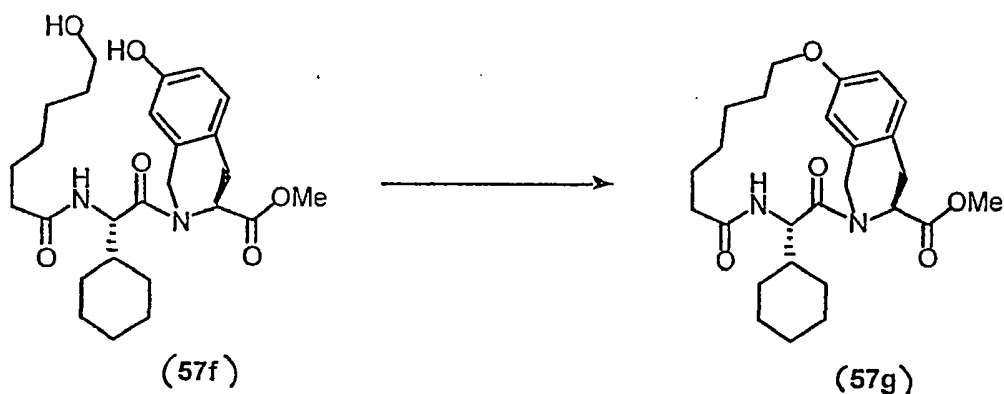
Krok E



Do roztoku produktu 57e (2,20 g, 4,82 mmol) v bezvodom THF (100 ml) pod dusíkom pri $0\text{ }^\circ\text{C}$ sa pridal borán-THF roztok (20 ml, 1,0 mol/l, 20 mmol) kontinuálne. Výsledný roztok sa premiešaval pri $0\text{ }^\circ\text{C}$ pod vodíkovou atmosférou počas 1 hodiny 40 minút. Potom sa pridal etanol (10 ml) a pH 7 pufer (15 ml), po čom nasleduje 30 % H_2O_2 roztok (15 ml). Po premiešavaní pri $0\text{ }^\circ\text{C}$ počas 20 minút, sa zahrial na laboratórnu teplotu a premiešaval počas 2 hodín. Pridali sa EtOAc (400 ml) a soľanka (200 ml) a vrstvy sa oddelili. Vodný roztok sa extrahoval s EtOAc

(2x 150 ml). Spojený organický roztok sa vysušil síranom horečnatým, prefiltroval, skoncentroval sa za vákua. Rýchla chromatografia (3 až 5% MeOH-CH₂Cl₂) poskytla produkt 57f (2,18 g, 4,47 mmol, 93 %) ako bielu tuhú látku. ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 9,32 (s, 1H), 8,04 - 8,00 (m, 1H), 6,99 - 6,96 (m, 1H), 6,63 - 6,51 (m, 2H), 5,05 - 5,00 (m, 1H), 4,73 - 4,21 (m, 3H), 4,51 (d, J = 15,5 Hz, 1H), 3,54 (s, 3H), 3,03 - 2,90 (m, 2H), 2,15 - 2,00 (m, 2H), 1,75 - 1,56 (m, 6H), 1,49 - 0,97 (m, 13H); ¹³C NMR (100 MHz, d₆-DMSO) δ 172,2, 171,6, 171,2, 156,0, 134,1, 128,7, 122,6, 114,2, 112,5, 60,7, 52,9, 52,3, 51,9, 45,1, 34,8, 32,4, 29,5, 28,7, 28,53, 28,47, 28,10, 25,9, 25,6, 25,5, 25,4, 25,2; HRMS *m/z* 475,2812 [vypočítané pre C₂₆H₃₈N₂O₆, 475,2808].

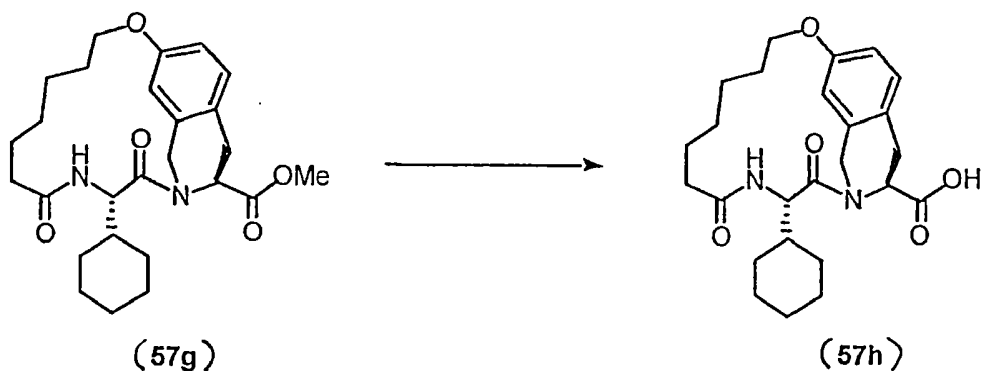
Krok F



Roztok fenol-alkoholu 57f (2,08 g, 4,38 mmol) a ADDP (3,00 g, 11,9 mmol) v bezvodom CH₂Cl₂ sa prebublával argónom cez premývačku so sklenenou fritou počas 20 minút. Do tohto roztoku pri 0 °C sa pridal trifenyľfosfín (3,45 g, 13,2 mmol). Po premiešavaní pri 0 °C počas 20 minút, roztok sa zahrial na laboratórnu teplotu a premiešaval sa počas noci (18 hodín) pod dusíkom. TLC ukázalo prítomnosť podstatného množstva východiskového materiálu. Pridala sa druhá dávka ADDP (3,00 g, 11,9 mmol) a trifenyľfosfínu (3,45 g, 13,2 mmol), a zmes sa premiešavala pod dusíkom počas 2 dní a 16 hodín. TLC ukázala úplnú spotrebu východiskového materiálu. Po odstránení rozpúšťadla za vákua sa zvyšok čiastočne čistil pomocou rýchlej chromatografie (1 až 2% MeOH v CH₂Cl₂), čím sa získala zmes makrocyklu 57g a trifenyľfosfínoxidom. Makrocyklus 57g bol hydrolyzovaný na zodpovedajúcu kyselinu bez ďalšieho čistenia. ¹H NMR (400 MHz, d₆-DMSO) δ 8,00 (d, J = 10,0 Hz, 1H), 7,17 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,82 - 6,76 (m,

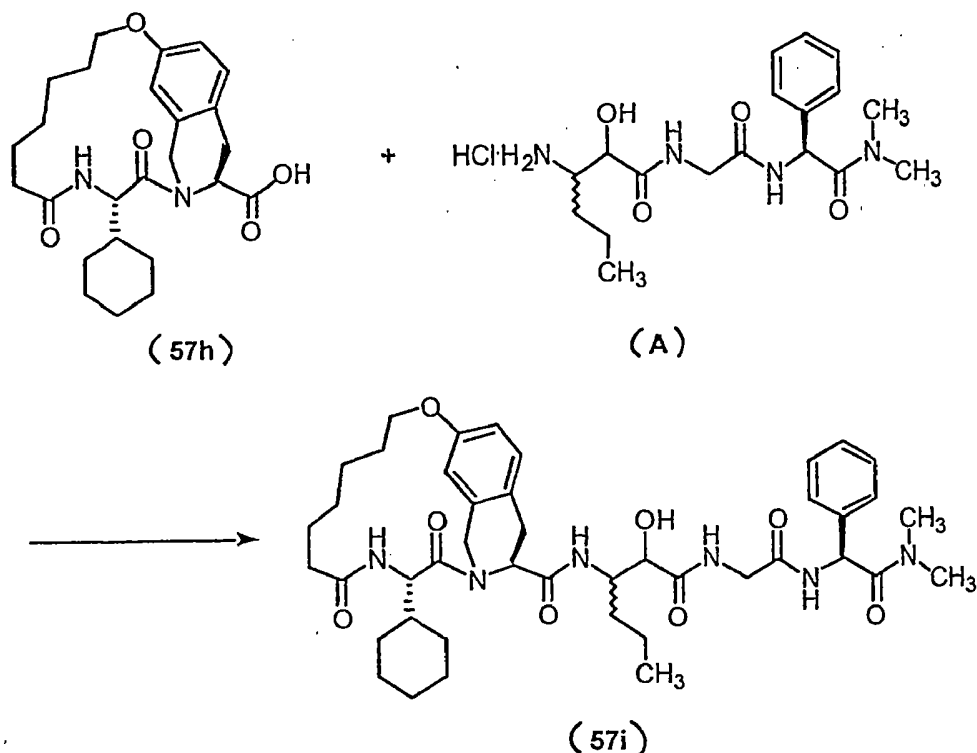
2H), 5,14 (d, $J = 14,5$ Hz, 1H), 4,70 - 4,74 (m, 1H), 4,39 (dd, $J = 11,5, 6,4$ Hz, 1H), 4,25 (d, $J = 14,7$ Hz, 1H), 4,22 - 4,18 (m, 1H), 4,08 - 4,02 (m, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,13 (dd, $J = 15,1, 6,4$ Hz, 1H), 2,85 (dd, $J = 14,7, 11,5$ Hz, 1H), 2,07 - 2,04 (m, 2H), 1,81 - 1,40 (m, 10H), 1,32 - 0,85 (m, 9H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 171,9, 171,5, 170,2, 157,1, 137,0, 131,5, 126,4, 115,9, 112,6, 66,5, 54,4, 52,2, 51,9, 46,8, 44,9, 44,4, 33,6, 29,4, 29,1, 28,0, 27,3, 27,0, 26,0, 25,3, 25,2, 24,3, 24,2, 23,9; HRMS m/z 457,2707 [vypočítané pre $\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_5$, 457,2702].

Krok G



Vodný roztok hydroxidu lítneho (0,21 g, 30 ml H_2O , 8,75 mmol) sa pridal do 0 °C roztoku metylesteru 57g (z Kroku 1F) v THF (30 ml) a metanole (30 ml). Zmes sa premiešavala v ľadovom kúpeli a zahriala sa na laboratórnu teplotu počas 4 hodín. Postup reakcie bol monitorovaný pomocou TLC. Po tom, ako sa prchavé látky odstránili za vákua, sa pridali EtOAc (100 ml) a voda (30 ml) a oddelili sa dve vrstvy. Vodný roztok sa extrahoval znova s CH_2Cl_2 (100 ml), po čom sa okysliť na pH = 1. Potom sa pridal EtOAc (150 ml) a vodný roztok sa nasýtil tuhým chloridom sodným. Po separácii vrstiev sa vodná vrstva extrahovala s EtOAc (2x 100 ml). Organické roztoky sa spojili, vysušili sa síranom horečnatým, prefiltrovali a skoncentrovali sa za vákua, čím sa získal produkt 57h (1,23 g, 2,78 mmol, 63 % (2 kroky)) ako biela tuhá látka.

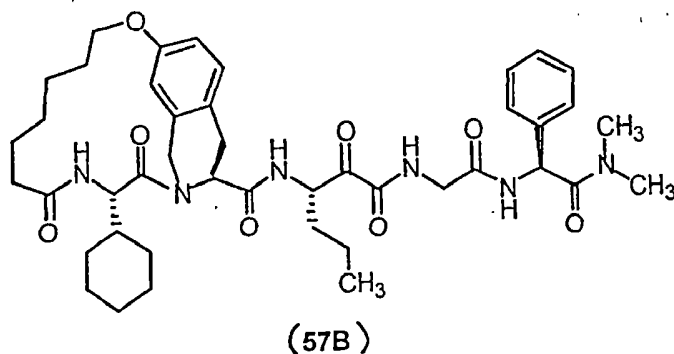
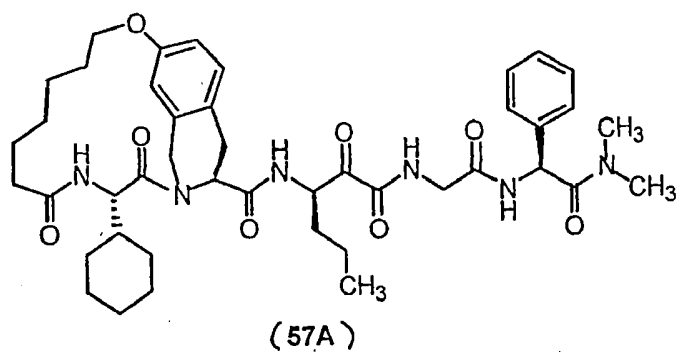
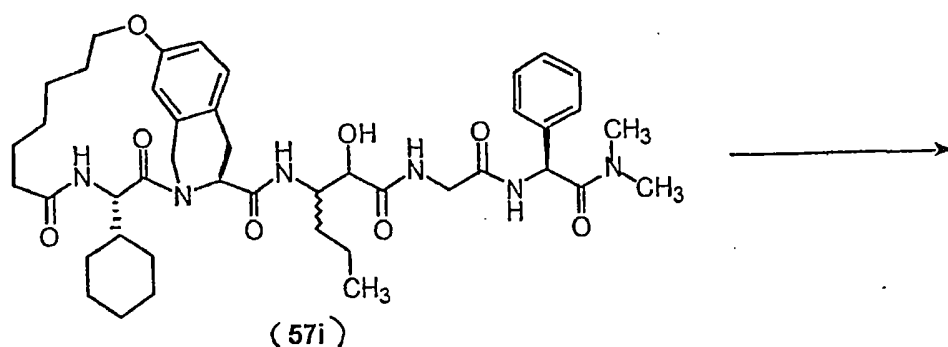
Krok H



Do roztoku kyseliny 57h (0,390 g, 0,881 mmol), amínu A (0,360 g, 0,898 mmol), HOObt (160 mg, 0,981 mmol) a EDCI (210 mg, 1,10 mmol) v bezvodom DMF (50 ml) a CH_2Cl_2 (30 ml) pri -20°C sa pridal NMM (0,40 ml, 3,64 mmol). Po premiešavaní pri tejto teplote počas 30 minút sa reakčná zmes udržiavala v mrazničke počas 66 hodín. Potom sa pridali EtOAc (200 ml), soľanka (50 ml) a 5 % H_3PO_4 (50 ml). Oddelený organický roztok sa premyl postupne s 5 % H_3PO_4 (80 ml), nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného (2x 80 ml), vodou (80 ml), a soľankou (80 ml), vysušil sa síranom horečnatým, prefiltraval a skoncentroval sa za vákua. Rýchla chromatografia (2 až 5% $\text{MeOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$) poskytla 57i ako zmes štyroch diastereomérov (0,340 g, 0,431 mmol, 49 %) ako bielu tuhú látku. ^1H NMR (400 MHz, d_6 -DMSO) δ 8,56 - 8,46 (m, 1H), 7,96 - 7,82 (m, 2H), 7,40 - 7,25 (m, 6H), 7,15 - 6,99 (m, 2H), 6,81 - 6,74 (m, 2H), 6,05 - 5,71 (m, 2H), 5,11 - 5,02 (m, 1H), 4,85 - 4,68 (m, 1H), 4,40 - 3,70 (m, 8H), 3,14 - 3,02 (m, 1H), 2,95 - 2,73 (m, 7H), 2,06 - 2,05 (m, 2H), 1,81 - 1,39 (m, 10H), 1,30 - 1,05 (m, 11H), 0,89 - 0,75 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, d_6 -DMSO) δ 172,24, 172,21, 171,87, 171,81, 171,78, 171,7, 170,8, 170,77, 70,74, 170,5, 170,4, 170,0, 169,97, 169,24, 169,22, 169,1, 169,0, 168,0, 167,9, 167,82, 167,78, 157,2, 156,9, 137,01, 137,57, 137,54, 137,47, 137,43, 137,38, 133,2, 132,2, 128,9, 128,44, 128,41, 128,37,

128,0, 127,96, 127,6, 127,4, 127,3, 127,19, 127,16, 115,7, 115,6, 115,5, 112,8, 112,77, 112,7, 112,6, 73,6, 73,39, 73,37, 72,4, 71,7, 66,9, 66,7, 55,8, 55,6, 55,09, 55,07, 53,02, 52,95, 52,9, 52,6, 51,0, 50,96, 50,91, 50,86, 50,76, 45,6, 45,5, 45,44, 45,36, 41,7, 41,6, 41,5, 41,4, 36,6, 36,55, 36,49, 35,3, 33,7, 33,6, 33,5, 33,0, 32,4, 30,7, 30,3, 30,1, 30,0, 29,8, 29,48, 29,45, 29,41, 28,3, 28,2, 28,1, 27,3, 27,2, 27,13, 27,09, 27,0, 26,9, 26,85, 26,82, 26,1, 25,4, 25,2, 24,1, 24,08, 24,03, 24,0, 23,9, 23,8, 18,8, 18,7, 18,6, 18,4, 13,9, 13,8, 13,7; HRMS m/z 789,4560 [vypočítané pre $C_{43}H_{60}N_6O_8$, 789,4551, chyba = 1 ppm).

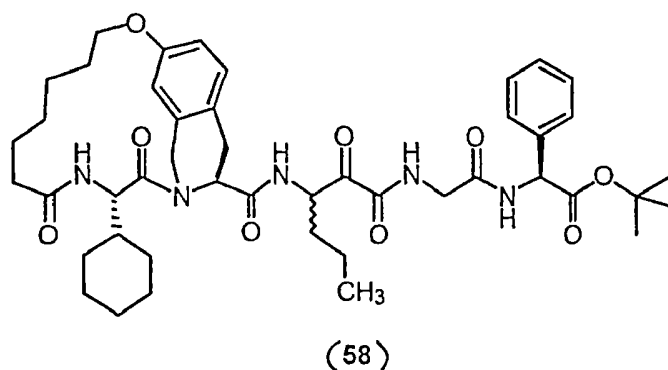
Krok I



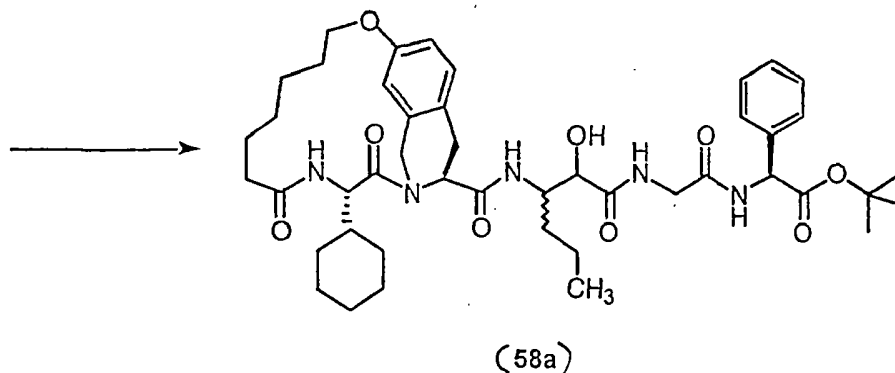
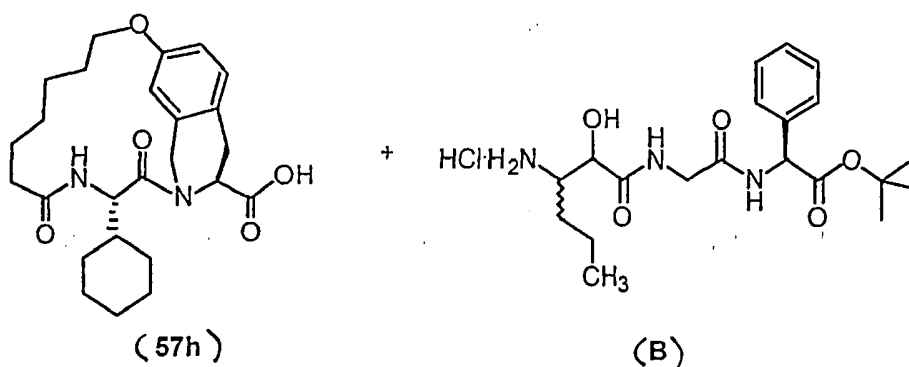
Do zmesi hydroxyamidu 57i (0,320 g, 0,406 mmol) a Dess-Martinovho činidla (0,400 g, 0,943 mmol) pri 0 °C sa pridal bezvodý CH_2Cl_2 (80 ml). Výsledná biela suspenzia sa prudko premiešavala pri 0 °C a zahriala sa na laboratórnu teplotu v ľadovom kúpeli počas 4 hodín. Pridali sa nasýtený vodný roztok hydrogenuhlčitanu sodného a roztok hydrogensiričitanu sodného (po 30 ml) a zmes sa prudko premiešavala počas 10 minút pred tým, ako sa vrstvy oddelili. Vodný roztok sa extrahoval s CH_2Cl_2 (2x 80 ml). Spojené organické roztoky sa vysušili síranom horečnatým, prefiltrovali sa a skoncentrovali za vákua. Rýchla chromatografia (2 až 5% $\text{MeOH}-\text{CH}_2\text{Cl}_2$) poskytla dva stereoizoméry 57A (109 mg, 0,139 mmol) a 57B (102 mg, 0,130 mmol, 66% kombinovaný výťažok) ako biele tuhé látky.

Príklad 58

Príprava zlúčeniny vzorca 58

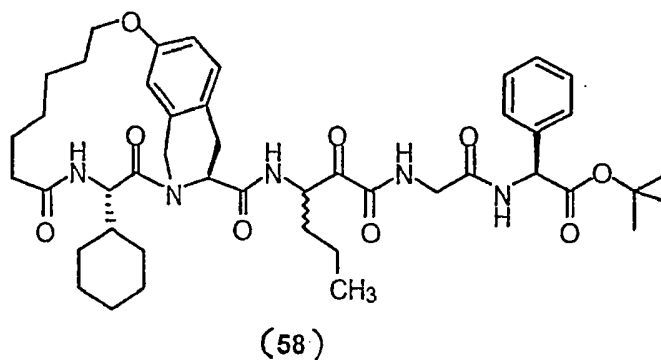
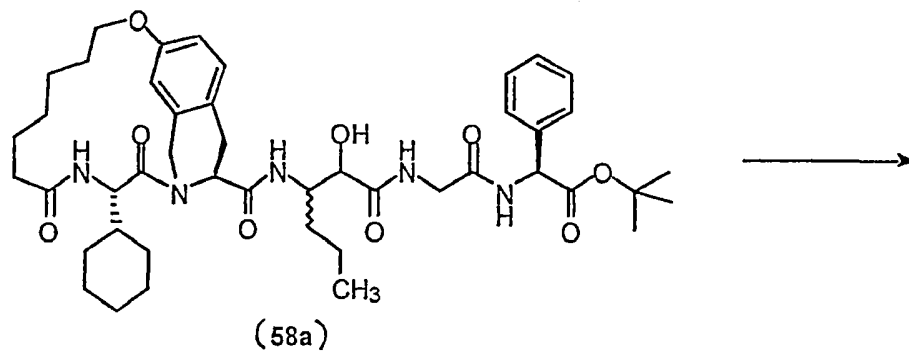


Krok A



Požadovaná zlúčenina 58a sa pripravila podľa spôsobu z Príkladu 1 Krok J, s výnimkou nahradenia amín hydrochloridu B za A. Hydroxy-amid 58a sa získal ako zmes neoddeliteľných diastereomérov vo forme bielej tuhej látky v 53% výťažku.

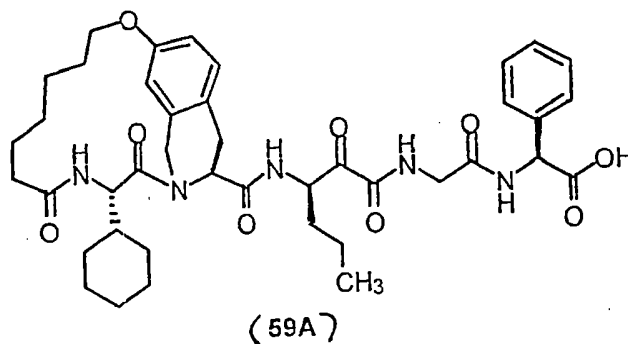
Krok B

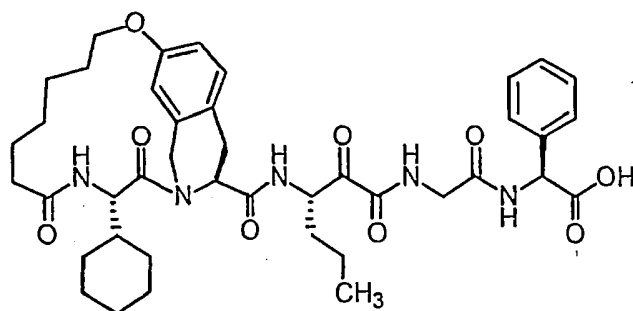


Požadovaná zlúčenina 58 sa pripravila z hydroxyamidu 58a podľa spôsobu z Príkladu 2 Krok B. Získala sa ako zmes neoddeliteľných diastereomérov vo forme bielej tuhej látky v 88% výťažku.

Príklad 59

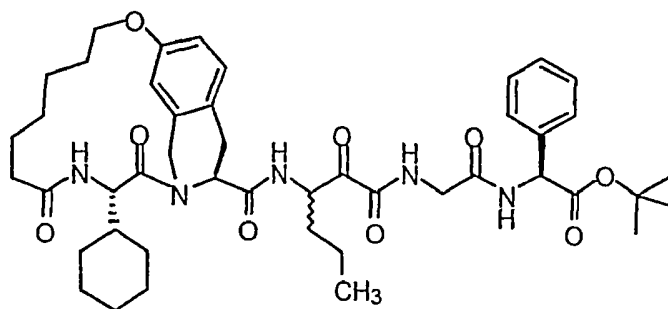
Príprava zlúčenín vzorca 59A a 59B



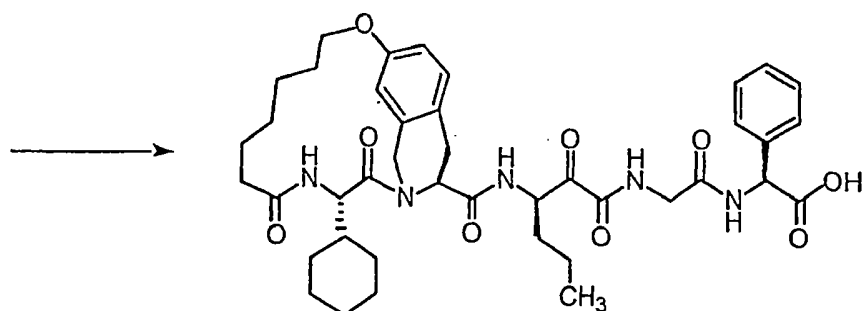


(59B)

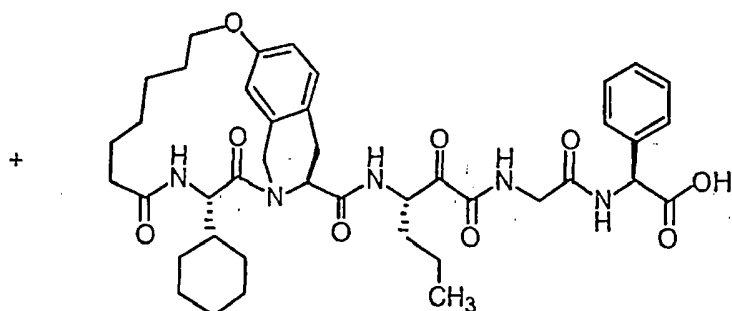
Krok A



(58)



(59A)



(59B)

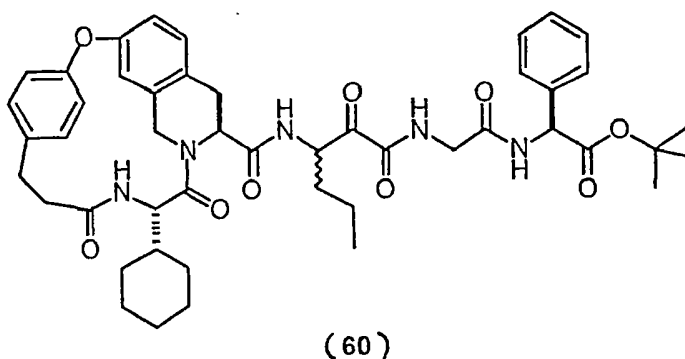
Roztok *tert*-butyl-esteru 58 (18 mg, 0,022 mmol) v trifluóroctovej kyseline (2 ml) a CH₂Cl₂ (2 ml) sa premiešaval pri laboratórnej teplote počas 3 hodín. Po tom, ako sa prchavé látky odstránili za vákua, sa zvyšok rozpustil v zmesi 50% MeOH-CH₂Cl₂ (3 ml) a skoncentroval sa do sucha za vákua, čím sa získala špinavo biela tuhá látka. Rýchla chromatografia (8 až 15% MeOH, 0,3 až 0,5% AcOH v CH₂Cl₂)

poskytla dva stereoizoméry 59A (6,5 mg, 0,0086 mmol) a 59B (6,1 mg, 0,008 mmol, 75% kombinovaný výťažok) ako biele tuhé látky. Analytické údaje pre 59A: ^1H NMR (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 8,75 - 8,72 (m, 1H), 8,60 - 8,57 (m, 1H), 8,10 - 8,08 (m, 1H), 7,91 - 7,88 (m, 1H), 7,38 - 7,27 (m, 5H), 7,12 (d, J = 8,14 Hz, 1H), 6,81 - 6,73 (m, 2H), 5,24 - 5,22 (m, 1H), 5,06 - 5,01 (m, 1H), 4,77 - 4,73 (m, 1H), 4,39 - 4,17 (m, 3H), 4,07 - 4,01 (m, 1H), 3,92 - 3,79 (m, 3H), 3,15 - 3,05 (m, 1H), 2,78 - 2,72 (m, 1H), 2,08 - 2,05 (m, 1H), 1,78 - 1,45 (m, 13H), 1,41 - 1,22 (m, 4H), 1,18 - 1,03 (m, 4H), 0,93 - 0,81 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 196,6, 171,8, 171,5, 171,9, 170,3, 167,2, 161,0, 157,1, 137,4, 128,4, 128,1, 127,7, 127,5, 127,4, 126,9, 115,6, 112,6, 66,8, 56,6, 55,1, 53,4, 52,7, 52,6, 45,4, 41,6, 33,5, 31,7, 30,0, 29,6, 28,2, 27,2, 27,1, 26,1, 25,42, 25,36, 24,0, 23,8, 18,7, 13,5; HRMS m/z 760,3915 [vypočítané pre $\text{C}_{41}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_9$, 760,3922].

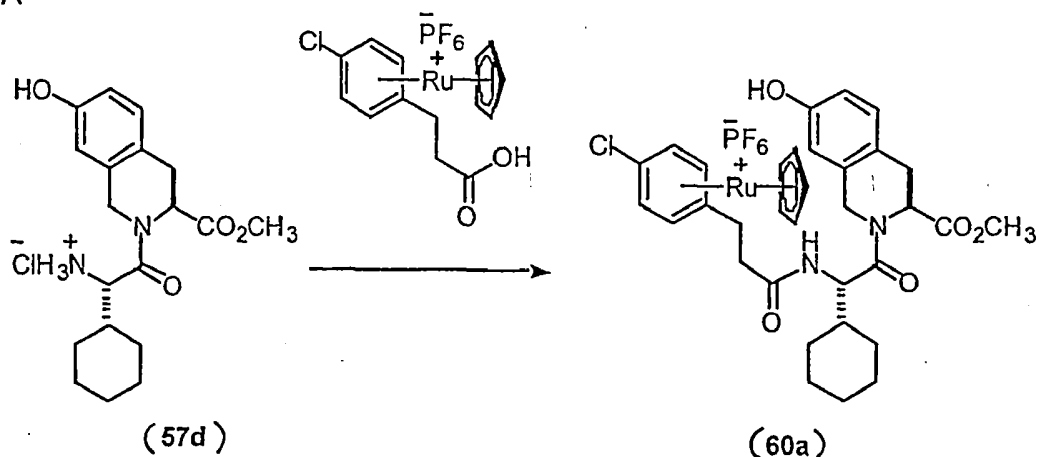
Analytické údaje pre 59B: ^1H NMR (400 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 8,76 - 8,73 (m, 1H), 8,55 (dd, J = 6,9, 3,2 Hz, 1H), 8,24 (d, J = 7,11 Hz, 1H), 7,93 - 7,88 (m, 1H), 7,37 - 7,25 (m, 1H), 7,15 - 7,11 (m, 1H), 6,82 - 6,74 (m, 2H), 5,23 - 5,20 (m, 1H), 5,09 - 5,01 (m, 1H), 4,75 - 4,71 (m, 1H), 4,38 - 4,29 (m, 1H), 4,24 - 4,17 (m, 2H), 4,07 - 4,02 (m, 1H), 3,92 - 3,78 (m, 2H), 3,13 - 3,08 (m, 1H), 2,78 - 2,70 (m, 1H), 2,08 - 2,05 (m, 2H), 1,75 - 1,13 (m, 21H), 0,89 - 0,85 (m, 5H); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{d}_6\text{-DMSO}$) δ 196,7, 171,6, 171,2, 169,9, 167,1, 160,8, 157,0, 137,5, 128,3, 128,2, 128,0, 127,97, 127,9, 127,4, 127,3, 127,1, 115,7, 115,6, 112,7, 112,6, 66,7, 56,8, 54,8, 53,3, 45,5, 41,6, 33,6, 31,8, 29,5, 28,1, 27,3, 27,0, 26,1, 25,4, 24,2, 23,9, 18,6, 13,5; HRMS m/z 760,3915 [vypočítané pre $\text{C}_{41}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_9$, 760,3922].

Príklad 60

Príprava zlúčeniny 60

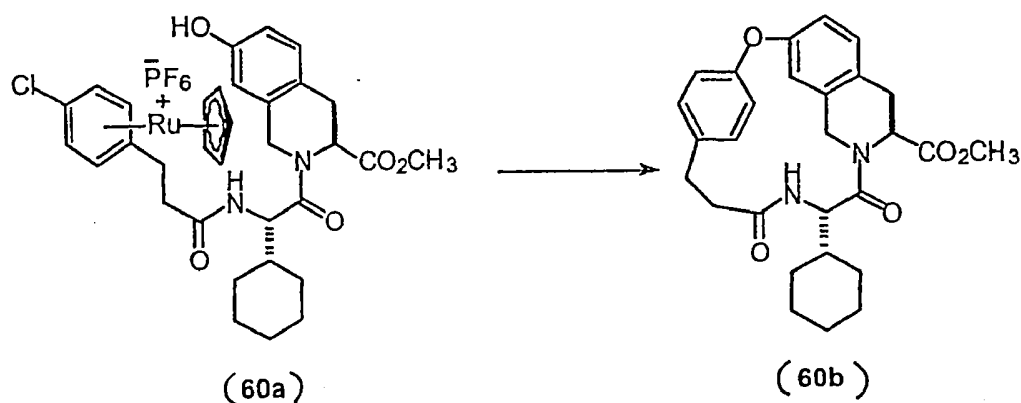


Krok A



Na roztok $[\text{CpRu}(\eta^6\text{-4-chlórphenylpropiónová kyselina})]\text{PF}_6$ (4,14 g, 8,36 mmol) v suchom DMF (20 ml) sa pôsobilo HOBt (1,69 g, 12,54 mmol, 1,5 ekvivalentu) a Hünigovou zásadou (6,47 g, 9,20 ml, 50,16 mmol, 6,0 ekvivalentov). Reakčná zmes sa ochladila na 0 °C a pôsobilo sa na ňu EDCI (2,39 g, 12,54 mmol, 1,5 ekvivalentu). Reakčná zmes sa premiešavala pri 0 °C počas 30 minút a pridala sa Tic-amónna soľ 57d (2,90 g, 7,6 mmol, 1,0 ekvivalent). Reakčná zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote počas 12 hodín a DMF sa oddestiloval za vákua. Zvyšok sa zriedil vodným roztokom HCl (1 mol/l, 100 ml) a extrahoval sa do CH_2Cl_2 (3x 100 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli vodným roztokom NaHCO_3 (1x 100 ml), soľankou (100 ml), vysušili sa (Na_2SO_4), prefiltrovali, skoncentrovali sa za vákua, čím sa získala hnedá tuhá látka 60a (5,2 g, 83 %), ktorá sa použila pri cyklizácii. MS: (Elektro-rozprašovanie): 647 $[(\text{M-CH}_3\text{OH-PF}_6)]^+$, 100], HRMS vypočítané pre $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{ClN}_2\text{O}_4\text{Ru}$ $[(\text{M-CH}_3\text{OH-PF}_6)]^+$ 647,1256; Nájdené: 647,1241.

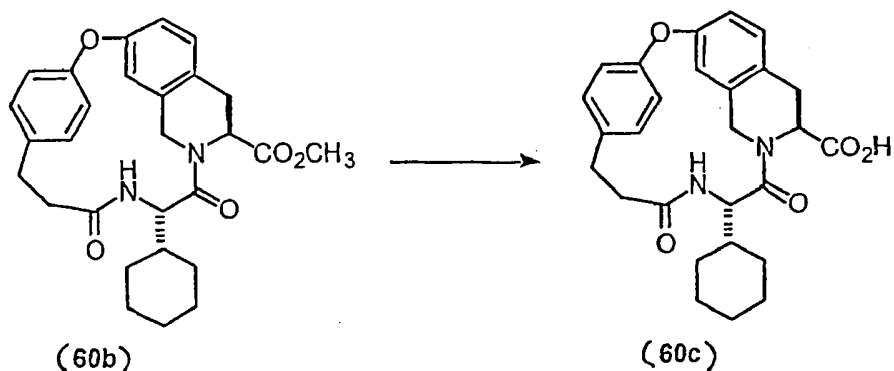
Krok B



Roztok komplexu ruténia 60a (5,0 g 6,01 mmol) v suchom DMF (300 ml) bol zbavený plynov suchým N₂ pri laboratórnej teplote a pridal sa Cs₂CO₃ (10,0 g, 30 mmol, 5,0 ekvivalentov) a premiešaval sa pri laboratórnej teplote počas 24 hodín. Rozpúšťadlo DMF sa oddestilovalo a zvyšok sa zriedil vodou (100 ml) a extrahoval sa s CH₂Cl₂ (3x 100 ml) a propionitrilom (3x 100 ml). Spojené organické vrstvy sa extrahovali soľankou (100 ml), vysušili sa (Na₂SO₄), prefiltrovali, skoncentrovali sa za vákuua a vysušili za vákuua počas noci, čím sa získala hnedá tuhá látka (5,1 g). Použila sa pri fotolytickom odstránení Ru bez ďalšieho čistenia. MS: (Elektro-rozprašovanie) 643 [(M-PF₆)⁺, 100].

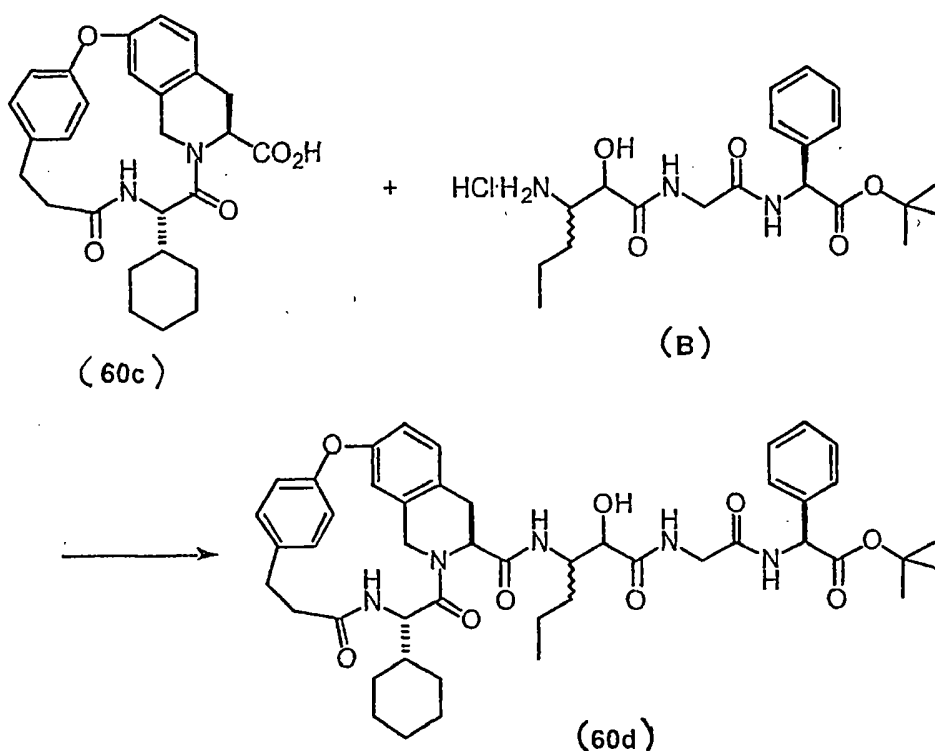
Cyklizovaná zlúčenina z predchádzajúceho kroku sa rozpustila v CH₃CN (50 ml) a prefiltrovala do kremennej skúmavky. Roztok bol zbavený plynov a fotolyzovaný v Raynotovom prístroji (λ = 350 nm) počas 48 hodín. Reakčná zmes sa skoncentrovala za vákuua a zvyšok sa čistil pomocou chromatografie (SiO₂, EtOAc/hexány 3:2), čím sa získala hnedo zafarbená tuhá látka 60b (289 mg, 20 %). R_f: 0,73 (acetón/hexány 3:7) ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,18 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 7,20 - 7,09 (m, 2H), 6,92 (d, 2H, J = 7,8 Hz), 6,86 (dd, 1H, J = 2,1, 7,2 Hz), 6,76 (s, 1H), 5,41 (d, 1H, J = 17,4 Hz), 4,23 - 4,18 (m, 2H), 4,00 (bs, 1H), 3,08 (s, 3H), 3,41 (dd, 1H, J = 12, 3,9 Hz), 3,01 - 2,86 (m, 1H), 1,9 - 1,62 (m, 4H), 1,52 (bd, 1H, J = 9,3 Hz), 1,36 - 1,07 (m, 5H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz, δ) 173,2, 167,2, 163,8, 156,5, 155,1, 135,8, 132,7, 130,2, 129,6, 126,2, 119,1, 117,5, 115,8, 60,2, 55,5, 51,6, 44,2, 42,0, 35,7, 30,2, 29,3, 26,5, 26,2, 25,8, 25,7 MS: (Elektro-rozprašovanie): 477 [(M+1)⁺, 100], 315 (20); HRMS vypočítané pre C₂₈H₃₃N₂O₅ (M+1)⁺: 477,2389; Nájdene 477,2375; CHN Vypočítané pre C₂₈H₃₂N₂O₅ 0,5H₂O: C 69,26 %, H 6,85 % N 5,77 %; Nájdene: C 69,62 %, H 6,59 % N 5,77 %

Krok C



Na roztok metylesteru 60b (235 mg, 0,5 mmol) Tic-makrocyklu v dioxáne (10,0 ml), H₂O (10,0 ml), CH₃OH (50,0 ml) sa pôsobilo LiOH.H₂O (41 mg, 1,0 mmol, 2,0 ekvivalenty) a zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote 3 hodiny. Reakčná zmes sa okyslila (4 mol/l HCl v dioxáne). Reakčná zmes sa skoncentrovala za vákua a zostávajúca voda sa vymrazila a zmes sa lyofilizovala, čím sa získala bezfarebná tuhá látka 60c použitá na kopulácie.

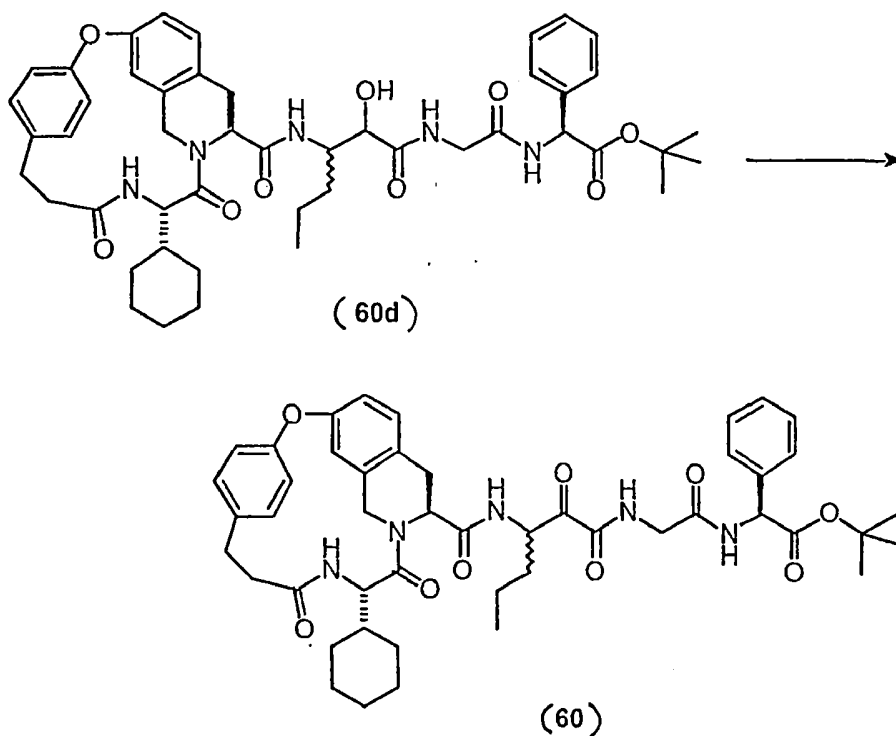
Krok D



Na roztok hydrolyzovanej kyseliny 60c (0,5 mmol) v suchom DMF (5,0 ml) a CH₂Cl₂ (5,0 ml) sa pôsobilo HOObt (132 mg, 0,75 mmol, 1,5 ekvivalentu), potom sa ochladil na 0 °C a pridala sa Hünigova zásada (258 mg, 2,0 mmol, 4,0 ekvivalenty, 369 µl). Do tejto zmesi sa pridala postupne EDCI (143 mg, 0,75 mmol, 1,5 ekvivalentu) a amín hydrochlorid B (214 mg, 0,5 mmol, 1,0 ekvivalent). Reakčná zmes sa uskladnila v mrazničke počas 48 hodín a skoncentrovala sa za vákua, čím sa odstránil DMF a CH₂Cl₂. Zvyšok sa zriedil vodným roztokom HCl (2 mol/l, 50 ml) a extrahoval sa s CH₂Cl₂ (3x 30 ml). Spojené organické vrstvy sa extrahovali vodným roztokom HCl (1 mol/l, 2x 50 ml), vodným roztokom NaOH (2 mol/l, 2x 30 ml), soľankou, vysušili sa (MgSO₄) a skoncentrovali sa za vákua. Zvyšok 60d (172

mg) sa oxidoval bez ďalšieho čistenia; MS: (Elektro-rozprašovanie): 838 $[(M+1)^+$, 50], 490 (100); HRMS vypočítané pre $C_{47}H_{60}N_5O_9$ $(M+1)^+$ 838,4391; Nájdené: 838,4398.

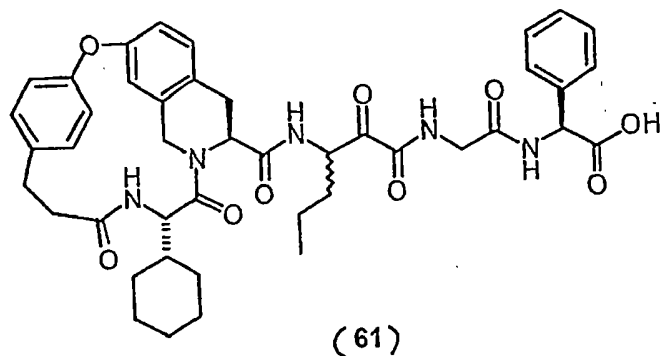
Krok E



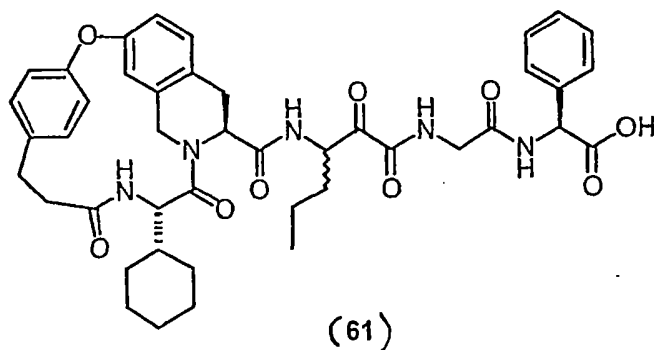
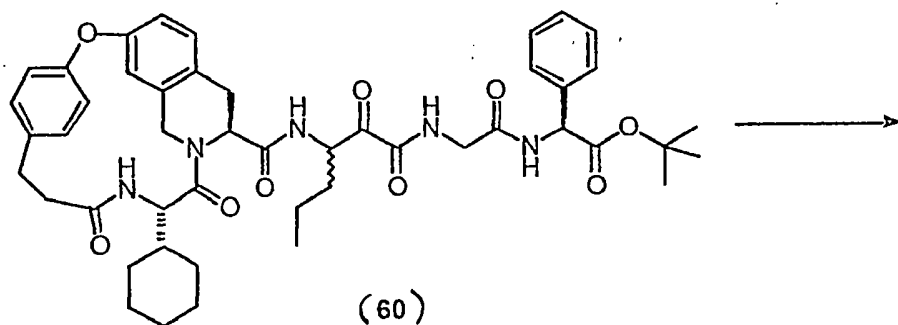
Na roztok alkoholu 60d (171 mg, 0,20 mmol) v CH_2Cl_2 (6,0 ml) sa pôsobilo Dess-Martinovým činidlom (175 mg, 0,41 mmol, 2,0 ekvivalenty). Reakčná zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote počas 4 hodín a zriedila vodným roztokom $NaHCO_3$ a vodným roztokom $Na_2S_2O_3$. Reakčná zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote počas 20 minút a reakčná zmes sa extrahovala CH_2Cl_2 (3x 30 ml). Spojené organické vrstvy sa extrahovali vodným roztokom Na_2CO_3 , vysušili sa (Na_2SO_4), prefiltrovali, skoncentrovali sa za vákua a zvyšok sa čistil pomocou chromatografie (SiO_2 , CH_3OH (2 mol/l NH_3)/ CH_2Cl_2 1:20), čím sa získal ketoamid 60 (56 mg, 32 %) ako bezfarebná tuhá látka. R_f : 0,35 (CH_3OH (2 mol/l NH_3)/ CH_2Cl_2 1:18) MS: (Elektro-rozprašovanie, m/z relatívna intenzita): 836 ($[M+1]^+$, 90), 490 (100). HRMS vypočítané pre $C_{47}H_{58}N_5O_9$ $(M+1)^+$ 836,4235; Nájdené: 836,4269,

Príklad 61

Príprava zlúčeniny 61



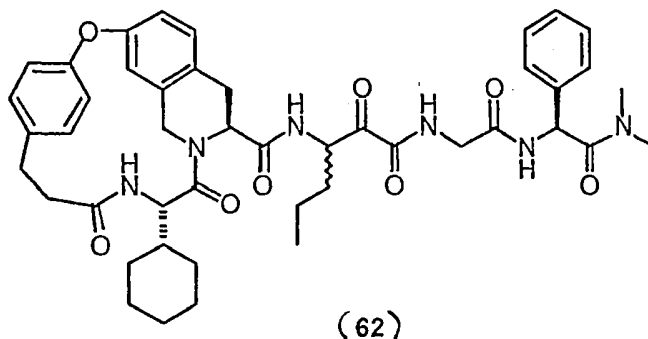
Krok A



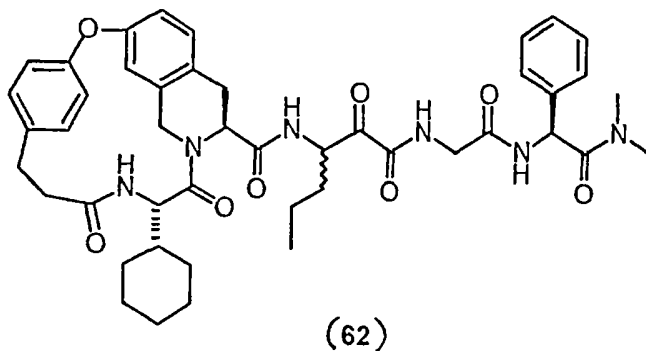
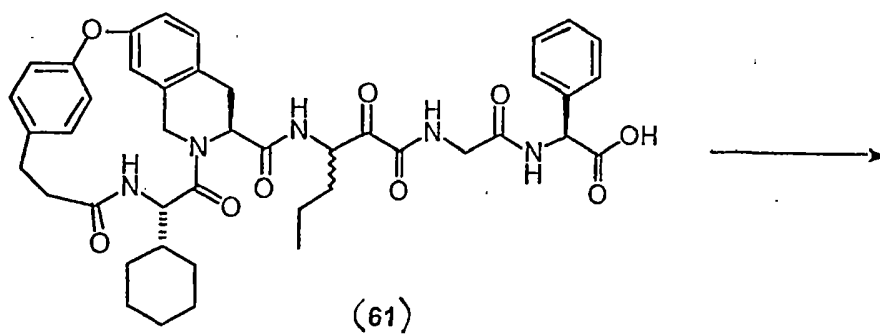
Na roztok *tert*-butyl-esteru 60 (50 mg, 0,059 mmol) v suchom CH₂Cl₂ (10,0 ml) sa pôsobilo TFA (10,0 ml) a zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote 4 hodiny. Vymiznutie esteru na základnú líniu sa sledovalo pomocou TLC (CH₃OH/CH₂Cl₂, 1:19). Reakčná zmes sa skoncentrovala za vákua a zvyšok sa opakovane rozpustil v heptánoch/CH₂Cl₂ a skoncentroval sa za vákua niekoľkokrát, čím sa získal jemná bezfarebná tuhá látka 61 (51 mg), ktorá sa vysušila za vákua.; MS (FAB) 780 [(M+1)⁺, 85], 516 (20), 417 (20), 403 (100); 321 (20), 248 (40), 236 (40); HRMS vypočítané pre C₄₃H₅₀N₅O₉ (M+1)⁺: 780,3609; nájdené 780,3618.

Príklad 62

Príprava zlúčeniny 62



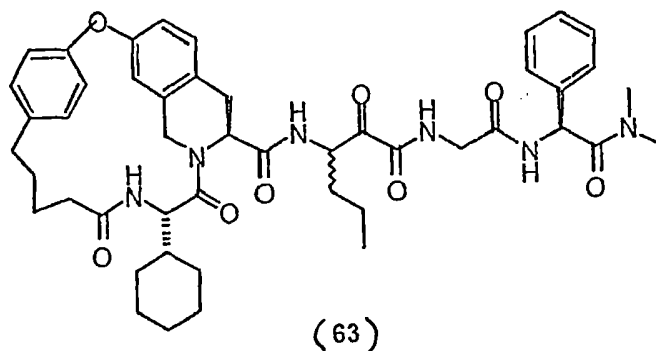
Krok A



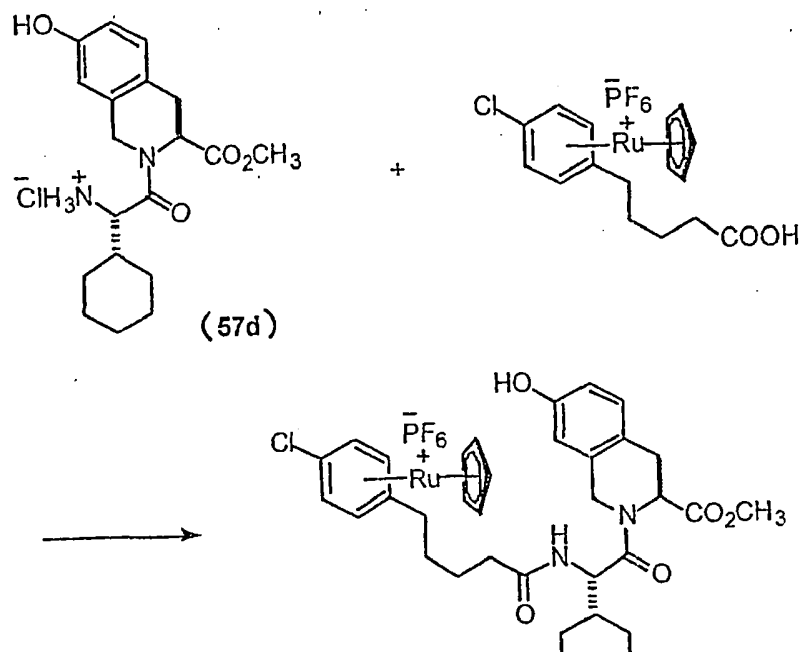
Na roztok kyseliny 61 (30 mg, 0,038 mmol), dimetylamín hydrochloridu (6,2 mg, 0,076 mmol, 2,0 ekvivalenty) v CH_2Cl_2 (1,0 ml) sa pôsobilo Hünigovou zásadou (9,1 mg, 0,076 mmol, 2,0 ekvivalenty, 15 μl), PyBrOP (35 mg, 0,076 mmol, 2,0 ekvivalenty) a zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote 24 hodín. Reakčná zmes sa skoncentrovala za vákua a čistila pomocou chromatografie (SiO_2 , zmesi acetón/hexány 1:1), čím sa získal dimetylamid 62 (14 mg, 46 %) ako bezfarebná tuhá látka; R_f (0,31 acetón/hexány 1:1). MS (FAB) 807 $[(M+1)^+, 100]$, 805 (60), 794 (60), 747 (40), 629 (40), 589 (62).

Príklad 63

Príprava zlúčeniny 63



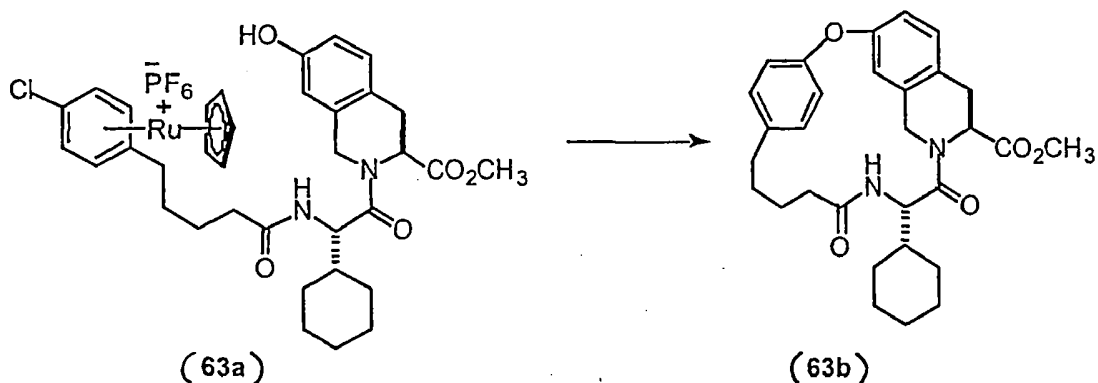
Krok A



Na roztok $[\text{CpRu}(\eta^6\text{-4-chlorofenylpentanová kyselina})]\text{PF}_6$ (2,2 g, 4,0 mmol) v suchom DMF (10 ml) sa pôsobilo HOBt (810 mg, 5,99 mmol, 1,5 ekvivalentu) a Hünigovou zásadou (2,58 g, 36 ml, 19,9 mmol, 5,0 ekvivalentov). Reakčná zmes sa ochladila na 0 °C a pôsobilo sa na ňu EDCI (1,14 g, 60 mmol, 1,5 ekvivalentu). Reakčná zmes sa premiešavala pri 0 °C 30 minút a pridala sa Tic-amóniová soľ 57d (1,60 g, 4,0 mmol, 1,0 ekvivalent). Reakčná zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote počas 12 a DMF sa oddestiloval za vákua. Zvyšok sa zriedil vodným roztokom HCl (1 mol/l, 100 ml) a extrahoval sa do CH_2Cl_2 (3x 100 ml). Spojené organické vrstvy sa extrahovali vodným roztokom NaHCO_3 (1x 40 ml),

soľankou (100 ml), vysušili sa (Na_2SO_4), prefiltrovali, skoncentrovali sa za vákua, čím sa získala hnedá tuhá látka 63a (2,41 g, 75 %), ktorá sa použila pri cyklizácii.

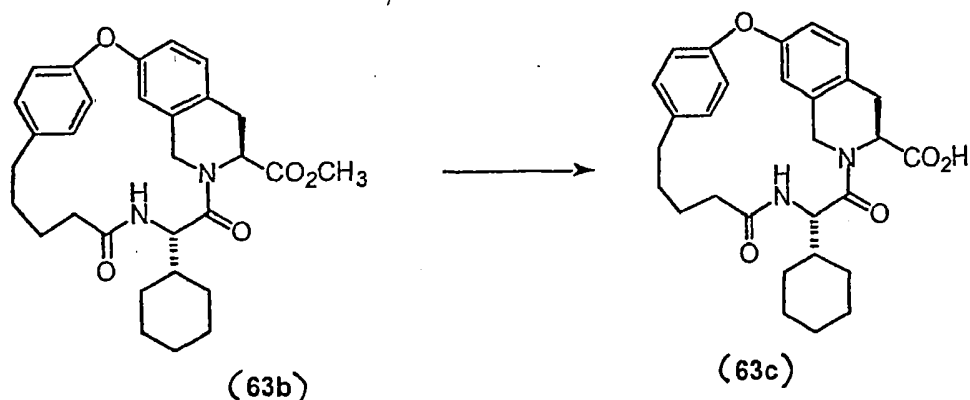
Krok B



Roztok komplexu ruténia 63a (2,40 g, 2,8 mmol) v suchom DMF (250 ml) bol zbavený plynov suchým N_2 pri laboratórnej teplote a pridal sa Cs_2CO_3 (4,6 g, 14,0 mmol, 5,0 ekvivalentov) a zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote počas 14 hodín. Rozpúšťadlo DMF sa oddestilovalo a zvyšok sa zriedil vodou (100 ml) a extrahoval sa s CH_2Cl_2 (3x 100 ml). Spojené organické vrstvy sa extrahovali, vodným roztokom HCl (1 mol/l, 100 ml), NaHCO_3 (100 ml), soľankou (100 ml) vysušili sa (Na_2SO_4), prefiltrovali, skoncentrovali sa za vákua a vysušili za vákua počas noci, čím sa získala hnedá tuhá látka (1,9 g, 79 %). Použila sa na fotolytické odstránenie Ru bez ďalšieho čistenia. MS: (Elektro-rozprašovanie): 671 $[(\text{M}-\text{PF}_6)^+]$, 40].

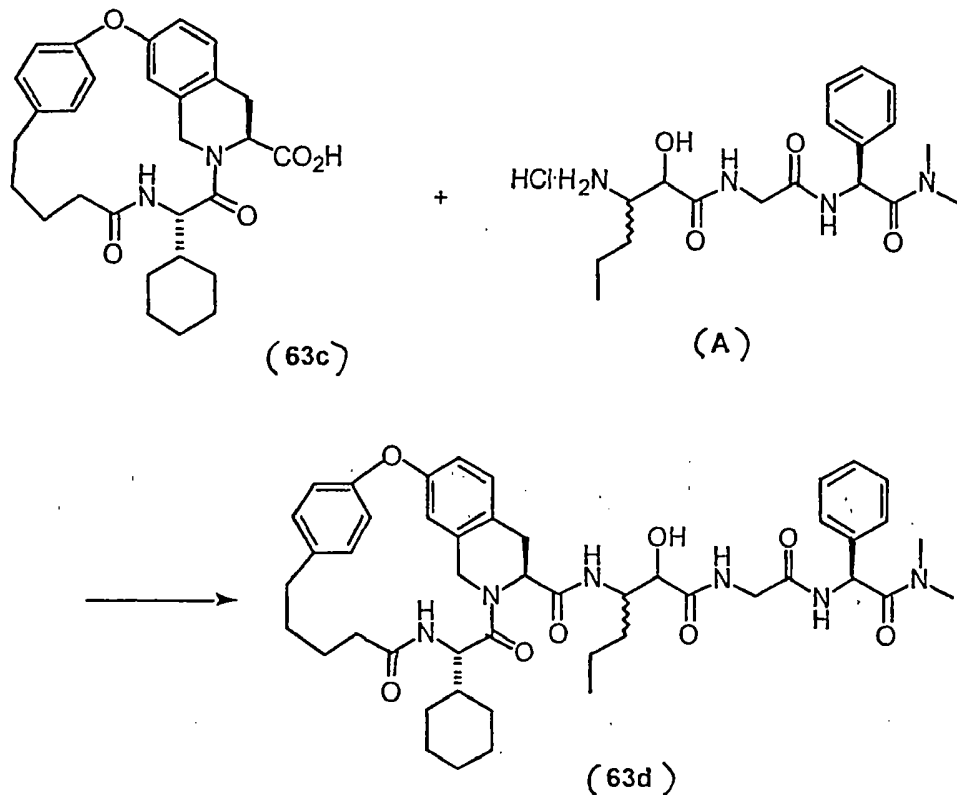
Cyklizovaná zlúčenina predchádzajúceho kroku sa rozpustila v CH_3CN (60 ml) a prefiltrovala sa do kremennej banky. Roztok bol zbavený plynov a fotolyzovaný v Raynotovom prístroji ($\lambda = 350 \text{ nm}$) počas 48 hodín. Reakčná zmes sa skoncentrovala za vákua a zvyšok sa čistil pomocou chromatografie (SiO_2 , acetón/hexány 3:7), čím sa získala hnedo zafarbená tuhá látka 63b (140 mg, 13 %); R_f : 0,73 (acetón/hexány 3:7); MS: (FAB): 505 $[(\text{M}+1)^+]$, 80), 232 (40); HRMS vypočítané pre $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_5$ $(\text{M}+1)^+$: 505,2702; Nájsené: 505,2698.

Krok C



Na roztok metylesteru 63b (235 mg, 0,5 mmol) Tic-makrocyklu v dioxáne (10,0 ml), H₂O (10,0 ml), CH₃OH (50,0 ml) sa pôsobilo LiOH.H₂O (41 mg, 1,0 mmol, 2,0 ekvivalenty) a zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote 3 hodiny. Reakčná zmes sa okyslila (4 mol/l HCl v dioxáne). Reakčná zmes sa skoncentrovala za vakuu a zostávajúca voda sa vymrazila a zmes sa lyofilizovala, čím sa získala bezfarebná tuhá látka 63c použitá na kopulácie.

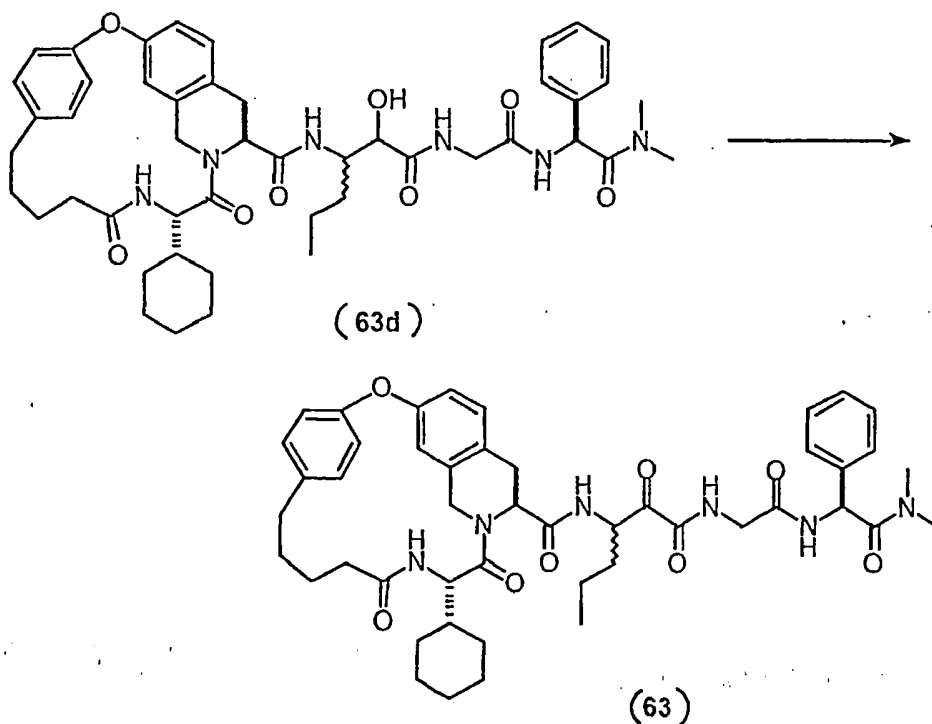
Krok D



Roztok hydrolyzovanej kyseliny 63c (100 mg, 0,21 mmol) v suchom DMF (4,0 ml) a CH₂Cl₂ (2,0 ml) sa ochladil na 0 °C a pôsobilo sa naň HOObt (53 mg,

0,32 mmol, 1,5 ekvivalentu), Hünigovou zásadou (122 mg, 0,95 mmol, 4,5 ekvivalentu, 175 μ l), EDCI (61,0 mg, 0,32 mmol, 1,5 ekvivalentu) a zmes sa premiešavala 0,5 hodiny, potom sa na ňu pôsobilo amín hydrochloridom A (100 mg, 0,25 mmol, 1 ekvivalent). Reakčná zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote počas 16 hodín a skoncentroval sa za vákua, čím sa odstránil DMF a CH_2Cl_2 . Zvyšok sa zriedil vodným roztokom HCl (2 mol/l, 50 ml) a extrahovala sa s CH_2Cl_2 (3x 50 ml). Spojené organické vrstvy sa extrahovali vodným roztokom HCl (1 mol/l, 100 ml), vodným NaOH (2 mol/l 100 ml), soľankou, vysušili sa (Na_2SO_4) a skoncentrovali sa za vákua. Zvyšok 63d (72 mg) sa oxidoval bez ďalšieho čistenia.

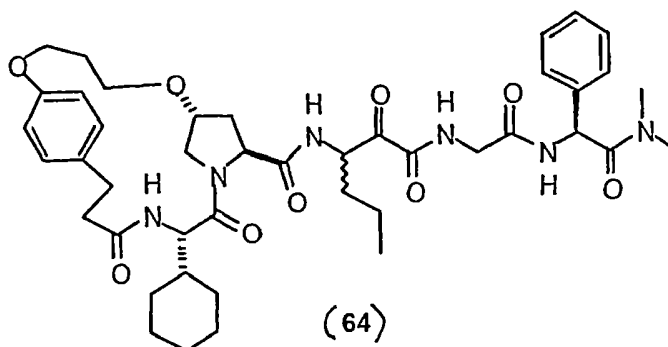
Krok E



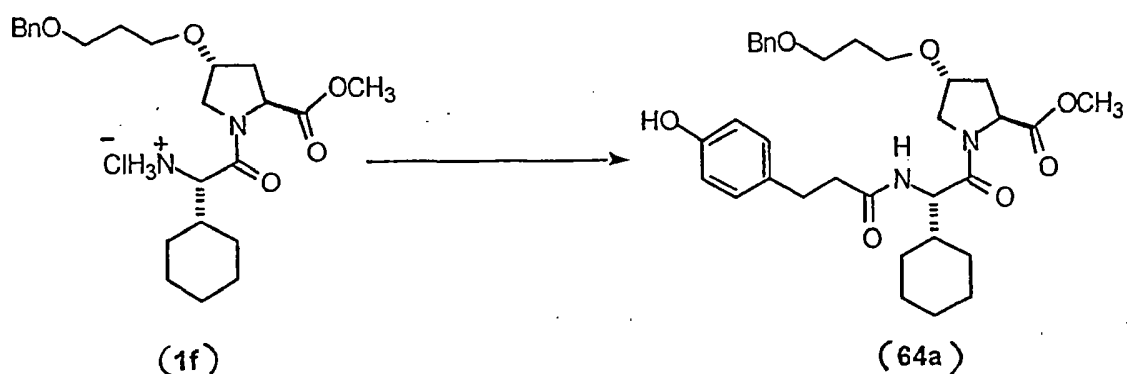
Na roztok alkoholu 63d (72 mg, 0,86 μ mol) v CH_2Cl_2 (5,0 ml) sa pôsobilo Dess-Martinovým činidlom (125 mg, 0,28 mmol, 3,2 ekvivalentov). Reakčná zmes sa premiešavala pri laboratórnej teplote počas 3 hodín a skoncentrovala sa za vákua a zvyšok bol čistený pomocou chromatografie (SiO_2 , $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 1:19), čím sa získal ketoamid 63 (11 mg, 15 %) ako bezfarebná tuhá látka; MS (FAB): 835 ($[\text{M}+1]^+$, 90), 490 (100).

Príklad 64

Príprava zlúčeniny 64

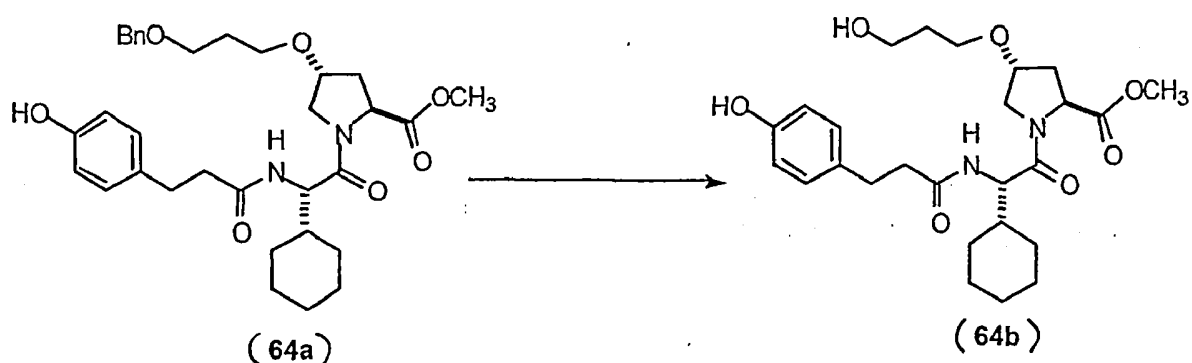


Krok A



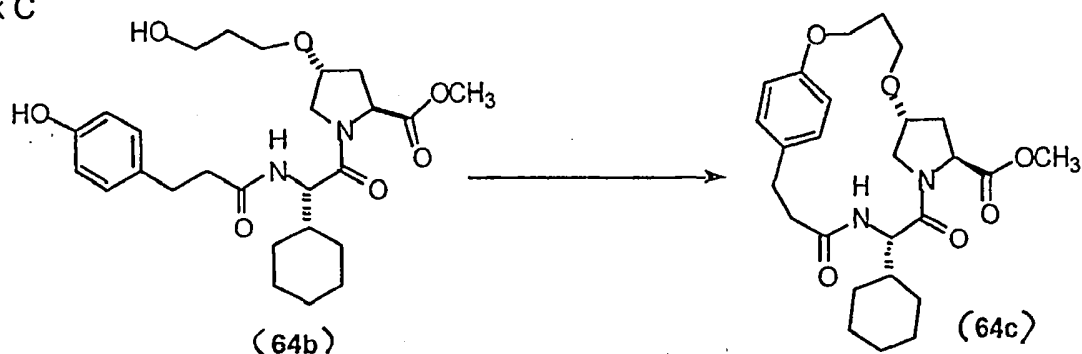
Požadovaný produkt 64a sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok F. Tento materiál sa čistil pomocou rýchlej kolónovej chromatografie použitím zmesi EtOAc/hexán (7:3), čím sa získal produkt 64a v 80 %; ^1H NMR (CDCl_3 , δ): 7,35 - 7,29 (m, 5H), 7,02 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 6,72 (d, 2H, $J = 6,9$ Hz) 6,01 (d, 1H), 4,60 (t, 1H), 4,52 (s, 1H), 3,8 - 3,61 (m, 2H), 3,72 (s, 3H), 3,54 - 3,51 (m, 4H), 2,83 (t, 2H, $J = 7,5$ Hz), 2,39 (t, 2H, $J = 8,1$ Hz) 2,41 - 2,20 (m, 1H), 2,05 - 1,83 (m, 1H), 1,85 - 1,58 (m, 8H), 1,26 - 1,24 (m, 5H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , δ): 172,2, 171,9, 171,0, 154,4, 138,3, 132,2, 129,4, 128,4, 127,7, 127,6, 115,4, 73,0, 66,9, 66,2, 57,9, 54,9, 52,5, 52,3, 41,0, 38,5, 34,7, 30,8, 30,0, 29,4, 27,9, 26,1, 26,0, 25,9.

Krok B



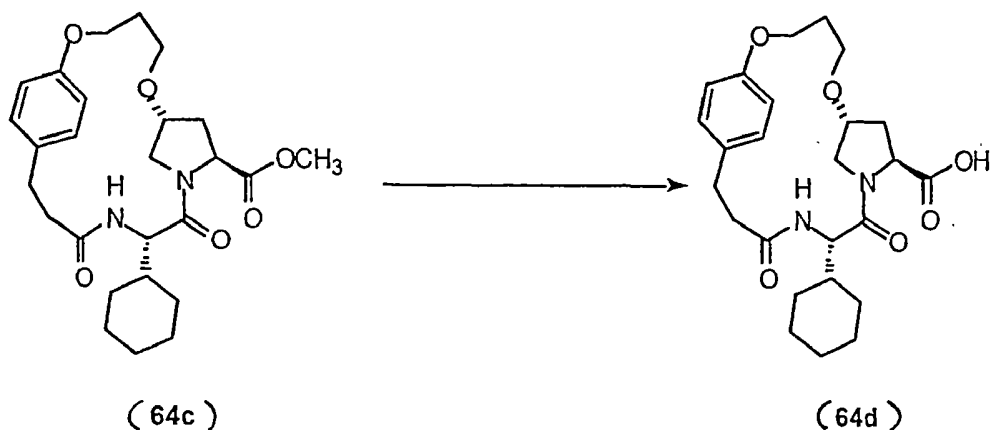
Požadovaný produkt 64b sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok G. Produkt získaný po odfiltrovaní katalyzátora bol dostatočne čistý v nasledujúcom kroku.

Krok C



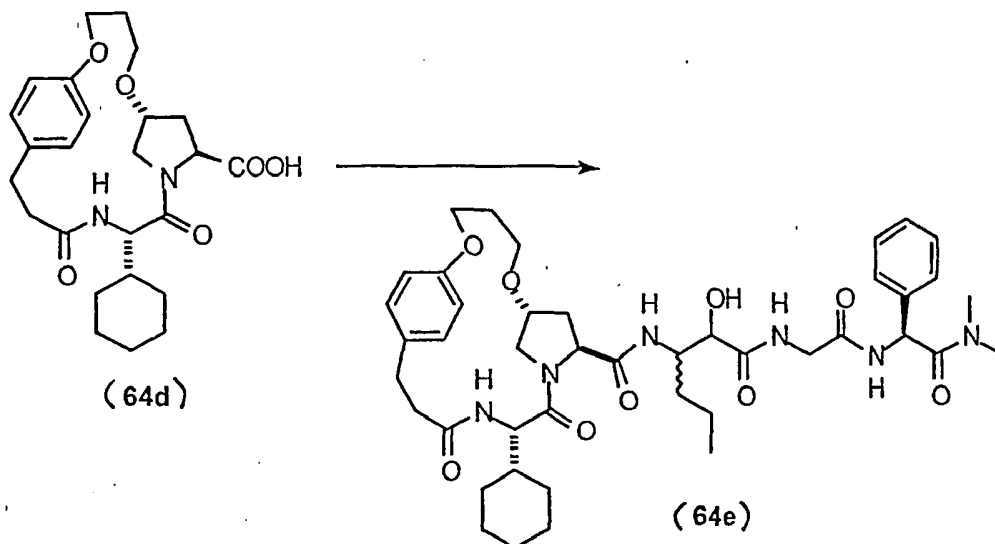
Požadovaný produkt 64c sa získal pomocou postupu opísaného v Príklade 1 Krok H. Surová reakčná zmes sa čistila pomocou SiO₂ gélovej chromatografie (acetón/hexány 3:7), čím sa získal produkt 64c (64 mg, 16 %) ako bezfarebná tuhá látka.; ¹³C NMR (CDCl₃) 172,1, 171,1, 171,0, 157,7, 131,0 129,9, 114,3, 78,1, 64,7, 63,3, 58,7, 55,3, 52,2, 52,0, 42,1, 37,9, 36,1, 30,8, 30,7, 29,7, 28,7, 28,5, 26,2, 26,0; MS (FAB) 473 (M+1)⁺, (100), 327 (20).

Krok D



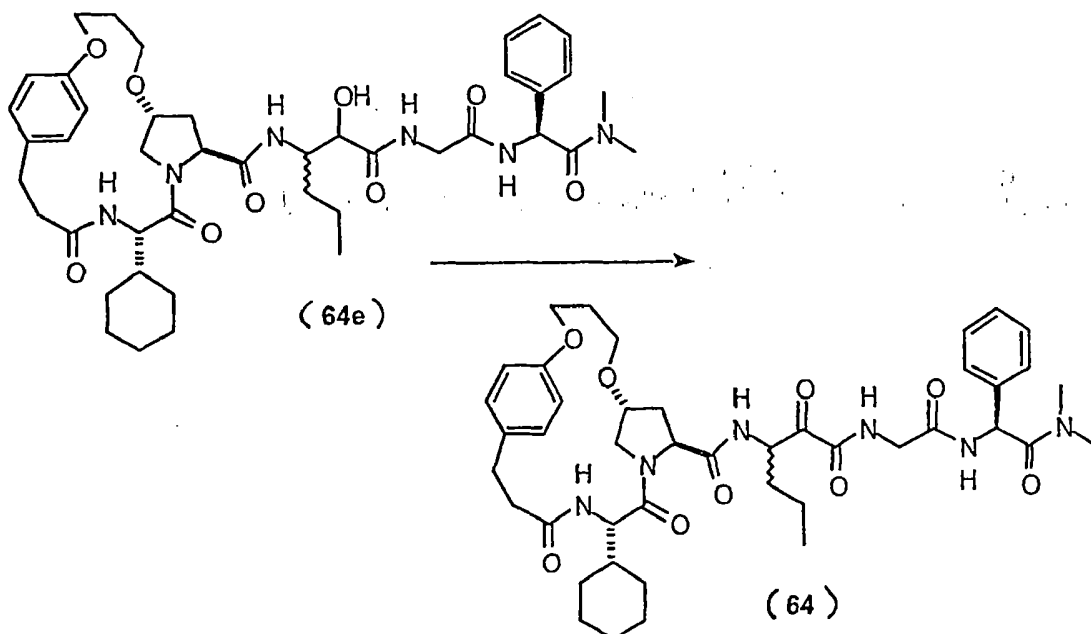
Kyselina sa syntetizovala tak, ako je opísané v Príklade 1 Krok I v kvantitatívnom výťažku. Surová zmes po odparení sa priamo použila v nasledujúcom kroku.

Krok E



Očakávaný produkt 64e sa syntetizoval tak, ako je opísané skôr v Príklade 1 Krok J. Kopulovaný materiál sa použil priamo v nasledujúcom kroku, čím sa syntetizoval produkt 64.

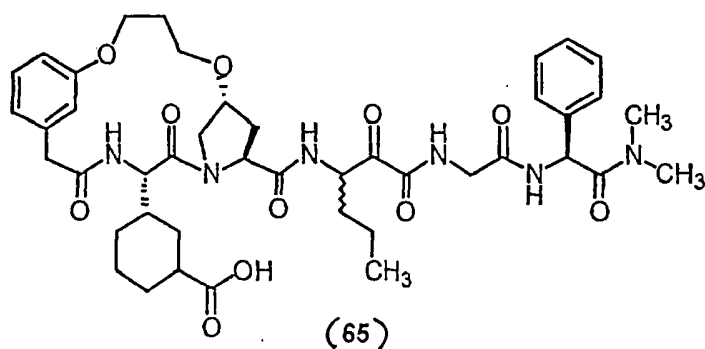
Krok F



Požadovaný produkt sa získal pomocou oxidačného postupu opísaného skôr v Príklade 1 Krok K.

Príklad 65

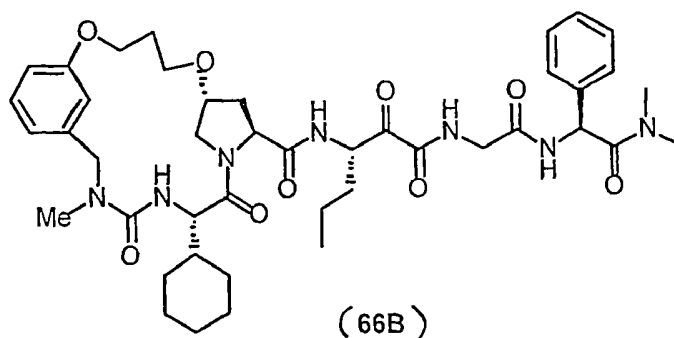
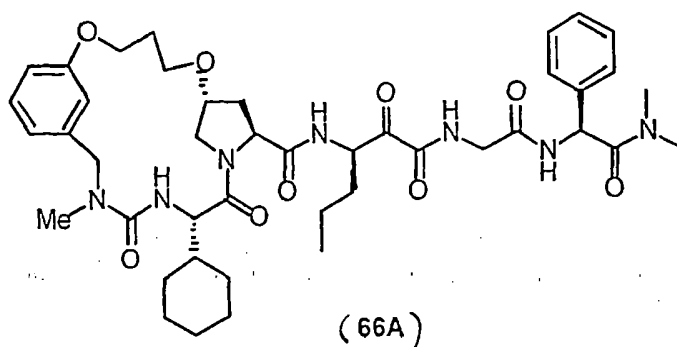
Príprava zlúčeniny 65



Syntéza z Příkladu 65 bol identická ako syntéza z Příkladu 14 s výnimkou toho, že syntéza bola iniciovaná s kyselinou 3-vinylbenzoovou. Redukcia fenylovej skupiny bola podobná ako v Příkladu 14 Krok C. Získala sa však zmes diastereomérov.

Príklad 66

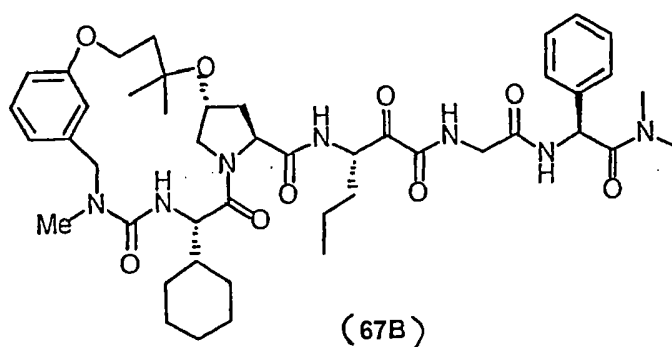
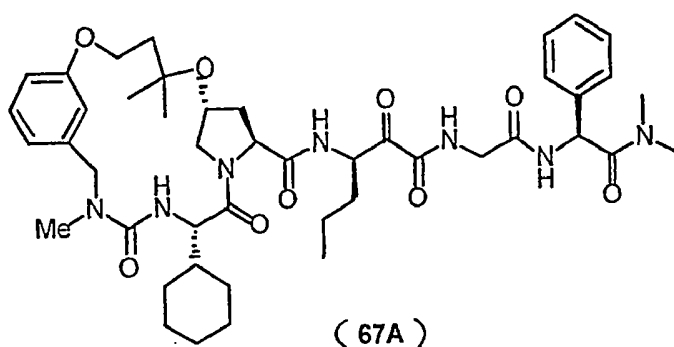
Príprava zlúčeniny vzorca 66A a 66B



Postup syntézy Príkladu 66 sa robil tak, ako je opísané v Príklade 54, použitím vhodných východiskových materiálov s príslušnými modifikáciami. Izoméry 66A a 66B sa oddelili po oxidácii použitím kolónovej chromatografie. LCMS údaje: 818,2 (M+H)⁺ (počas 66A a 66B).

Príklad 67

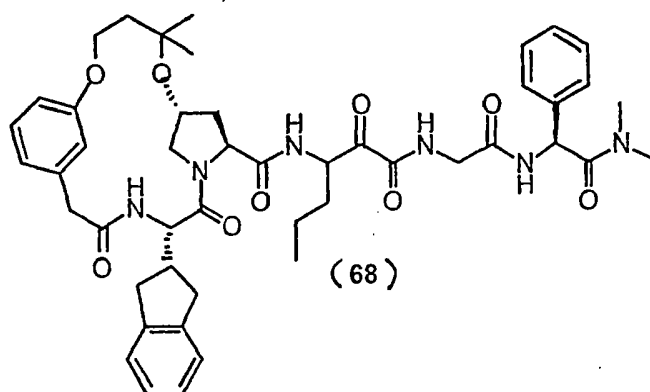
Príprava zlúčeniny vzorca 67A a 67B



Postup syntézy Príkladu 67 sa robil tak, ako je opísané v Príklade 54, použitím vhodných východiskových materiálov s príslušnými modifikáciami. Izoméry 67A a 67B sa oddelili po oxidácii použitím kolónovej chromatografie. HRMS (FAB) vypočítané pre C₄₅H₆₄N₇O₉: 846,4766 (M+H)⁺. Nájdené: 846,4782 (pre 67A) a 846,4774 (pre 67B).

Príklad 68

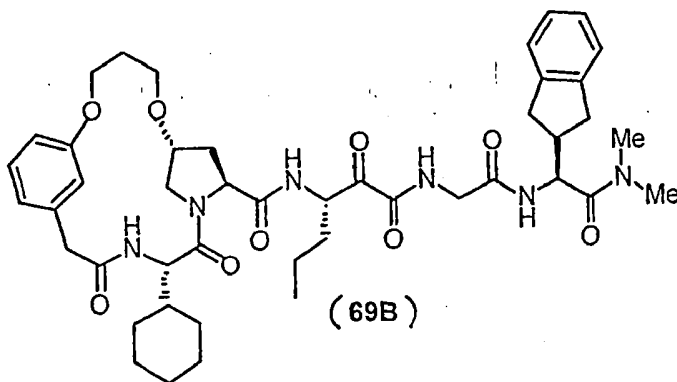
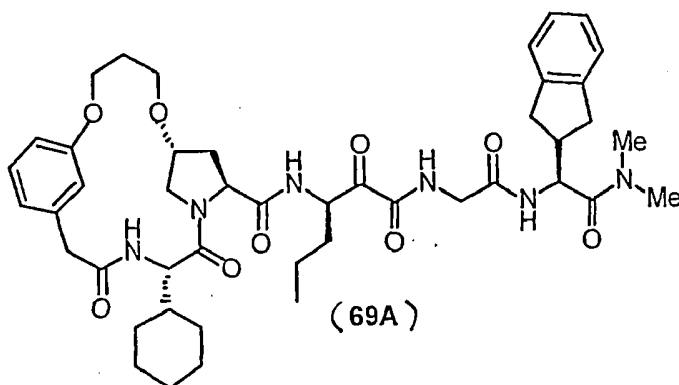
Príprava zlúčeniny vzorca 68



Postup syntézy Príkladu 68 sa robil tak, ako je opísané v Príklade 30, použitím vhodných východiskových materiálov a príslušných modifikácií. Po oxidácii sa požadovaný produkt 68 získal ako zmes izomérov použitím kolónovej chromatografie. HRMS (FAB) vypočítané pre $C_{47}H_{59}N_6O_9$: 851,4344 ($M+H$)⁺. Nájdené: 851,4149.

Príklad 69

Príprava zlúčeniny vzorca 69A a 69B

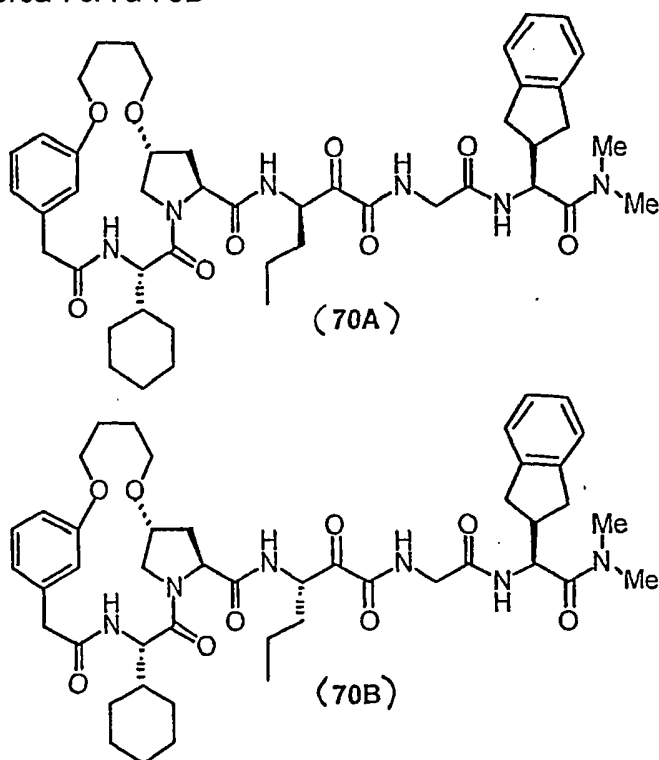


Postup syntézy Príkladu 69 sa robil tak, ako je opísané v Príklade 1,, použitím vhodných východiskových materiálov a príslušných modifikácií. Po oxidácii

sa izoméry 69A a 69B oddelili použitím kolónovej chromatografie. LCMS údajov: 829,2 (M+H)⁺ (pre 69A a 69B).

Príklad 70

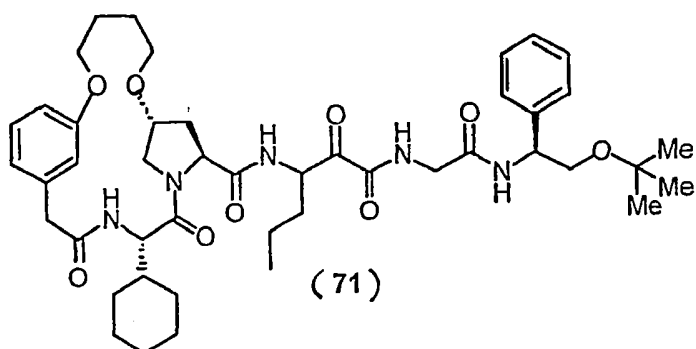
Príprava zlúčenín vzorca 70A a 70B



Postup syntézy Príkladu 70 sa robil tak, ako je opísané v Príklade 4, použitím vhodných východiskových materiálov a príslušných modifikácií. Po oxidácii sa izoméry 70A a 70B oddelili použitím kolónovej chromatografie. LCMS údaje: 843,2 (M+H)⁺ (pre 70A a 70B).

Príklad 71

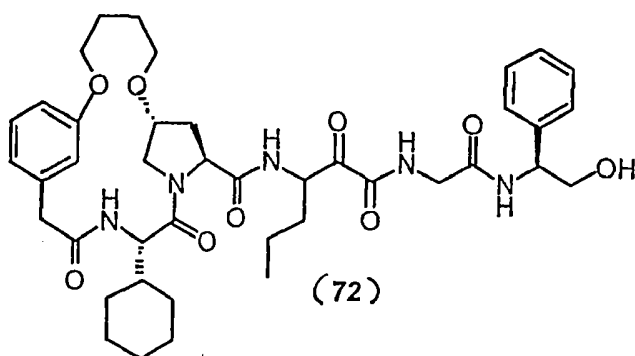
Príprava zlúčenín vzorca 71



Postup syntézy Príkladu 71 sa robil tak, ako je opísané v Príklade 5, použitím vhodných východiskových materiálov a príslušných modifikácií. Po oxidácii sa požadovaný produkt 71 získal ako zmes izomérov použitím kolónovej chromatografie. LCMS údaje: 818,2 (M+H)⁺.

Príklad 72

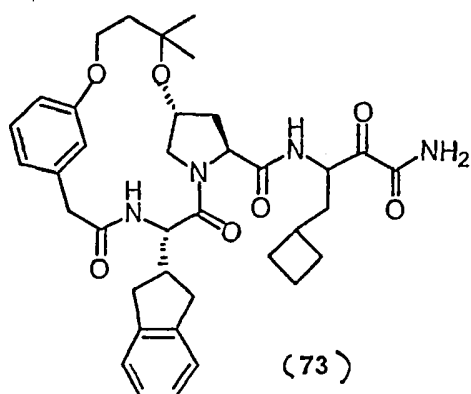
Príprava zlúčeniny vzorca 72



Postup syntézy Príkladu 72 sa robil tak, ako je opísané v Príklade 6, použitím vhodných východiskových materiálov a príslušných modifikácií. Po oxidácii sa požadovaný produkt 72 získal ako zmes izomérov použitím kolónovej chromatografie. LCMS údaje: 762,2 (M+H)⁺.

Príklad 73

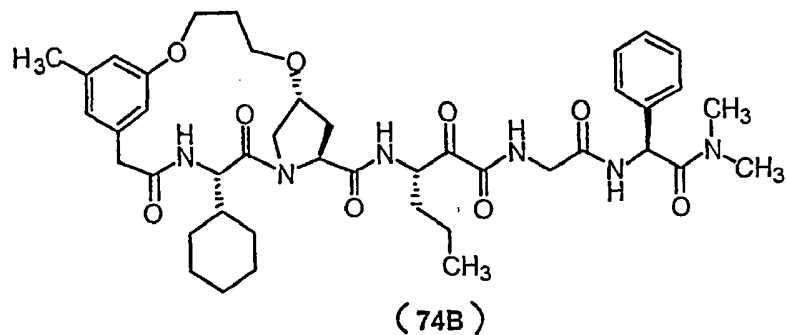
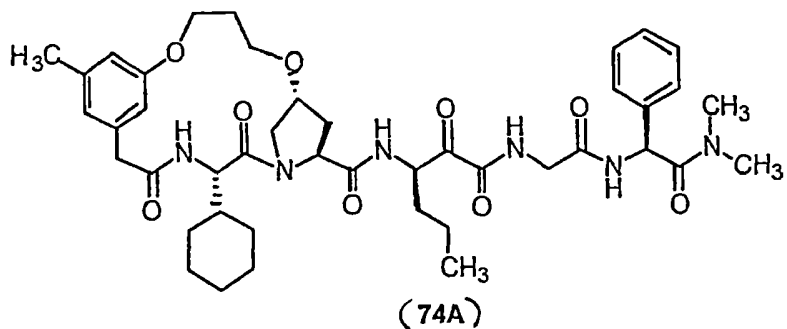
Príprava zlúčeniny vzorca 73



Postup syntézy Príkladu 73 sa robil tak, ako je opísané v Príklade 10, použitím vhodných východiskových materiálov a príslušných modifikácií. Po oxidácii sa požadovaný produkt 73 získal ako zmes izomérov použitím kolónovej chromatografie. LCMS údaje: 659,2 (M+H)⁺.

Príklad 74

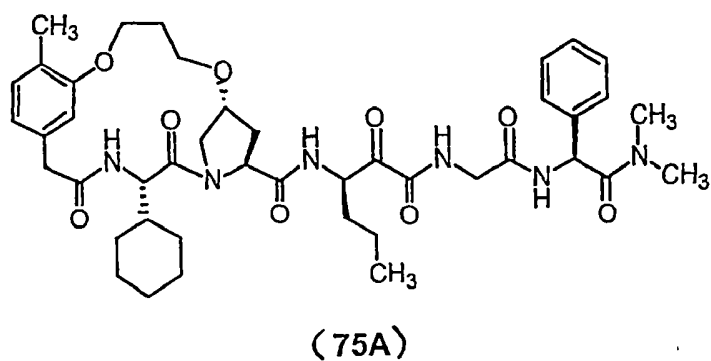
Príprava zlúčeniny 74A a 74B

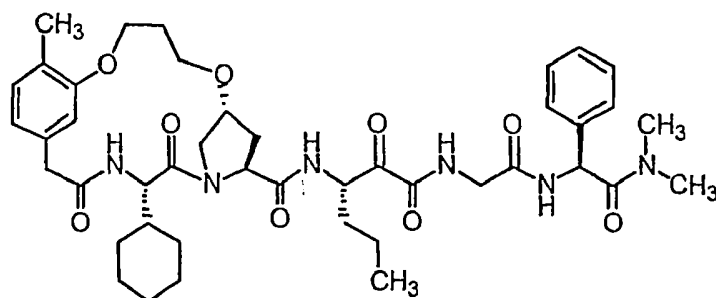


Požadované zlúčeniny 74A a 74B sa pripravili rovnakým spôsobom, ako je opísané v príprave zlúčeniny 1A a 1B v Príklade 1, s výnimkou toho, že sa 5-metyl-3-hydroxy-fenylactová kyselina použila namiesto 3-hydroxy-fenylactovej kyseliny v Kroku F. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 803,1 [vypočítané pre C₄₃H₅₈N₆O₉, 802,4].

Príklad 75

Príprava zlúčeniny 75A a 75B



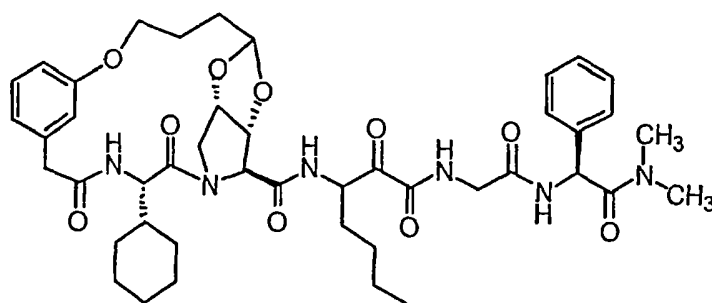


(75B)

Požadované zlúčeniny 75A a 75B sa pripravili rovnakým spôsobom, ako je opísané v príprave zlúčeniny 1A a 1B v Príklade 1, s výnimkou toho, že 4-metyl-3-hydroxy-fenylactová kyselina sa použila namiesto 3-hydroxy-fenylactovej kyseliny v Kroku F. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 803,1 [vypočítané pre C₄₃H₅₈N₆O₉, 802,4].

Príklad 76

Príprava zlúčeniny 76

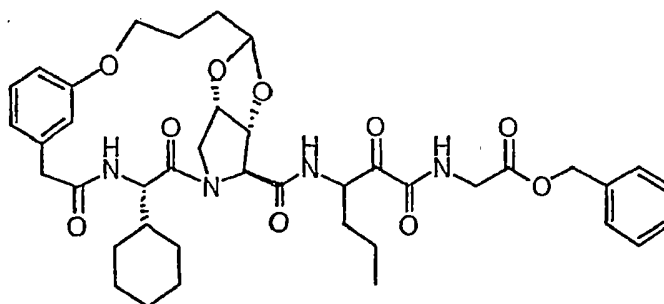


(76)

Požadovaná zlúčenina 76 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 27A a 27B v Príklade 27, s výnimkou toho, že sa amín E použil namiesto amínu A v Kroku J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 831,1 [vypočítané pre C₄₄H₅₈N₆O₁₀, 830,4].

Príklad 77

Príprava zlúčeniny 77

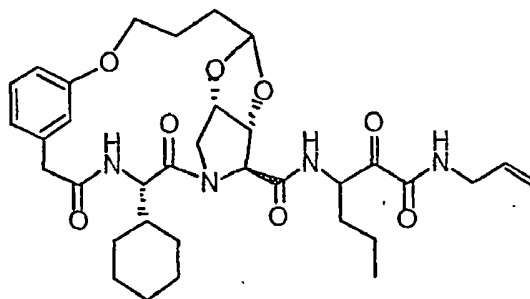


(77)

Požadovaná zlúčenina 77 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 27A a 27B v Príklade 27, s výnimkou toho, že sa použil iný amínový medziprodukt namiesto amínu A v Kroku J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 761,1 [vypočítané pre C₄₁H₅₂N₄O₁₀, 760,4].

Príklad 78

Príprava zlúčeniny 78

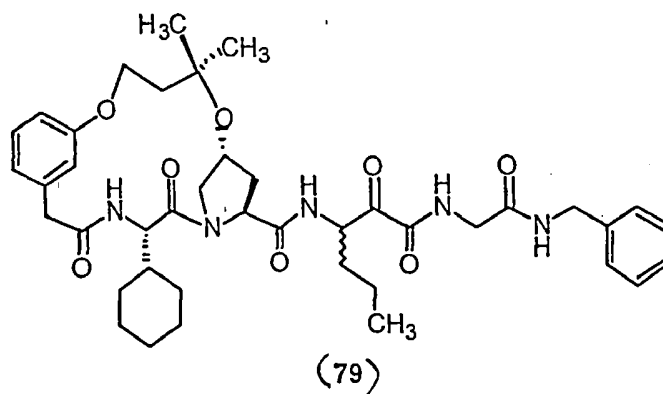


(78)

Požadovaná zlúčenina 78 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 27A a 27B v Príklade 27, s výnimkou toho, že sa použil iný amínový medziprodukt namiesto amínu A v Kroku J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 653,1 [vypočítané pre C₃₅H₄₈N₄O₈, 652,4].

Príklad 79

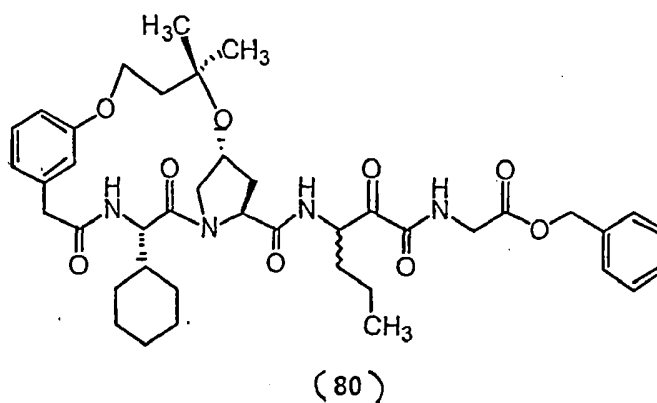
Príprava zlúčeniny 79



Požadovaná zlúčenina 79 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 v Príklade 30, s výnimkou toho, že sa použil iný amínový medziprodukt namiesto amínu A v Kroku I. LRMS (M+H)⁺ m/z 746,1 [vypočítané pre C₄₁H₅₅N₅O₈, 745,4].

Príklad 80

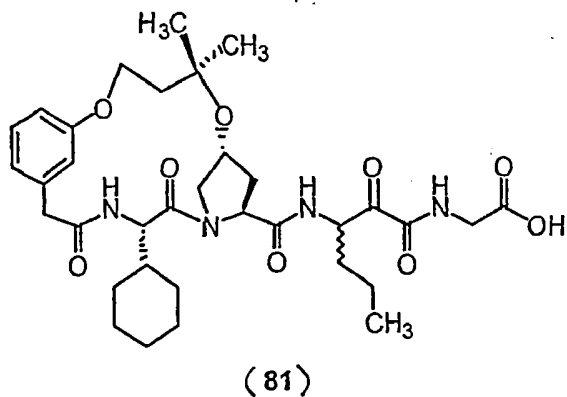
Príprava zlúčeniny 80



Požadovaná zlúčenina 80 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 v Príklade 30, s výnimkou toho, že sa použil amín D namiesto amínu A v Kroku I. LRMS (M+H)⁺ m/z 746,1 [vypočítané pre C₄₁H₅₅N₅O₈, 745,4].

Príklad 81

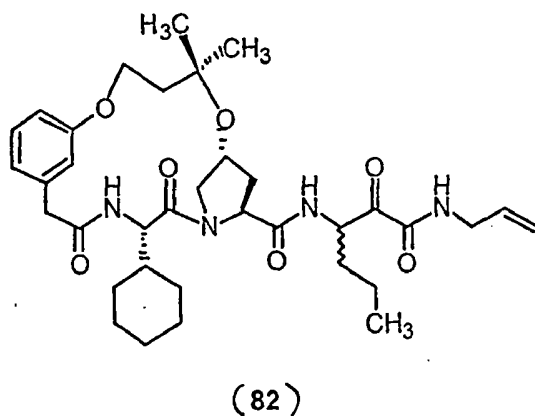
Príprava zlúčeniny 81



Požadovaná zlúčenina 81 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave medziproduktu A Krok 5, LRMS (M+H)⁺ *m/z* 657,1 [vypočítané pre C₃₄H₄₈N₄O₉, 656,3].

Príklad 82

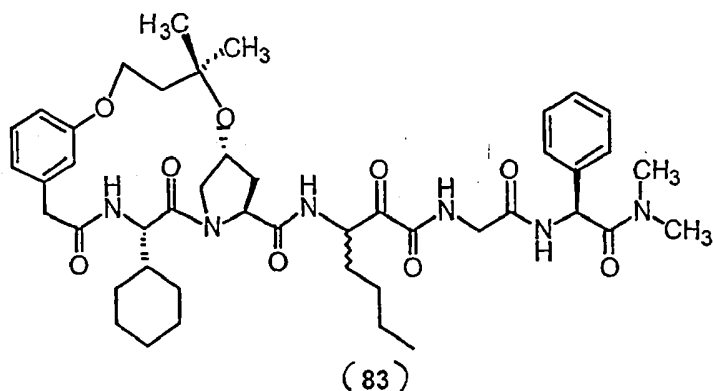
Príprava zlúčeniny 82



Požadovaná zlúčenina 82 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 v Príklade 30, s výnimkou toho, že sa použil iný amín namiesto amínu A v Kroku I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 639,1 [vypočítané pre C₃₅H₅₀N₄O₇, 638,4].

Príklad 83

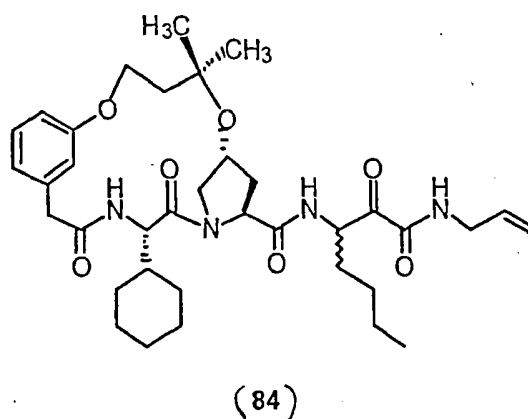
Príprava zlúčeniny 83



Požadovaná zlúčenina 83 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 v Príklade 30, s výnimkou toho, že sa amín E použil namiesto amínu A v Kroku I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 831,1 [vypočítané pre C₄₅H₅₂N₆O₉, 830,5].

Príklad 84

Príprava zlúčeniny 84

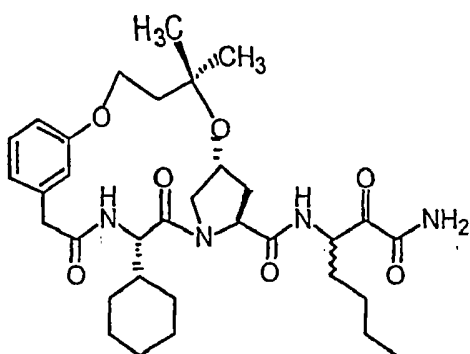


Požadovaná zlúčenina 84 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 v Príklade 30, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A v Kroku I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 653,1 [vypočítané pre C₃₆H₅₂N₄O₇, 652,4].

Príklad 85

Príprava zlúčeniny 85

- 287 -

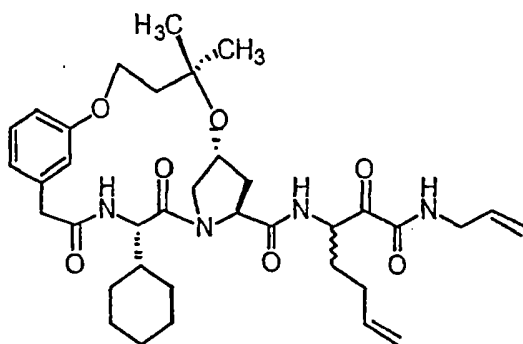


(85)

Požadovaná zlúčenina 85 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 v Príklade 30, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A v Kroku I, a že sa oxidácia uskutočnila podľa postupu v Príklade 10 Krok J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 613,1 [vypočítané pre C₃₃H₄₈N₄O₇, 612,4].

Príklad 86

Príprava zlúčeniny 86

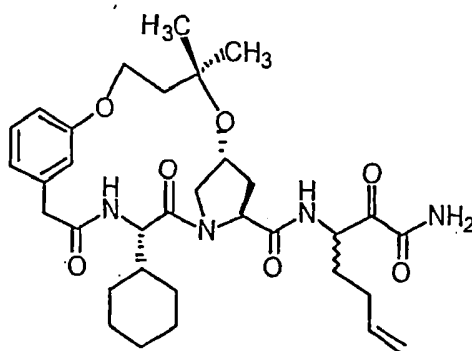


(86)

Požadovaná zlúčenina 86 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 v Príklade 30, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A v Kroku I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 651,1 [vypočítané pre C₃₆H₅₀N₄O₇, 650,4].

Príklad 87

Príprava zlúčeniny 87

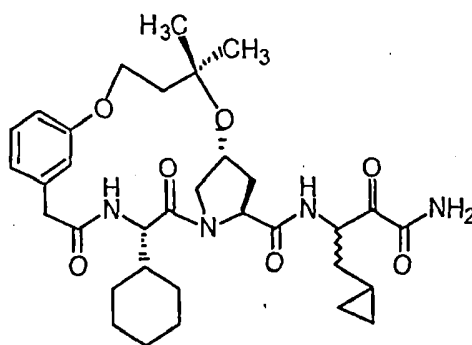


(87)

Požadovaná zlúčenina 87 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 v Príklade 30, S výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A v Kroku I, a že sa oxidácia uskutočnila podľa postupu v Príklade 10 Krok J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 611,1 [vypočítané pre C₃₃H₄₆N₄O₇, 610,3].

Príklad 88

Príprava zlúčeniny 88

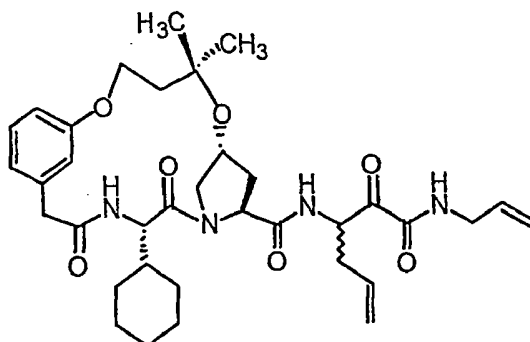


(88)

Požadovaná zlúčenina 88 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 v Príklade 30, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A v Kroku I, a že sa oxidácia uskutočnila podľa postupu v Príklade 10 Krok J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 611,1 [vypočítané pre C₃₃H₄₆N₄O₇, 610,3].

Príklad 89

Prípravok zlúčeniny 89

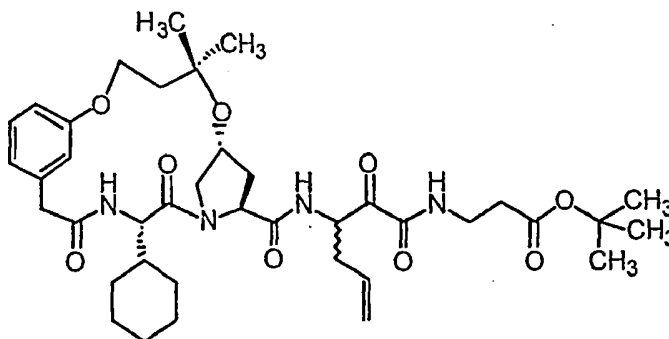


(89)

Požadovaná zlúčenina 88 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 v Príklade 30, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A v Kroku I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 637,1 [vypočítané pre C₃₅H₄₈N₄O₇, 636,4].

Príklad 90

Príprava zlúčeniny 90

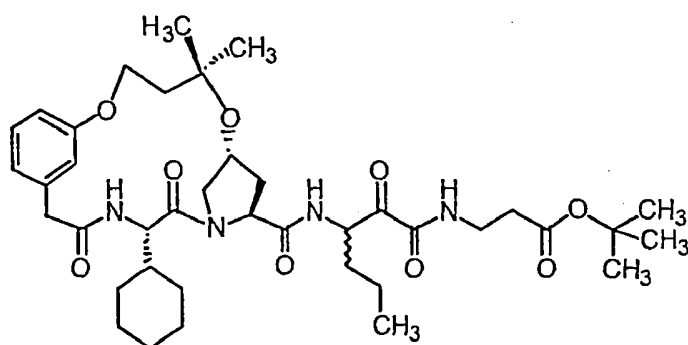


(90)

Požadovaná zlúčenina 90 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 v Príklade 30, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A v Kroku I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 725,1 [vypočítané pre C₃₉H₅₆N₄O₉, 724,4].

Príklad 91

Príprava zlúčeniny 91

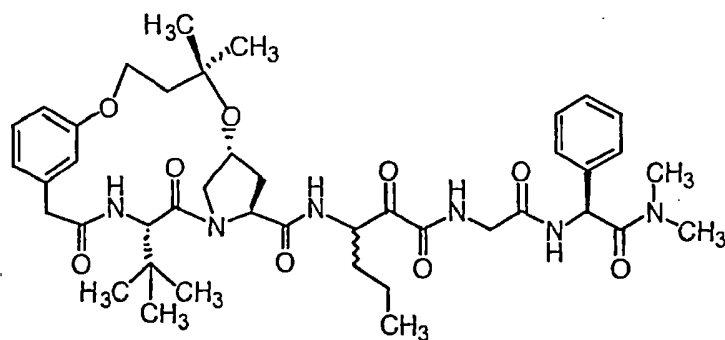


(91)

Požadovaná zlúčenina 91 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 v Príklade 30, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A v Kroku I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 727,1 [vypočítané pre C₃₉H₅₈N₄O₉, 726,4].

Príklad 92

Príprava zlúčeniny 92

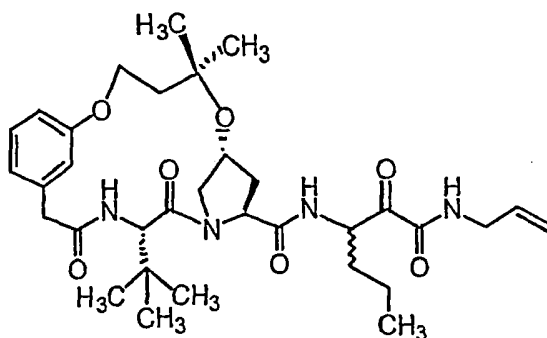


(92)

Požadovaná zlúčenina 92 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 Príklad 30, s výnimkou toho, že Boc-*tert*-butylglycín sa použil namiesto Boc-cyklohexylglycínu v Kroku C. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 791,1 [vypočítané pre C₄₂H₅₈N₈O₉, 790,4].

Príklad 93

Príprava zlúčeniny 93

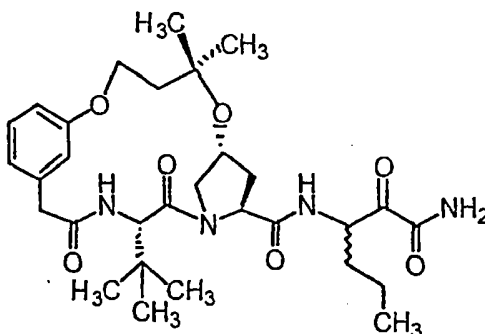


(93)

Požadovaná zlúčenina 93 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 92 v Príklade 92, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 613,1 [vypočítané pre C₃₃H₄₈N₄O₇, 612,4].

Príklad 94

Príprava zlúčeniny 94



(94)

Požadovaná zlúčenina 94 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 92 v Príklade 92, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A, a že sa oxidácia uskutočnila podľa postupu v Príklade 10 Krok J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 573,1 [vypočítané pre C₃₀H₄₄N₄O₇, 572,3].

Príklad 95

Príprava zlúčeniny 95



Požadovaná zlúčenina 95 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 Príklad 30, s výnimkou toho, že sa Boc-valín použil namiesto Boc-cyklohexylglycínu v Kroku C. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 777,1 [vypočítané pre C₄₁H₅₆N₆O₉, 776,4].

Príklad 96

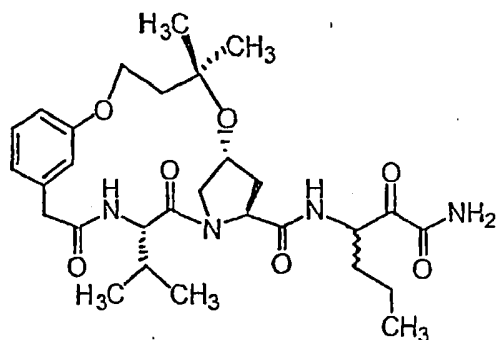
Príprava zlúčeniny 96



Požadovaná zlúčenina 96 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 95 v Príklade 95, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 599,1 [vypočítané pre C₃₂H₄₆N₄O₇, 598,3].

Príklad 97

Príprava zlúčeniny 97

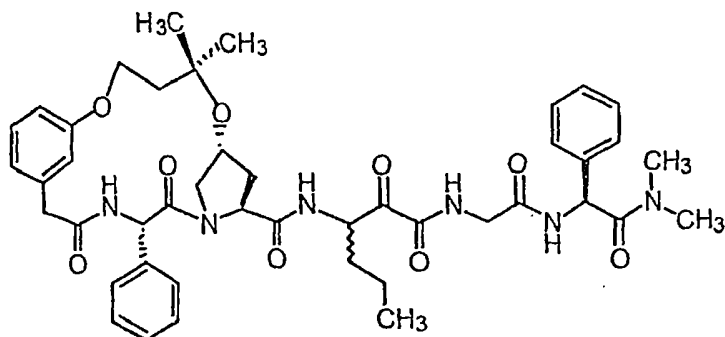


(97)

Požadovaná zlúčenina 97 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 95 v Príklade 95, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A, a že sa oxidácia uskutočnila podľa postupu v Príklade 10 Krok J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 559,1 [vypočítané pre C₂₉H₄₂N₄O₇, 558,3].

Príklad 98

Príprava zlúčeniny 98

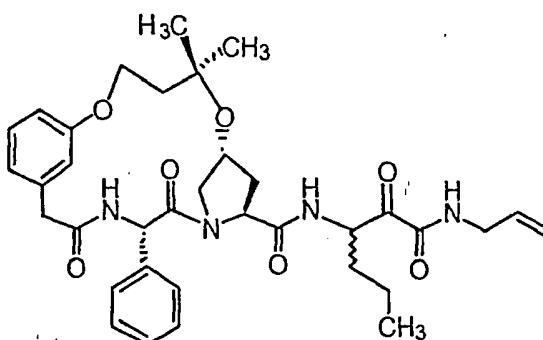


(98)

Požadovaná zlúčenina 98 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 Príklad 30, s výnimkou toho, že sa Boc-fenylglycín použil namiesto Boc-cyklohexylglycínu v Kroku C. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 811,1 (vypočítané pre C₄₄H₅₄N₆O₉, 810,4].

Príklad 99

Príprava zlúčeniny 99

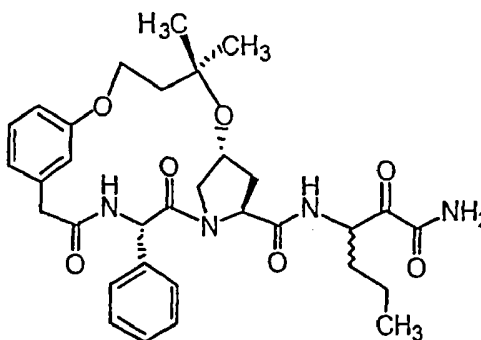


(99)

Požadovaná zlúčenina 99 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 98 v Príklade 98, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 633,1 [vypočítané pre C₃₅H₄₄N₄O₇, 632,3].

Príklad 100

Príprava zlúčeniny 100

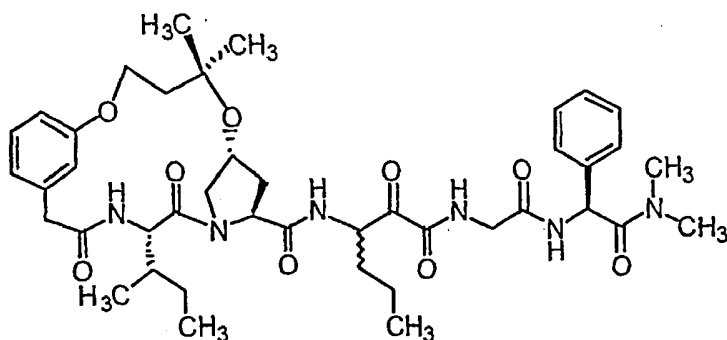


(100)

Požadovaná zlúčenina 100 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 98 v Príklade 98, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A, a že sa oxidácia uskutočnila podľa postupu v Príklade 10 Krok J, LRMS (M+H)⁺ *m/z* 593,1 [vypočítané pre C₃₅H₄₀N₄O₇, 592,3].

Príklad 101

Príprava zlúčeniny 101

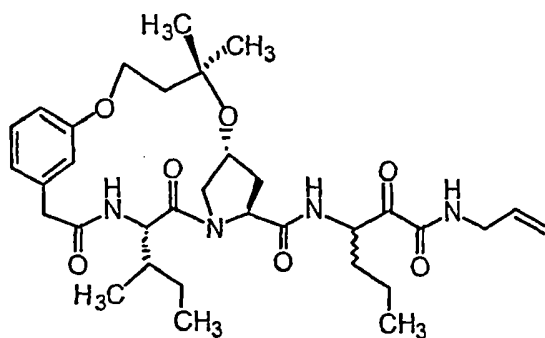


(101)

Požadovaná zlúčenina 101 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 Príklad 30, s výnimkou toho, že sa Boc-izoleucín použil namiesto Boc-cyklohexylglycínu v Kroku C. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 791,1 [vypočítané pre C₄₂H₅₆N₆O₉, 790,4].

Príklad 102

Príprava zlúčeniny 102

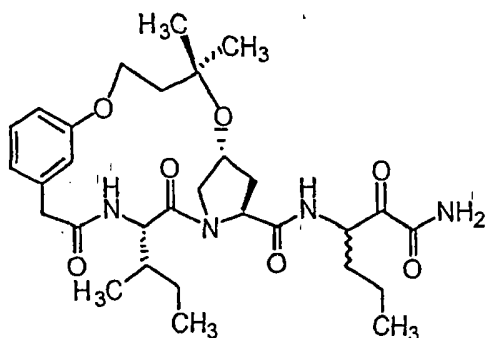


(102)

Požadovaná zlúčenina 102 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 101 v Príklade 101, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 613,1 [vypočítané pre C₃₃H₄₈N₄O₇, 612,4].

Príklad 103

Príprava zlúčeniny 103

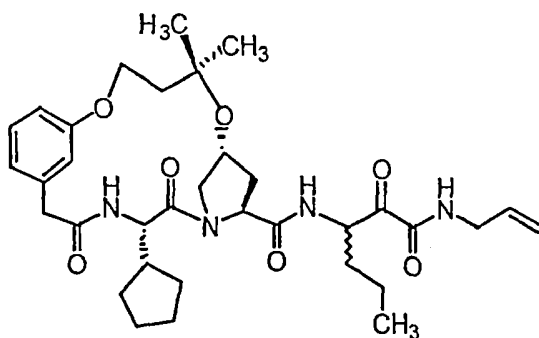


(103)

Požadovaná zlúčenina 103 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 101 v Príklade 101, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A, a že sa oxidácia uskutočnila podľa postupu v Príklade 10 Krok 4, LRMS (M+H)⁺ m/z 573,1 [vypočítané pre C₃₀H₄₄N₄O₇, 572,3].

Príklad 104

Príprava zlúčeniny 104

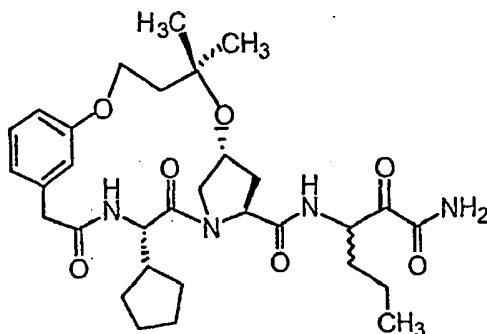


(104)

Požadovaná zlúčenina 104 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 Príklad 30, s výnimkou toho, že sa Boc-cyklopentylglycín použil namiesto Boc-cyklohexylglycínu v Kroku C, a že sa príslušný amín použil namiesto amínu A v Kroku I. LRMS (M+H)⁺ m/z 625,1 [vypočítané pre C₃₄H₄₈N₄O₇, 624,4].

Príklad 105

Príprava zlúčeniny 105

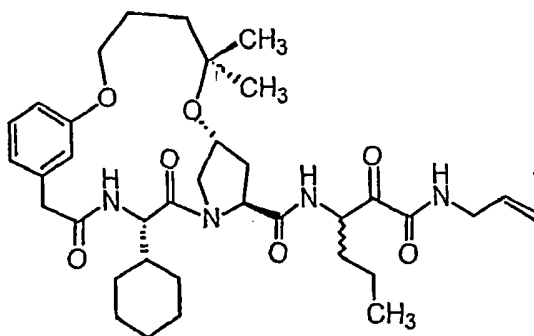


(105)

Požadovaná zlúčenina 105 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 104 v Príklade 104, s výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A, a že sa oxidácia uskutočnila podľa postupu v Príklade 10 Krok 4, LRMS (M+H)⁺ *m/z* 585,1 [vypočítané pre C₃₁H₄₄N₄O₇, 584,3].

Príklad 106

Príprava zlúčeniny 106

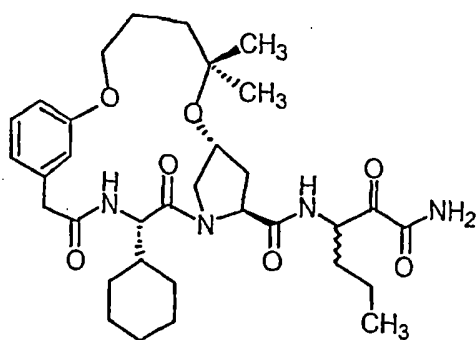


(106)

Požadovaná zlúčenina 106 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 30 Príklad 30 s nasledujúcimi výnimkami: (a) 5-benzyloxy-2-metyl-1-pentén sa použil namiesto 4-benzyloxy-2-metyl-1-buténu v Kroku A; (b) príslušný amín sa použil namiesto amínu A v Kroku I. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 653,1 [vypočítané pre C₃₆H₅₂N₄O₇, 652,4].

Príklad 107

Príprava zlúčeniny 107

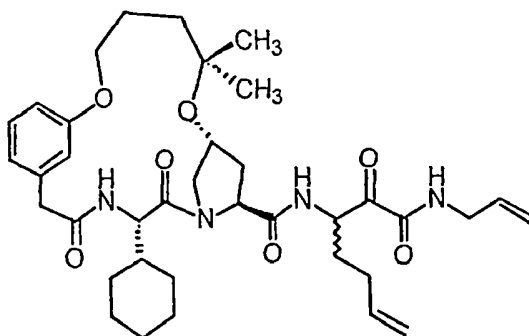


(107)

Požadovaná zlúčenina 107 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 106 v Príklade i06, S výnimkou toho, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A v Kroku I, a že sa oxidácia uskutočnila podľa postupu v Príklade 10 Krok 3, LRMS (M+H)⁺ m/z 613,1 [vypočítané pre C₃₃H₄₈N₄O₇, 612,4].

Príklad 108

Príprava zlúčeniny 108

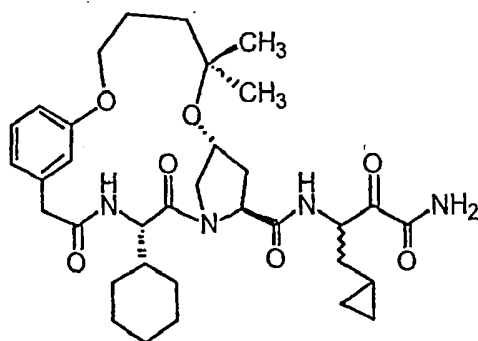


(108)

Požadovaná zlúčenina 108 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 106 Príklad 106, s výnimkou že sa príslušný amín použil namiesto amínu A v Kroku I. LRMS (M+H)⁺ m/z 665,1 [vypočítané pre C₃₇H₅₂N₄O₇, 664,4].

Príklad 109

Príprava zlúčeniny 109

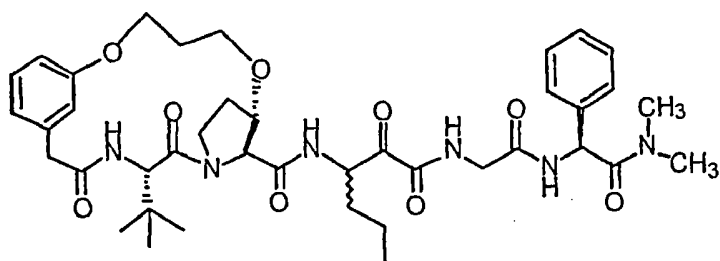


(109)

Požadovaná zlúčenina 109 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 106 Príklad 106, s výnimkou, že sa príslušný amín použil namiesto amínu A v Kroku I, a že sa oxidácia uskutočnila podľa postupu v Príklade 10 Krok J. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 625,1 [vypočítané pre C₃₄H₄₈N₄O₇, 624,4].

Príklad 110

Príprava zlúčeniny 110

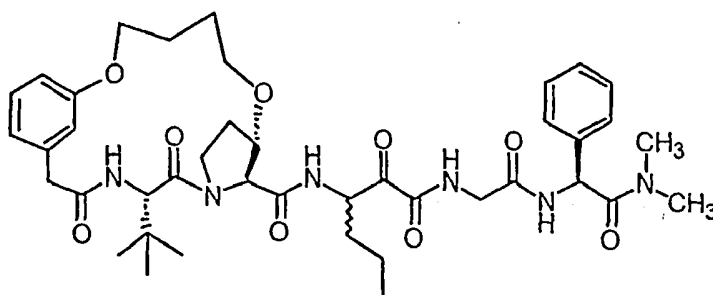


(110)

Požadovaná zlúčenina 110 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 1A a 1B, Príklad 1, s výnimkou toho, že sa Boc-3-hydroxyprolín použil namiesto prolínu 1a v kroku A, a že sa Boc-*tert*-butylglycín použil namiesto Boc-cyklohexylglycínu v Kroku D, LRMS (M+H)⁺ *m/z* 763,1 [vypočítané pre C₄₀H₅₄N₆O₉, 762,4].

Príklad 111

Príprava zlúčeniny 111



(111)

Požadovaná zlúčenina 111 sa pripravila pomocou rovnakého spôsobu, ako je opísané v príprave zlúčeniny 4A a 4B v Príklade 4, s výnimkou toho, že sa Boc-3-hydroxyprolín použil namiesto prolínu 1a v Kroku A, a že sa Boc-*tert*-butylglycín použil namiesto Boc-cyklohexylglycínu v Kroku D. LRMS (M+H)⁺ *m/z* 777,1 [vypočítané pre C₄₁H₅₆N₆O₉, 776,4].

Skúška inhibície činnosti HCV proteázy

Spektrofotometrická skúška

Spektrofotometrické skúšky HCV serín-proteázy sa uskutočnili pre zlúčeniny podľa tohto vynálezu podľa postupu opísaného R. Zhang a spol., *Analytical Biochemistry*, 270 (1999) 268 - 275, ktorého zistenia sú tu začlenené ako odkaz. Skúška založená na proteolýze chromogenických esterových substrátov je vhodná na kontinuálne monitorovanie HCV NS3 proteázovej aktivity. Substráty boli získané z P strany NS5A-NS5B spojenia sekvencie (AcDTEDVVX(Nva), kde X = A alebo P), ktorej C-koncové karboxylové skupiny boli esterifikované jedným zo štyroch rôznych chromoforických alkoholov (3- alebo 4-nitrofenol, 7-hydroxy-4-metyl-kumarín, alebo 4-fenylazofenol). Nižšie je uvedená syntéza, charakterizácia a použitie týchto nových spektrofotometrických esterových substrátov na vysoko-účinné sledovanie a podrobné kinetické hodnotenie HCV NS3 proteázových inhibítorov.

Materiály a postupy

Materiály

Chemické činidlá pre pufre potrebné pre skúšky sa získali od Sigma Chemical Company (St. Louis, Missouri). Činidlá pre peptidovú syntézu boli od Aldrich Chemicals, Novabiochem (San Diego, Kalifornia), Applied Biosystems (Foster City, Kalifornia) a Perseptive Biosystems (Framingham, Massachusetts). Peptidy boli syntetizované manuálne alebo pomocou automatizovaného syntetizéra ABI model 431A (od Applied Biosystems). UV/VIS Spektrometer model LAMBDA 12 bol od Perkin Elmer (Norwalk, Connecticut) a 96-kalíškové UV platne sa získali od Corning (Corning, New York). Predzahrievací blok bol od USA Scientific (Ocala, Florida) a trepačka 96-kalíškových platí bola od Labline Instruments (Melrose Park, Illinois) a Spectramax Plus čítač mikrotitrových platní s monochromátorom sa získal od Molecular Devices (Sunnyvale, Kalifornia).

Príprava enzýmu

Rekombinantná heterodimerická HCV NS3/NS4A proteáza (kmeň 1a) sa pripravila použitím postupov publikovaných skôr (D. L. Sail a spol., *Biochemistry*, 37, (1998) 3392 - 3401). Koncentrácie proteínu boli určené pomocou Biorad spôsobu vyfarbovania použitím rekombinantných HCV proteázových štandardov skôr kvantifikovaných pomocou analýzy aminokyselín. Pred začatím skúšky sa pufer na uskladnenie enzýmu (50 mmol/l fosforečnan sodný pH 8,0, 300 mmol/l NaCl, 10% glycerol, 0,05% lauryl-maltozid a 10 mmol/l DTT) vymenil za skúšobný pufer (25 mmol/l MOPS pH 6,5, 300 mmol/l NaCl, 10% glycerol, 0,05% lauryl-maltozid, 5 μ mol/l EDTA a 5 μ mol/l DTT) použitím Biorad Bio-Spin P-6 náplňovej kolóny.

Syntéza a čistenie substrátu

Syntéza substrátu sa robila tak, ako je uvedené R. Zhang a spol., (citované vyššie) a začínala sa pomocou zakotvenia Fmoc-Nva-OH na 2-chlórtrityl-chloridovú živicu použitím štandardného postupu (K. Barbs a spol., *Int. J. Pept. Protein Res.*, 37 (1991), 513 - 520). Peptidy boli následne zostavované použitím Fmoc chémie, buď manuálne alebo pomocou automatického syntetizéra peptidov ABI model 431. *N*-acetylované a plne chránené peptidové fragmenty sa štiepili zo živice buď pomocou 10% kyseliny octovej (HOAc) a 10% trifluóretanolu (TFE) v dichlórmétáne

(DCM) počas 30 minút, alebo pomocou 2% trifluóroctovej kyseliny (TFA) v DCM počas 10 minút. Spojený filtrát a DCM premývací roztok sa odparil azeotropicky (alebo sa opakovane extrahoval vodným Na_2CO_3 roztokom), čím sa odstránila kyselina použitá na štiepenie. DCM fáza sa vysušila nad Na_2SO_4 a odparila.

Esterové substráty sa zostavovali použitím štandardného postupu kopulácie kyselina-alkohol (K. Holmber a spol., Acta Chem. Scand., B33 (1979) 410 - 412). Peptidové fragmenty sa rozpustili v bezvodom pyridíne (30 až 60 mg/ml), do ktorého sa pridalo 10 molových ekvivalentov chromofóru a katalytické množstvo (0,1 ekvivalentu) kyseliny *para*-toluénsulfónovej (pTSA). Na iniciáciu kopulačných reakcií sa pridal dicyklohexylkarbodiimid (DCC, 3 ekvivalenty). Tvorba produktu bola monitorovaná pomocou HPLC a zistilo sa, že bola úplná po 12 až 72 hodinách reakcie pri laboratórnej teplote. Pyridínové rozpúšťadlo sa odparilo za vákua, potom sa ďalej odstránilo pomocou azeotropického odparenia s toluénom. Peptidový ester bol deprotektovaný s 95% TFA v DCM počas dvoch hodín a zmes sa extrahovala trikrát s bezvodým etyléterom, čím sa odstránil prebytok chromofóru. Deprotektovaný substrát sa čistil pomocou HPLC s obrátenými fázami na C3 alebo C8 kolóne s gradientom 30% až 60% acetonitrilu (použitím šiestich objemov kolóny). Celkový výťažok po HPLC čistení bol približne 20 až 30 %. Molekulová hmotnosť bola potvrdená pomocou hmotnostnej spektrometrie s ionizáciou elektrickou iskrou. Substráty boli uskladnené vo forme suchého prášku za vysušovania.

Spektrá substrátov a produktov

Spektrá substrátov a zodpovedajúcich chromofórových produktov sa získali v pH 6,5 skúšobnom pufri. Molové absorpčné koeficienty boli určené pri optimálnej mimopíkovej vlnovej dĺžke v 1-cm kyvetách (340 nm pre 3-Np a HMC, 370 nm pre PAP a 400 nm pre 4-Np) použitím postupných zriedení. Optimálna mimopíková vlnová dĺžka bola definovaná ako vlnová dĺžka poskytujúca maximálny relatívny rozdiel absorbancie medzi substrátom a produktom (produkt OD - substrát OD)/substrát OD).

Proteázová skúška

HCV proteázové skúšky sa uskutočňovali pri 30 °C použitím 200 µl reakčnej zmesi v 96-kalíškovej mikrotitračnej platni. Zloženie skúškového pufru (25 mmol/l MOPS pH 6,5, 300 mmol/l NaCl, 10% glycerol, 0,05% lauryl-maltozidu, 5 µmol/l EDTA a 5 µmol/l DTT) sa optimalizovalo pre NS3/NS4A heterodimér (D. L. Sali a spol., citované vyššie)). Typicky sa 150 µl zmesi pufru, substrátu a inhibítora umiestnili do kalíškov (konečná koncentrácia DMSO 4 % objemové) a ponechali sa predinkubovať pri 30 °C počas približne 3 minút. 50 µl predhriatej proteázy (12 nmol/l, 30 °C) v skúškovom pufri sa potom použilo na začatie reakcie (konečný objem 200 µl). Platne boli monitorované počas doby skúšky (60 minút) vzhľadom na zmenu absorbancie pri príslušnej vlnovej dĺžke (340 nm pre 3-Np a HMC, 370 nm pre PAP, a 400 nm pre 4-Np) použitím čítača mikrotitračných platní Spectromax Plus vybaveného monochromátorom (prijateľné výsledky sa môžu získať aj s čítačom platní, ktorý používa filtre). Proteolytické štiepenie esterovej väzby medzi Nva a chromofórom sa monitorovalo pri príslušnej vlnovej dĺžke oproti blanku bez enzýmu ako vzorky na kontrolu neenzymatickej hydrolýzy. Vyhodnotenie kinetických parametrov substrátu sa uskutočnilo cez 30-násobné koncentrácie substrátu v rozsahu (~6 až 200 µmol/l). Počiatočné rýchlosti boli určené použitím lineárnej regresie a kinetické konštanty sa získali preložením údajov Michaelis-Mentenovou rovnicou použitím nelineárnej regresnej analýzy (Mac Curve Fit 1.1, K. Raner). Obrátené hodnoty (k_{cat}) boli vypočítané za predpokladu, že enzým bol plne aktívny.

Vyhodnotenie inhibítorov a inaktivátorov

Inhibičné konštanty (K_i) pre konkurenčné inhibítory Ac-D-(D-Gla)-H-(Cha)-C-OH (27), Ac-DTEDVVA(Nva)-OH a Ac-DTEDVVP(Nva)-OH sa určili experimentálne pri fixovaných koncentráciách enzýmu a substrátu z grafu v_0/v_i vs. koncentrácia inhibítora ($[I]_0$) podľa preformulovanej Michaelis-Mentenovej rovnice pre konkurenčnú inhibičnú kinetiku: $v_0/v_i = 1 + [I]_0 / (K_i (1 + [S]_0/K_m))$, kde v_0 je neinhibovaná počiatočná rýchlosť, v_i je počiatočná rýchlosť v prítomnosti inhibítora pri danej koncentrácii inhibítora ($[I]_0$) a $[S]_0$ je koncentrácia použitého substrátu. Výsledné údaje boli vyhodnotené použitím lineárnej regresie a výsledná smernica,

$1/(K_i(1 + [S]_0/K_m))$ sa použila na výpočet K_i hodnoty.

Získané K_i hodnoty pre rôzne makrocykly podľa tohto vynálezu sú uvedené vo vyššie zmienenej Tabuľke 1, kde sú zlúčeniny usporiadané v poradí rozsahov K_i hodnôt. Z týchto testových výsledkov by odborníkovi v tejto oblasti malo byť zrejmé, že zlúčeniny podľa tohto vynálezu majú vynikajúce použitie ako NS3-serín-proteázové inhibítory.

Bunková bioskúška

Bunkové bioskúšky HCV serín-proteázy sa uskutočnili pre zlúčeniny podľa tohto vynálezu podľa postupu opísaného v S. Agrawal a spol., "Development and Characterization of Hepatitis C Virus Serin Protease Cell-based Trans-Cleavage Assay", *Hepatology* Dodatok k dielu 30 (č. 4, časť 2, október 1999), *Abstrakt č. 615* (Proceedings of AASLD 50th Annual Meeting, Dallas, Texas, 5. až 9. novembra, 1999), ktorého zistenia sú tu začlenené ako odkaz. Skúška sa uskutočnila v HeLa/Huh7 bunkách, ktoré boli ko-transfekované s plazmidom, ktorý exprimoval reportérový proteínový substrát, ktorý obsahuje NS5A/5B štiepenie rozpoznávajúcu sekvenciu a 1BNS4A₂₁₋₃₂ GS-GSNS₃₋₈₁/17K vektor exprese a YFPn1 ako vnútorný štandardný proteín na kontrolu cytotoxicity. Aktivita proteázy bola meraná pomocou SDS-PAGE celkových bunkových lyzátov, po čom nasleduje Western odtlačková detekcia použitím monoklonálnych protilátok zameraných proti reportérovému substrátu. Kvantifikácia štiepenia substrátu sa uskutočnila pomocou skenovania imuno-odtlačkov na detektore fosforescencie.

Materiály

Plazmidové DNA

pBFP-5A/5B-GFP

Reportérový gén, ktorý exprimuje substrát kóduje fúzny proteín, ktorý obsahuje doménu N'-koncového modrofluoreskujúceho proteínu (BFP) a doménu C'-koncového zelenofluoreskujúceho proteínu (GFP), sa separoval pomocou 25 aminokyselín odvodených z NS5A/5B štiepnej rozpoznávacej sekvencie. Aj GFP aj BFP sú v podstate homológmi autofluorescenčných proteínov, ktoré emitujú zelené

alebo modré svetlo, keď sa excitujú pomocou UV svetla príslušnej vlnovej dĺžky. Štyri aminokyselinové substitúcie v chromofóre GFP menia emisnú vlnovú dĺžku a konvertujú proteín na BFP.

Substrát a výsledný GFP a BFP produkt môže byť detegovaný v bunkových lyzátoch pomocou imunologických metód použitím monoklonálnych protilátok, ktoré rozpoznávajú oba proteíny.

BFP-5A/5B-GFP reportérový gén obsahuje BFP a GFP autofluorescenčný proteín kódujúce sekvencie (Quantum Biotechnologies, Inc., Montreal, Canada) sa separované pomocou NS5A/5B štiepnej rozpoznávacej sekvencie, klonované medzi Nhe I a Bam HI restriknými endonukleázovými miestami pQBI25 klonovací vektor (Quantum Biotechnologies, Inc.). Expresia fúzneho proteínu je pod kontrolou CMV IE promotóra-zosilňovača. Sekvencia vektora hovädzieho rastového hormónu p(A) poskytuje polyadenylačný signál pre mRNA. NS5A/5B štiepna sekvencia je: SSGADTEDVVCCSMSYTWGALVTP. DNA sekvenovanie bolo použité na validáciu klonu.

P1BOO2:1bNS4A21-32GS-GS NS 3-81 117K:

Subtyp 1b proteázy bol klonovaný ako Xba1/Not1 fragment za CMV promotórom vo vektore pC1neo.

YFPn1

YFPn1 bol zakúpený od CLONTECH (Palo Alto, Kalifornia). Pridanie tretieho plazmidu do transfekcie poskytuje vnútorný štandardný proteín na kontrolu cytotoxicity a neovplyvňuje percento proteázového štiepenia.

Plazmidové DNA boli udržiavané a propagované v DH5 α bunkách (získaných od LifeTechnologies) v LB médiu pod príslušnou antibiotickou selekciou, a čistili sa použitím QIAfilter Plasmid Kits (Qiagen; Valencia, Kalifornia).

Bunková kultúra

HeLa bunky sa udržiavali a propagovali v Eagleovom minimálnom esenciálnom médiu (EMEM; BioWhittaker, Walkersville, Maryland) doplnenom s 10% fetálnym telacím sérom (FCS), 2 mmol/l glutamínom a 100 u/ml penicilín-

streptomycín (BioWhittaker), 2% NaHCO_3 .

Huh7 bunky sa udržiavali a propagovali v Dulbeccovom modifikovanom Eagleovom médiu (DMEM; BioWhittaker) doplnenom s 10% fetálnym teľacím sérom (FCS), 100 u/ml penicilín-streptomycín (BioWhittaker) a 5 ml NEAA (100x; BioWhittaker)/L.

SOP Postup

Deň pred transfekciou

HeLa bunky sa očkovali do 24 kalíškových platní (Falcon 3047 platne) s hustotou $6 \cdot 10^4$ buniek/kalíšok a rástli počas noci pri 37 °C v 5 % CO_2 inkubátore.

Deň transfekcie

Plazmidové DNA sa zriedili na konečnú koncentráciu 0,05 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ v bez-nukleázovej vode (Promega, Madison, Wisconsin, cat # P119C). 0,75 μg BFP-5A/5B-GFP sa spojili a miešali s 0,175 μg P1B002 (0,23X) a 0,02 μg YFPn1. DNA sa upravili na konečný objem 60 μl s EMEM s nedostatkom FBS, glutamínom a antibiotikami. Pridalo sa po 5 μl objemu SuperFect Reagent (Qiagen, cat # 301305) v pomere na celkové μg DNA a zmes sa pretrepala asi 10 krát a inkubovala sa 10 minút pri laboratórnej teplote, čím sa umožnila tvorba komplexu.

Kým trvala tvorba komplexu, rastové médium sa odsávalo od buniek kultivačných platní a bunky sa premyli 1x 1 ml PBS bez Ca^{2+} , Mg^{2+} (BioWhittaker). Pridalo sa 350 μl EMEM (doplneného s príslušným úplným médiom) do banky, ktorá obsahovala transfekčné komplexy a zmes sa pipetovala hore a dolu 2 až 3 krát. Celkový objem bol prenesený do jedného kalíška 24 kalíškovkej kultivačnej platne. HeLa bunky sa inkubovali s transfekčnými komplexami počas asi 3 hodín pri 37 °C a v atmosfére 5% CO_2 . Médium, ktoré obsahovalo transfekčné komplexy, sa odstránilo od buniek pomocou odsania.

Bunky sa premyli raz v asi 1 ml PBS, PBS sa odsalo a pridalo sa 495 μl plného EMEM, po čom nasledovalo 5 μl zlúčeniny/kalíšok. Bunky sa inkubovali 22 až 24 hodín pri 37 °C a v atmosfére 5% CO_2 .

Príprava bunkových lyzátov

Z kalíškov sa odsalo médium a premyli sa hneď 1x s DPBS. Bunky sa zbierali v 100 μ l 1x Tris-SDS-BME vzorkovom pufri (OWL separačný systém, Portsmouth, New Hampshire, cat # ER33) a preniesli sa do mikrocentrifugačných skúmaviek. Potom sa varili 3 až 5 minút, čím sa bunky lýzovali. Dávkovanie sa robilo pri 10 μ l/kalíšok na SDS-PAGE gél. Lyzáty sa rozdelili pomocou elektroforézy na platniach 10 cm x 10 cm 12,5% SDS-PAGE (Owl Scientific, cat # OG-0125B) prebiehajúcej pri 30 mamp v Tris-Glycín-SDS pufri (Owl Scientific). Pred použitím sa zmáčali PVDF membrány (Immobilon-P; .45 μ m veľkosť pórov; Millipore, Bedford, Massachusetts) v 100% metanole počas 10 sekúnd a potom sa otláčok vložil do destilovanej vody. Proteíny sa preniesli na PVDF filtračné membrány (0,45 μ m, Millipore) pri 108 mamp na gél počas 90 minút použitím polosuchého elektroodtláčania.

Detekcia proteínov pomocou ECF Western Blot (Amersham Pharmacia Biotech, Little Chalfont, England), katalóg #RPN 5780)

PVDF filtračné membrány boli blokované s 5% blokačným činidlom (z kitu) v 10 ml PBS, ktoré obsahovalo 0,05% Tween 20, pH 7,4 (Sigma Chemicals, St. Louis, Missouri, cat #3563) počas noci pri 2 až 4 °C v chladničke. V nasledujúci deň sa membrány opláchli krátko dvakrát s TPBS, ktorý obsahoval 0,05% Tween 20, premývacím pufrom, potom sa premyli trikrát, zakaždým 5 minút v PBS, ktoré obsahovalo 0,05% Tween 20, pH 7,4. Membrány sa inkubovali v 12 ml 1:3000 zriedení anti-GFP monoklonálnych protilátok počas 30 minút (Clontech, Palo Alto, Kalifornia) v PBS, ktoré obsahovalo 0,05% Tween 20, pH 7,4, pričom sa v rovnakom čase pridal 1% GSA (Albumín, hovädzí cat # A-2153 od Sigma) na zníženie pozadia. Membrány sa premyli krátko dvakrát s TPBS, potom trikrát počas 5 minút zakaždým, v TPBS premývacom pufri. Membrány sa inkubovali v 12 ml 1:600 zriedenia anti-fluoresceín-viazaného anti- myšieho Ig v TPBS počas 30 minút. Membrány sa premyli krátko s TPBS dvakrát, potom počas 5 minút v TPBS premývacom pufri trikrát. Na zosilnenie signálu s ECF substrátom sa membrány inkubovali v 10 ml 1:2500 konjugátom anti-fluoresceín alkalickéj fosfatázy počas 30 minút. Membrány sa opláchli krátko s TPBS dvakrát, potom 5 minút v TPBS

premývacom pufri trikrát. ECF substrátový roztok bol pripravený podľa návodu výrobcu (aliquót - vymrazenie), membrány sa inkubovali počas 2 až 3 minút, prebytok činidla sa odliat, potom sa odtlačili s filtračným papierom, vysušili sa na vzduchu počas 9 až 10 minút a potom sa skenovali.

Skenovanie membrán

Odtlačky sa umiestnili na sklo detektora fosfrescencie Storm 860. Nastavila sa modrá chemiluminiscencia, 200 pixelová veľkosť, 700 PMT napätie. Otvoril sa súbor v ImageQuant a kvantifikoval sa pomocou vytvorenia štvorcov okolo pásov reprezentujúcich substrát (S), produkt (P) a vnútornú kontrolnú vzorku (IC). % štiepenia substrátu sa merala ako $P/(S+P) \times 100$. Inhibícia štiepenia liečivom sa merala v porovnaní s duplikátom ku kontrolnej vzorke liečiva zahrnutej na každom odtlačku. Záznam bol vytvorený v Exceli. Výsledky sú uvedené v Tabuľke 2. Z týchto výsledkov by odborníkovi v tejto oblasti malo byť zrejmé, že zlúčeniny podľa tohto vynálezu majú vynikajúce použitie ako NS3-serín proteázové inhibítory.

Tabuľka 2

Výsledky HCV bunkovej skúšky

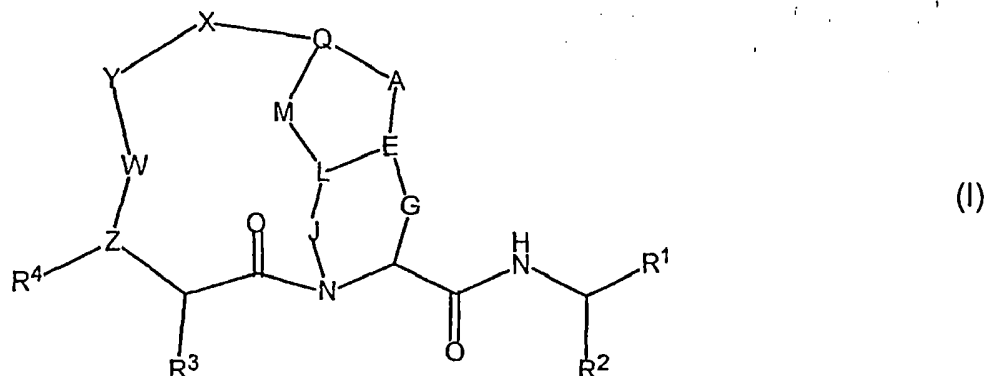
Číslo príkladu	Bunková skúška ($\mu\text{mol/l}$)
1B	2
2	2
4A	2,5
4B	1,8
5	0,6
7B	7
8	3,5
12B	5,2
21	2
23	3
30	1

57B	1,5
58	2

Odborníkom v tejto oblasti bude zrejmé, že sa môžu vykonať viaceré modifikácie, variácie a zmeny tu opísaných materiálov aj postupov. Takéto modifikácie, variácie a zmeny sú uvažované ako súčasť ducha a rozsahu tohto vynálezu.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Makrocyclické zlúčeniny všeobecného vzorca I



kde

X a Y sú nezávisle vybrané zo skupiny substituentov: alkyl, alkyl-aryl, heteroalkyl, heteroaryl, aryl-heteroaryl, alkyl-heteroaryl, cykloalkyl, alkyléter, alkyl-aryléter, aryléter, alkylaminoskupina, arylaminoskupina, alkyl-arylaminoskupina, alkylsulfid, alkyl-arylsulfid, arylsulfid, alkylsulfón, alkyl-arylsulfón, arylsulfón, alkyl-alkylsulfoxid, alkylarylsulfoxid, alkylamid, alkyl-arylamid, arylamid, alkylsulfónamid, alkyl-arylsulfónamid, arylsulfónamid, alkylmočovina, alkyl-arylmočovina, arylmočovina, alkylkarbamát, alkyl-arylkarbamát, arylkarbamát, alkyl-hydrazid, alkyl-aryl-hydrazid, alkyl-hydroxamid, alkylaryl-hydroxamid, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, heteroalkylsulfonyl, heteroarylsulfonyl, alkylkarbonyl, arylkarbonyl, heteroalkylkarbonyl, heteroarylkarbonyl, alkoxykarbonyl, aryloxykarbonyl, heteroaryloxykarbonyl, alkylaminokarbonyl, arylaminokarbonyl, heteroarylamino-karbonyl alebo ich kombinácia s výhradou, že X a Y môžu voliteľne byť okrem toho substituované skupinami vybranými zo skupiny pozostávajúcej zo substituentov: aromatická skupina, alkyl, alkyl-aryl, heteroalkyl, aryl-heteroaryl, alkyl-heteroaryl, cykloalkyl, alkyléter, alkyl-aryléter, alkylsulfid, alkyl-arylsulfid, alkylsulfón, alkyl-arylsulfón, alkylamid, alkyl-arylamid, alkylsulfónamid, alkylamíny, alkyl-arylamíny, alkyl-arylsulfónamid, alkylmočovina, alkyl-arylmočovina, alkylkarbamát a alkyl-arylkarbamát;

$R^1 = COR^5$ alebo $B(OR)_2$, kde $R^5 = H, OH, OR^8, NR^9R^{10}, CF_3, C_2F_5, C_3F_7, CF_2R^6, R^6, COR^7$, kde $R^7 = H, OH, OR^8, CHR^9R^{10}$ alebo NR^9R^{10} , kde R^6, R^8, R^9 a R^{10} sú nezávisle vybrané zo skupiny pozostávajúcej zo substituentov: H, alkyl, aryl, heteroalkyl, heteroaryl, cykloalkyl, cykloalkyl, arylalkyl, heteroarylalkyl, $CH(R^1)COOR^{11}$, $CH(R^1)CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^1)CONHCH(R^2)COOR^{11}$,

$\text{CH}(\text{R}^1)\text{CONHCH}(\text{R}^2)\text{CONR}^{12}\text{R}^{13}$, $\text{CH}(\text{R}^1)\text{CONHCH}(\text{R}^2)\text{R}'$,
 $\text{CH}(\text{R}^1)\text{CONHCH}(\text{R}^2)\text{CONHCH}(\text{R}^3)\text{COOR}^{11}$,
 $\text{CH}(\text{R}^1)\text{CONHCH}(\text{R}^2)\text{CONHCH}(\text{R}^3)\text{CONR}^{12}\text{R}^{13}$,
 $\text{CH}(\text{R}^1)\text{CONHCH}(\text{R}^2)\text{CONHCH}(\text{R}^3)\text{CONHCH}(\text{R}^4)\text{COOR}^{11}$,
 $\text{CH}(\text{R}^1)\text{CONHCH}(\text{R}^2)\text{CONHCH}(\text{R}^3)\text{CONHCH}(\text{R}^4)\text{CONR}^{12}\text{R}^{13}$,
 $\text{CH}(\text{R}^1)\text{CONHCH}(\text{R}^2)\text{CONHCH}(\text{R}^3)\text{CONHCH}(\text{R}^4)\text{CONHCH}(\text{R}^5)\text{COOR}^{11}$,
 $\text{CH}(\text{R}^1)\text{CONHCH}(\text{R}^2)\text{CONHCH}(\text{R}^3)\text{CONHCH}(\text{R}^4)\text{CONHCH}(\text{R}^5)\text{CONR}^{12}\text{R}^{13}$, kde
 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^{11} , R^{12} , R^{13} a R' sú nezávisle vybrané zo skupiny
 pozostávajúcej zo substituentov: H, alkyl, aryl, heteroalkyl, heteroaryl, cykloalkyl,
 alkyl-aryl, alkyl-heteroaryl, aryl-alkyl a heteroaralkyl;

Z je vybrané z O, N alebo CH;

W môže byť prítomný alebo neprítomný, a ak W je prítomný, W je vybrané z C=O, C=S alebo SO₂;

Q môže byť prítomný alebo neprítomný, a keď Q je prítomný, Q je CH, N, P, (CH₂)_p, (CHR)_p, (CRR')_p, O, NR, S alebo SO₂; a keď Q je neprítomný, M je tiež neprítomný, a A je priamo naviazaný na X;

A je O, CH₂, (CHR)_p, (CHR-CHR')_p, (CRR')_p, NR, S, SO₂ alebo väzba;

E je CH, N alebo CR, alebo dvojité väzba na A, L alebo G;

G môže byť prítomný alebo neprítomný, a keď G je prítomný, G je (CH₂)_p, (CHR)_p alebo (CRR')_p; a keď G je neprítomný, J je prítomný a E je priamo spojený s uhlíkovým atómom, kde bol pripojený G;

J môže byť neprítomný alebo prítomný, a keď J je prítomný, J je (CH₂)_p, (CHR)_p alebo (CRR')_p, SO₂, NH, NR alebo O; a keď J je neprítomný, G je prítomný a E je priamo naviazaný na N;

L môže byť prítomný alebo neprítomný, a keď L je prítomný, L je CH, CR, O, S alebo NR; a keď L je neprítomný, potom M môže byť neprítomný alebo prítomný, a ak M je prítomný pričom L je neprítomný, potom M je priamo a nezávisle naviazaný na E, a J je priamo a nezávisle naviazaný na E;

M môže byť prítomný alebo neprítomný, a keď M je prítomný, M je O, NR, S, SO₂, (CH₂)_p, (CHR)_p, (CHR-CHR')_p alebo (CRR')_p;

p je číslo od 0 do 6; a

R, R', R², R³ a R⁴ sú nezávisle vybrané zo skupiny pozostávajúcej zo substituentov:

H; C1-C10-alkyl; C2-C10-alkenyl; C3-C8-cykloalkyl; C3-C8-heterocykloalkyl, alkoxy-skupina, aryloxyskupina, alkyltioskupina, aryltioskupina, aminoskupina, amido-skupina, ester, karboxylová kyselina, karbamát, močovina, ketón, aldehyd, kyano-skupina, nitroskupina; atómy kyslíka, dusíka, síry alebo fosforu, pričom tieto atómy kyslíka, dusíka, síry alebo fosforu majú počet nula až šesť;

(cykloalkyl)alkyl a (heterocykloalkyl)alkyl, kde tento cykloalkyl je tvorený z troch až ôsmich uhlíkových atómov, a nula až šesť atómov kyslíka, dusíka, síry alebo fosforu, a tento alkyl je z jedného až šiestich uhlíkových atómov; aryl; heteroaryl; alkyl-aryl; a alkyl-heteroaryl;

pričom tento alkyl, heteroalkyl, alkenyl, heteroalkenyl, aryl, heteroaryl, cykloalkyl a heterocykloalkylová skupina môžu byť voliteľne substituované, pričom pojem „substituované“ znamená voliteľnú a vhodnú substitúciu s jedným alebo viacerými skupinami vybranými zo skupiny pozostávajúcej zo substituentov: alkyl, alkenyl, alkinyl, aryl, aralkyl, cykloalkyl, heterocyklus, halogén, hydroxyskupina, tioskupina, alkoxyskupina, aryloxyskupina, alkyltioskupina, aryltioskupina, aminoskupina, amidoskupina, ester, karboxylová kyselina, karbamát, močovina, ketón, aldehyd, kyanoskupina, nitroskupina, sulfónamid, sulfoxid, sulfón, sulfonylmočovina, hydrazid a hydroxamát.

2. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 1, kde R^1 je COR^5 a R^5 je H, OH, $COOR^8$, $CONR^9R^{10}$.

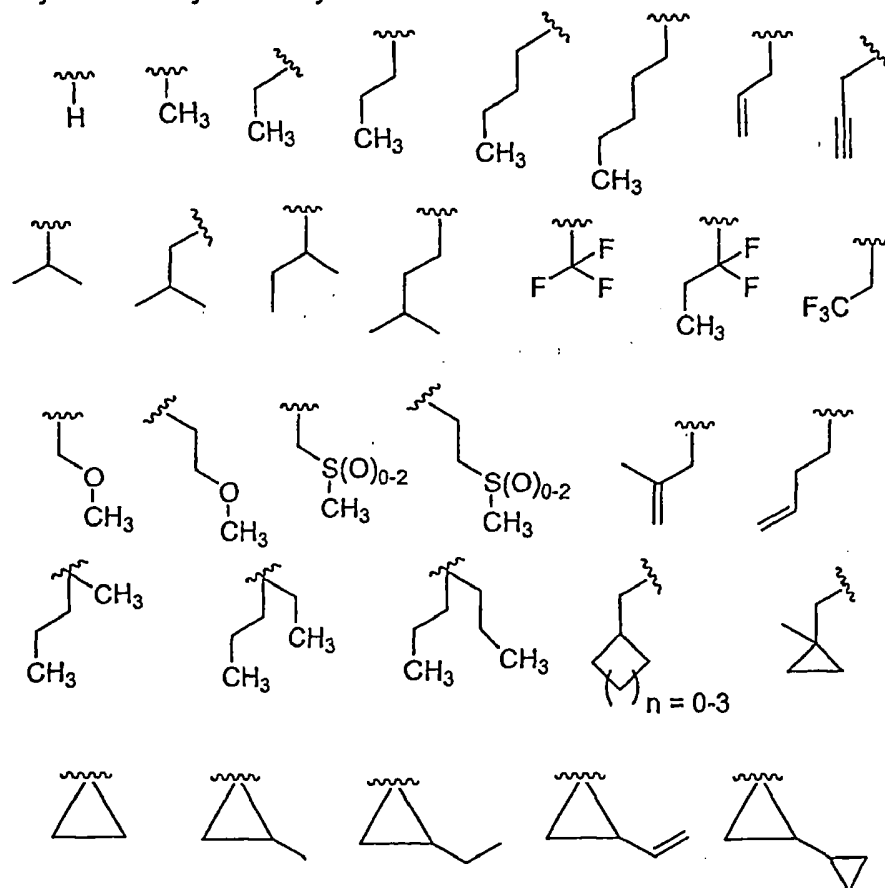
3. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 2, kde R^1 je $COCONR^9R^{10}$, a R^9 je H, R^{10} je H, $CH(R^{1'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})(R')$.

4. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 3, kde R^{10} je $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})COOR^{11}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})CONR^{12}R^{13}$, $CH(R^{1'})CONHCH(R^{2'})(R')$, kde $R^{1'}$ je H alebo alkyl, a $R^{2'}$ je fenyl, substituovaný fenyl, heteroatómom substituovaný fenyl, tiofenyl, cyklohexyl, cyklopentyl, cyklopropyl, piperidyl, pyridyl a 2-indanyl.

5. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 4, kde $R^{1'}$ je H.

6. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 5, kde R^2 je fenyl, tiofenyl, cyklohexyl, 2-indanyl, cyklopentyl, pyridyl, fenyl(4-HNSO₂NH₂), R^{11} je H alebo *tert*-butyl, R^{12} a R^{13} sú metyl, a R' je hydroxymetyl alebo *tert*-butoxymetyl.

7. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 1, kde R^2 je vybraný zo skupiny pozostávajúcej z nasledujúcich zvyškov:



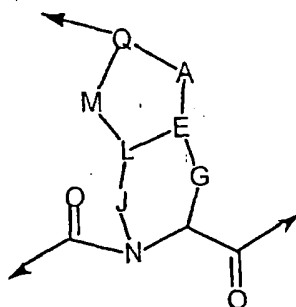
8. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 7, kde R^1 je COR^5 , a R^5 je H, OH, $COOR^8$, $CONR^9R^{10}$.

9. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 8, kde L a M sú neprítomné, J je priamo naviazaný na E.

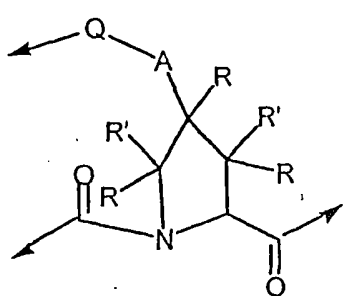
10. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 8, kde L, J a M sú neprítomné, E je priamo naviazaný na N.

11. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 8, kde G a M sú neprítomné.

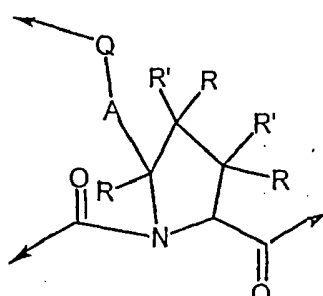
12. Makrocyclic compounds according to claim 8, where the group



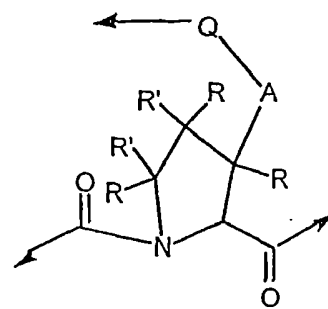
is selected from the group consisting of the following groups in patterns a, b or c



(a)

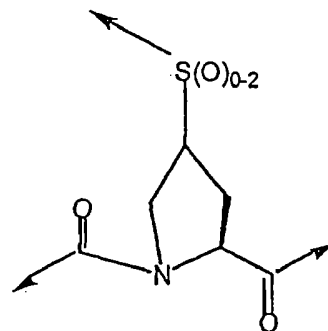
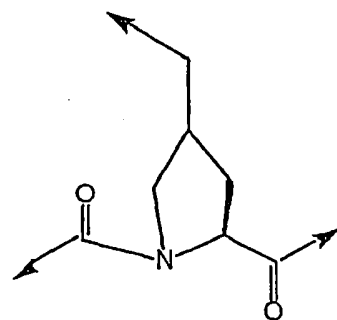
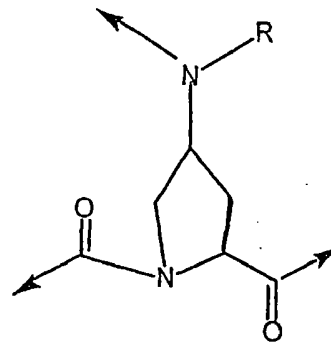
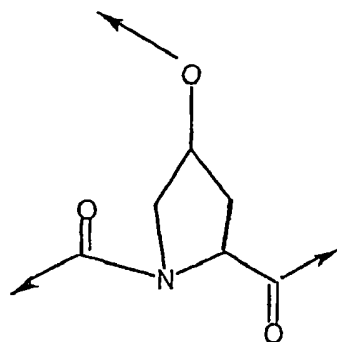


(b)

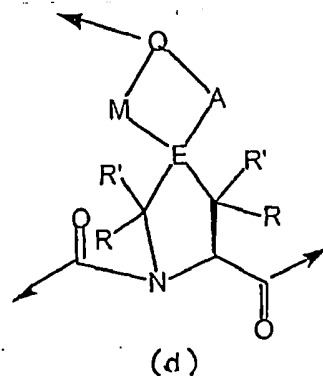
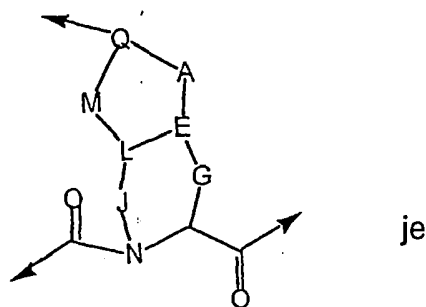


(c)

13. Macrocyclic compounds according to claim 12, where the group a is selected from the following group of patterns:

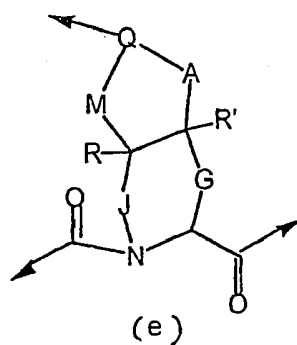
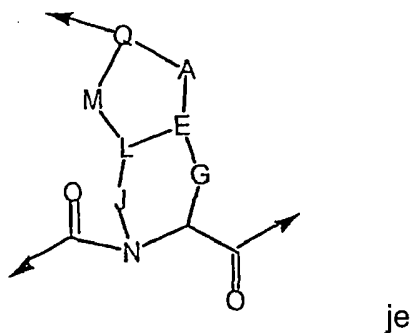


14. Macrocyclic compounds according to claim 8, where



kde M môže byť prítomná alebo neprítomná a ak M je neprítomná, Q je naviazané na E.

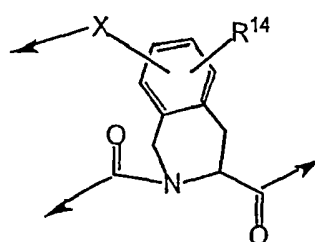
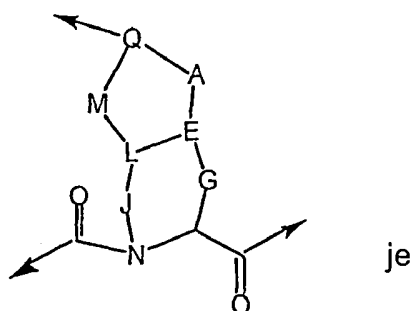
15. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 8, kde



kde G a J sú nezávisle vybrané zo skupiny pozostávajúcej z $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$ a $(CRR')_p$; A a M sú nezávisle vybrané zo skupiny pozostávajúcej z O, S, SO_2 , NR, $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$ a $(CRR')_p$; a Q je CH, CR alebo N.

16. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 8, kde G a J sú nezávisle vybrané zo skupiny pozostávajúcej z $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$ a $(CRR')_p$; a zoskupenie A-E-L-M-Q je aromatický kruh pozostávajúci z dvoch až ôsmich uhlíkových atómov, nula až šesť heteroatómov, pričom X a J sú navzájom v *orto*, *para* alebo *meta* polohe.

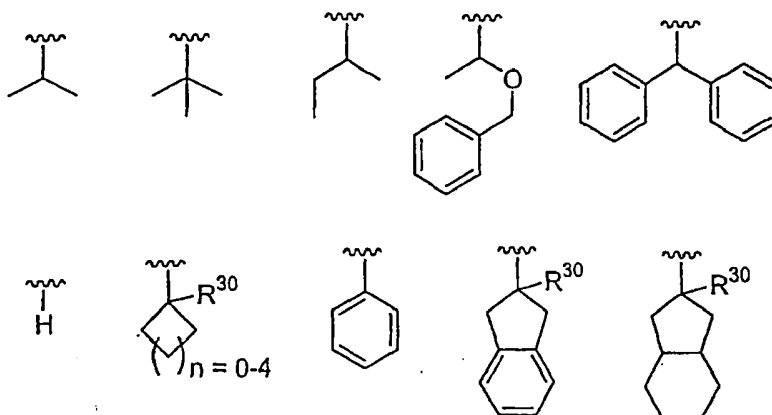
17. Makrocyklické zlúčeniny podľa nároku 16, kde

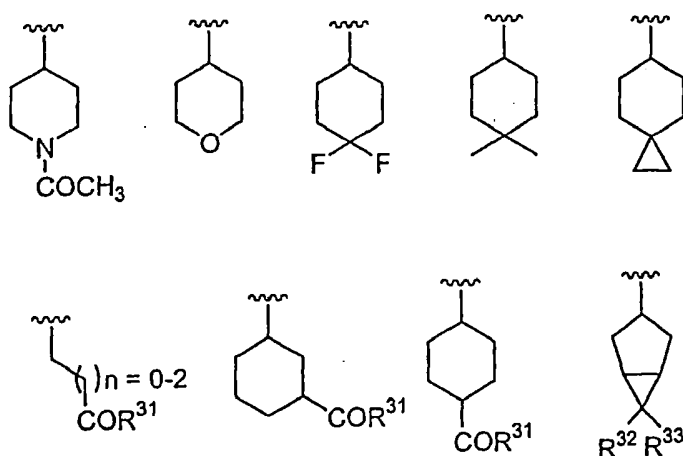


(f)

kde R¹⁴ je vybrané zo skupiny pozostávajúcej zo substituentov: H, alkyl, aryl, heteroalkyl, heteroaryl, cykloalkyl, alkyl-aryl, alkyl-heteroaryl, aryl-alkyl a hetero-
aralkyl.

18. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 1, kde R^3 je vybrané zo skupiny zahrnujúcej:



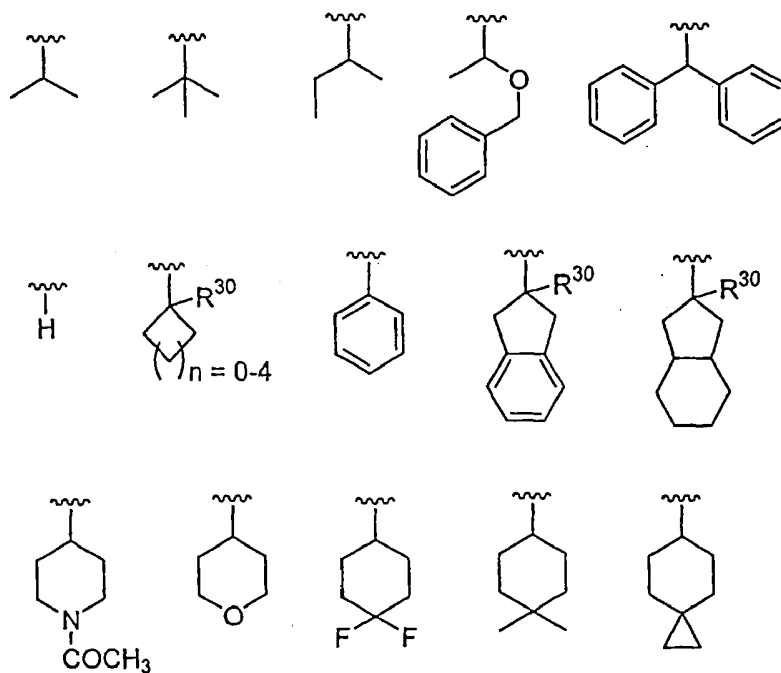


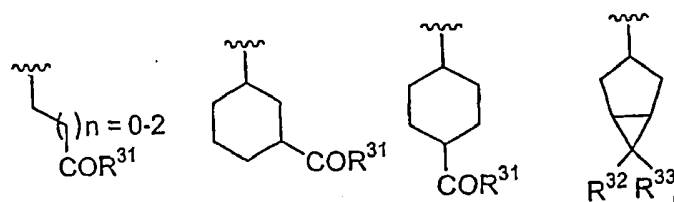
kde $R^{30} = H, CH_3$ alebo iné alkylové skupiny;

$R^{31} = OH, O\text{-alkyl}, NH_2, N\text{-alkyl}$; a

R^{32} a R^{33} môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú vybrané nezávisle z H, F, Cl, Br a CH_3 .

19. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 8, kde R^3 je vybrané zo skupiny zahrnujúcej:



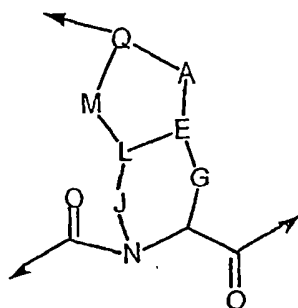


kde $R^{30} = H, CH_3$ alebo iné alkylové skupiny;

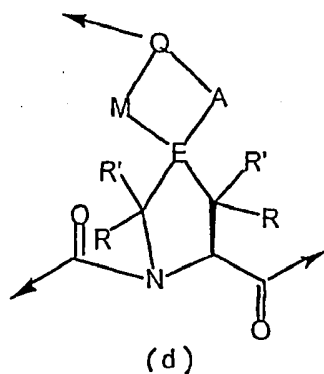
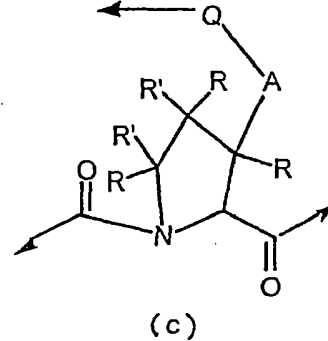
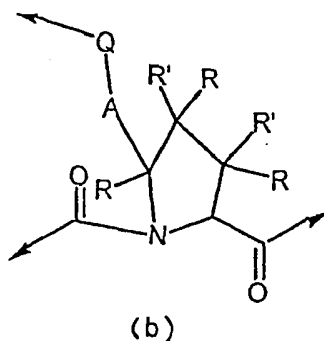
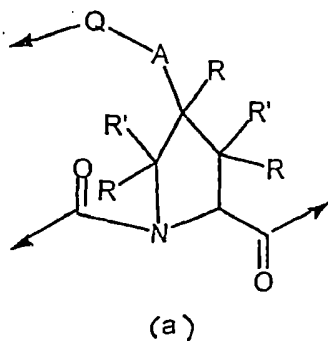
$R^{31} = OH, O\text{-alkyl}, NH_2, N\text{-alkyl}$; a

R^{32} a R^{33} môžu byť rovnaké alebo rôzne a sú vybrané nezávisle z H, F, Cl, Br a CH_3 ,

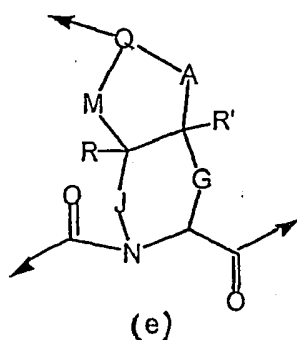
a zvyšok



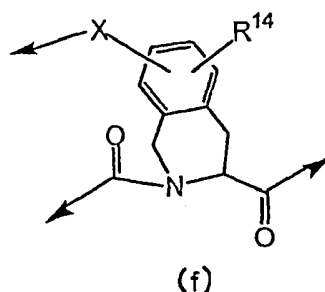
je vybraný z jedného z nasledujúcich zvyškov vzorcov a, b, c, d, e a f:



kde M môže byť neprítomný alebo prítomný, a ak M je neprítomný, Q je naviazaný na E



kde G a J sú nezávisle vybrané zo skupiny pozostávajúcej z $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$ a $(CRR')_p$; A a M sú nezávisle vybrané zo skupiny pozostávajúcej z O, S, SO_2 , NR, $(CH_2)_p$, $(CHR)_p$, $(CHR-CHR')_p$ alebo $(CRR')_p$, Q je CH, CR alebo N; a

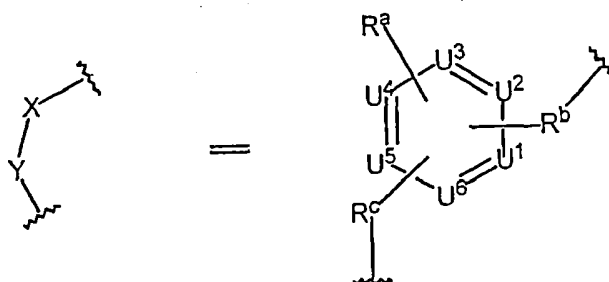


20. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 19, kde Z je N a R^4 je H.

21. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 20, kde W je C=O.

22. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 21, kde zoskupenie X-Y je vybrané zo skupiny zahrnujúcej C1-C6-alkyl, O-alkyl, NR-alkyl.

23. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 21, kde



kde R^b je spojený priamo na Q, ak Q je prítomný alebo na A, ak Q je neprítomný; R^c je naviazaný na W; U^1 až U^6 môže byť časť šesťčlenného uhlíkového kruhu, alebo

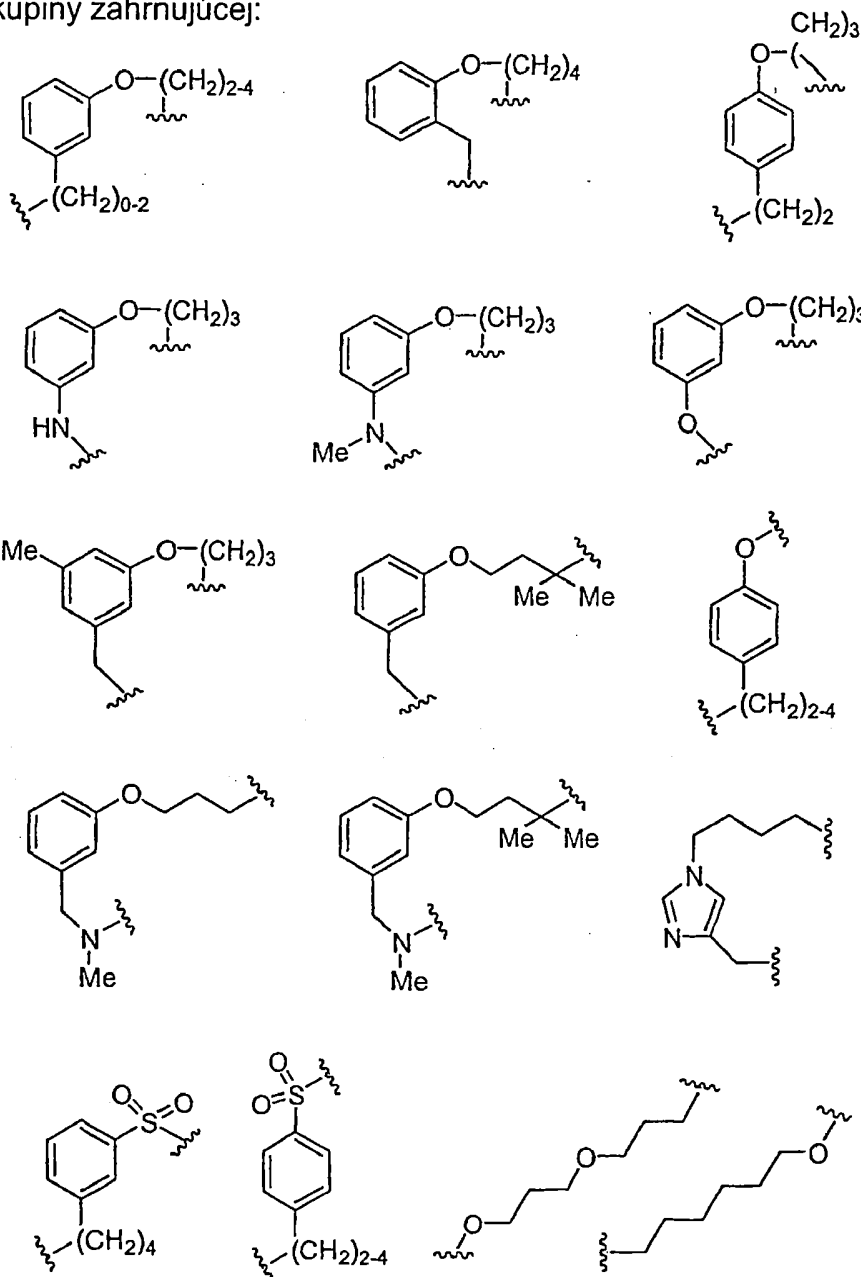
päť alebo šesťčlenný kruh s jedným alebo viacerými heteroatómami;

R^a je H, alkyl, alkoxykupina, hydroxykupina, tioskupina, halogén, nitroskupina, kyanoskupina, karboxylová kyselina, ester, amid, aminoskupina, nitril alebo CF_3 ;

R^b je väzba, C1-C6-alkyl, C2-C6-alkenyl, C2-C6-alkinyl, O, S, SO_2 , NH, O(alkyl), S(alkyl), SO_2 (alkyl) alebo N(alkyl); a

R^c je väzba, C1-C6-alkyl, C2-C6-alkenyl, C2-C6-alkinyl, O, S, SO_2 , NH, O(alkyl), S(alkyl), SO_2 (alkyl), N(alkyl) alebo CH_2 -N(alkyl), pričom CH_2 je naviazaný na aromatický kruh.

24. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 21, kde zoskupenie X-Y je vybrané zo skupiny zahrnujúcej:



25. Farmaceutický prostriedok, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že obsahuje ako aktívnu zložku makrocyclickú zlúčeninu podľa nároku 1.

26. Farmaceutický prostriedok podľa nároku 25 na použitie na liečenie porúch spojených s HCV.

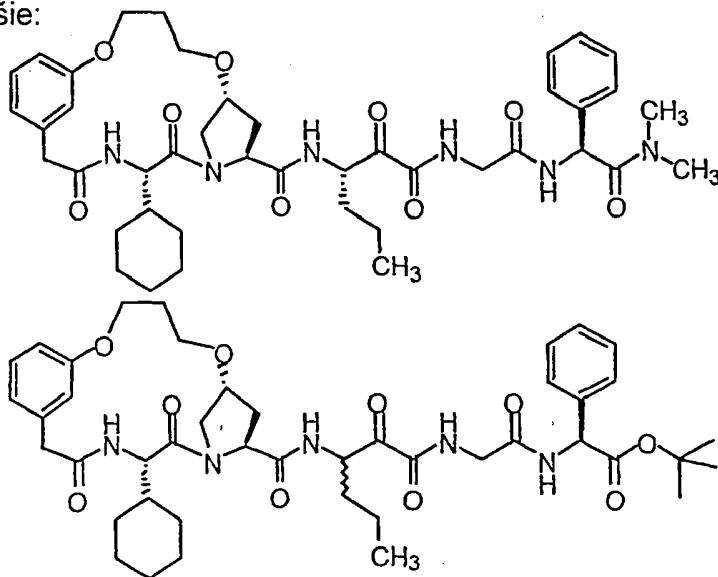
27. Farmaceutický prostriedok podľa nároku 25, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že obsahuje farmaceuticky prijateľný nosič.

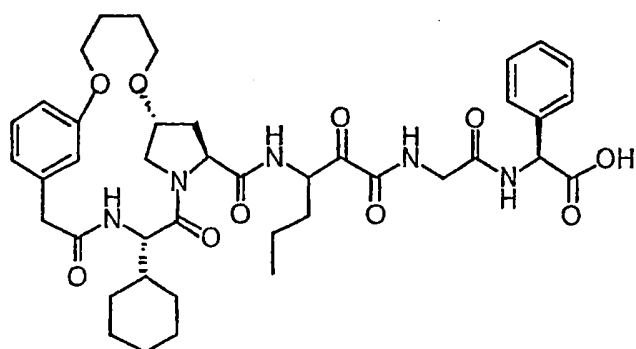
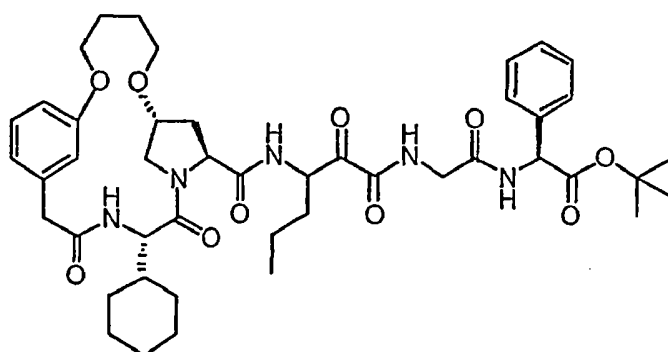
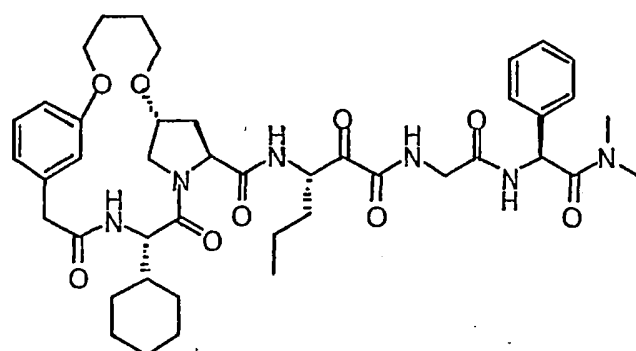
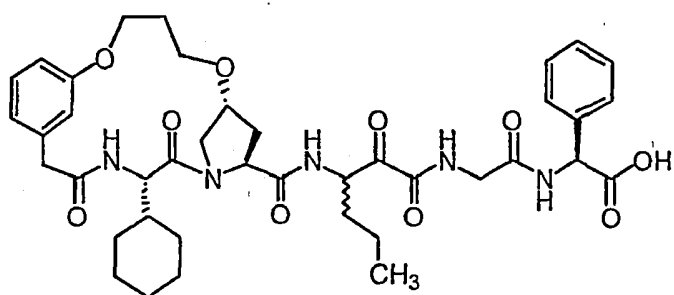
28. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 1 v terapeutických množstvách na použitie na liečenie porúch spojených s HCV proteázou u pacienta.

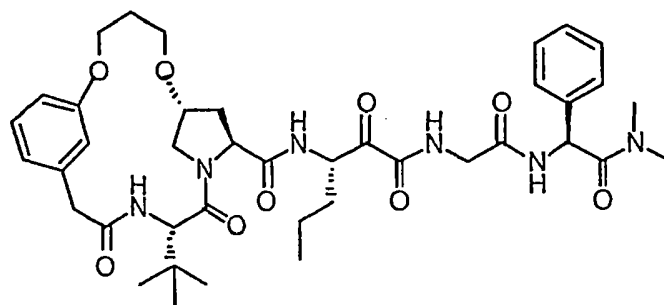
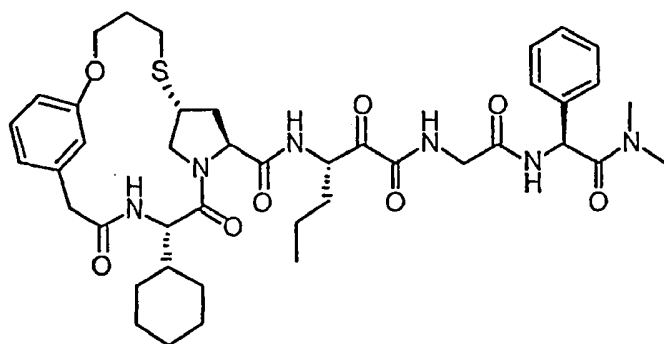
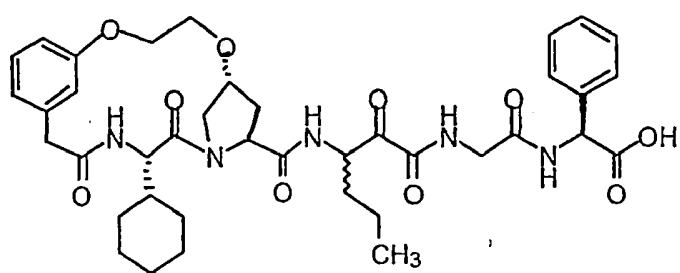
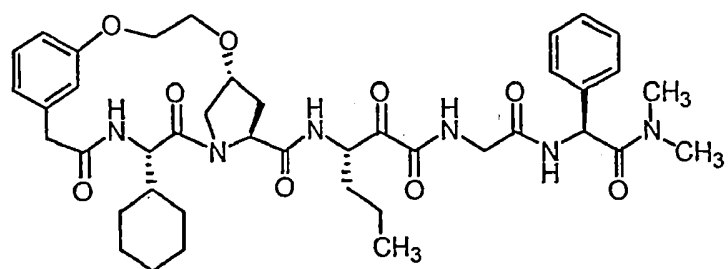
29. Použitie makrocyclickej zlúčeniny podľa nároku 1 na výrobu lieku na liečenie porúch spojených s HCV proteázou.

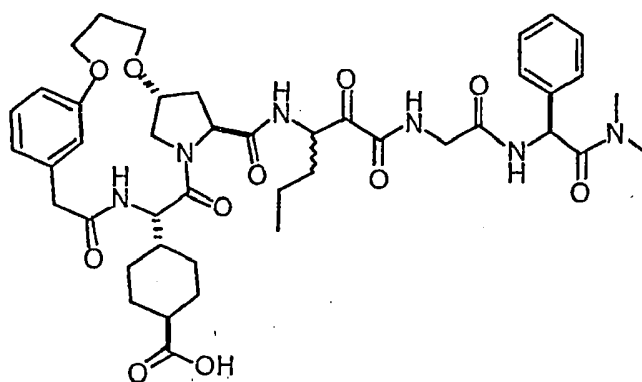
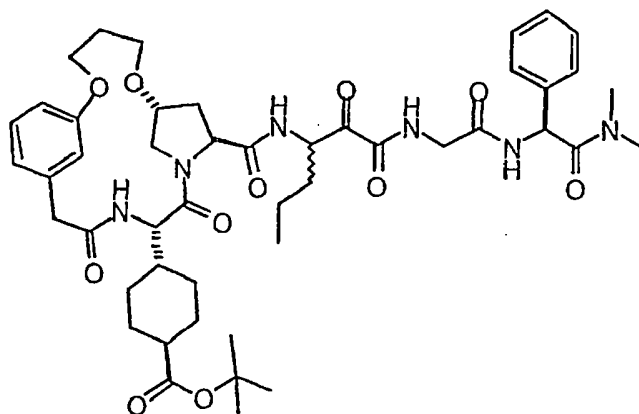
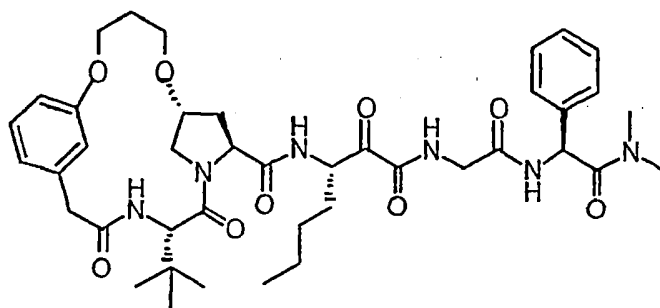
30. Spôsob výroby farmaceutického prostriedku na liečenie porúch spojených s HCV proteázou, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že zahrnuje uvedenie do tesného kontaktu makrocyclickej zlúčeniny podľa nároku 1 a farmaceuticky prijateľného nosiča.

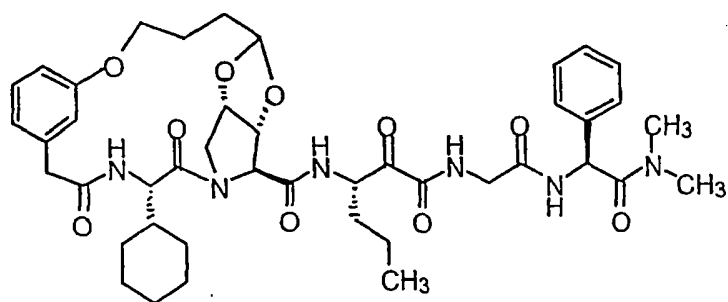
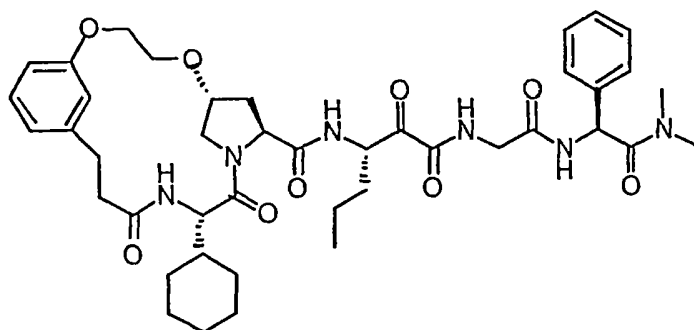
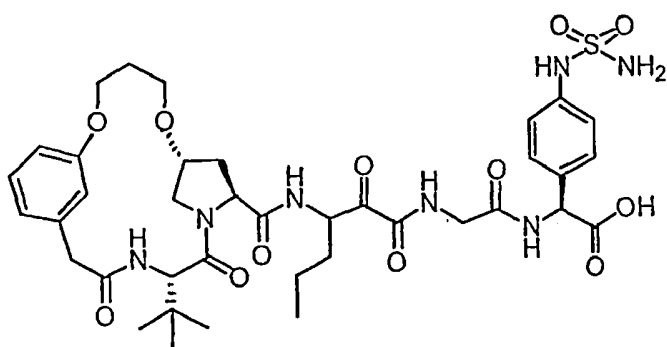
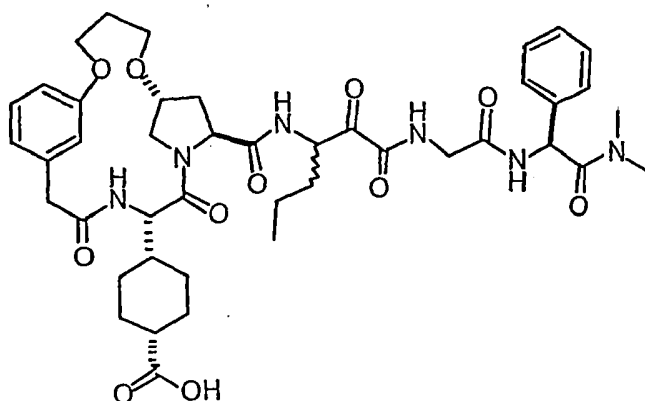
31. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 1 s inhibičným účinkom na HCV proteázu, vrátane jej enantiomérov, stereoizomérov a tautomérov, a jej farmaceuticky prijateľných solí alebo solvátov, ktoré sú vybrané zo zlúčenín vzorcov uvedených nižšie:

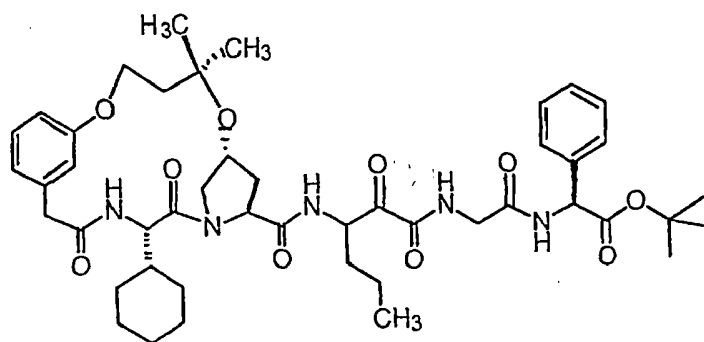
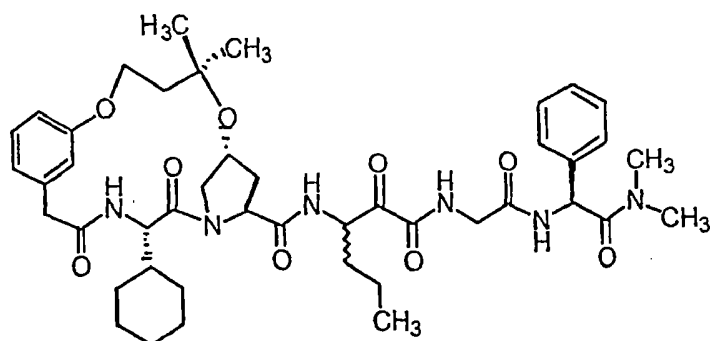
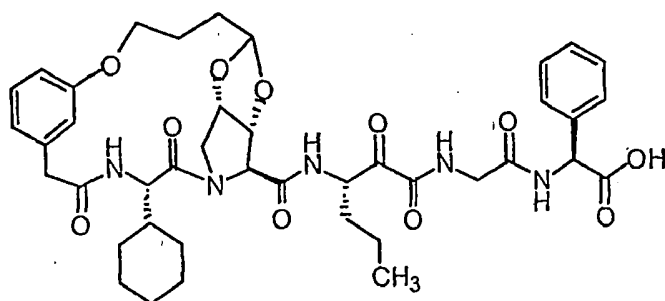
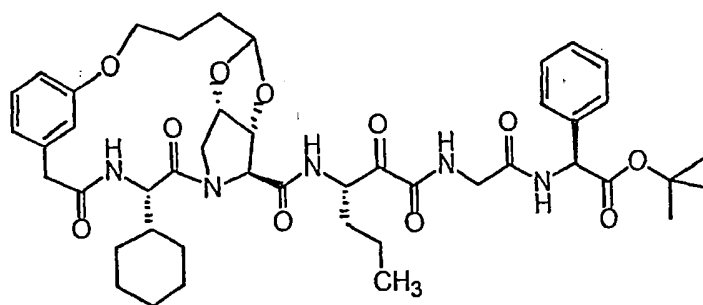


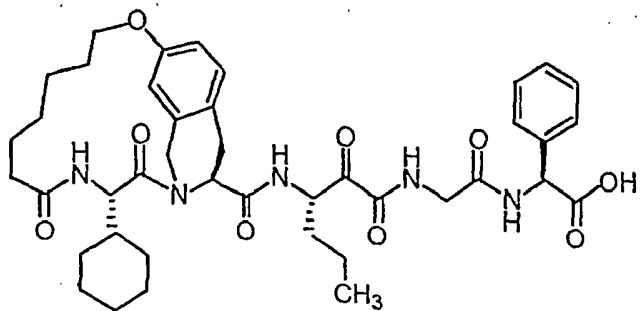
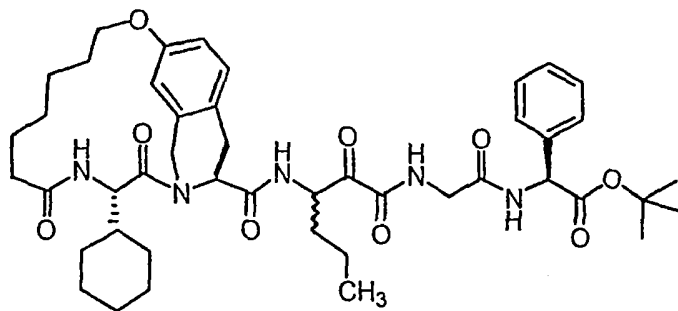
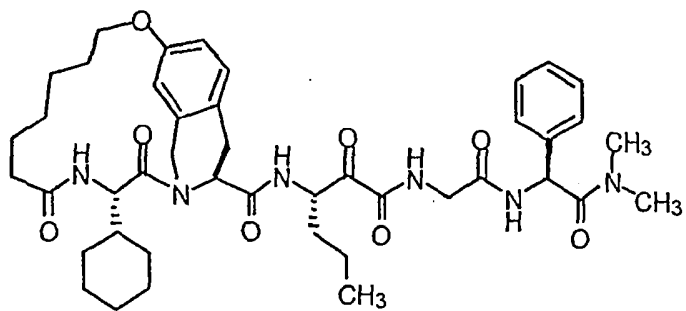
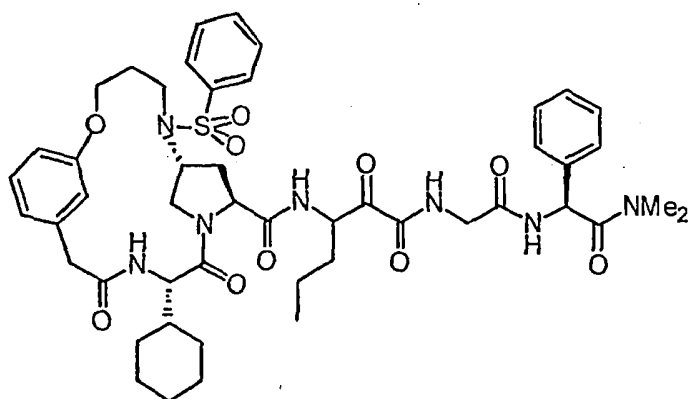


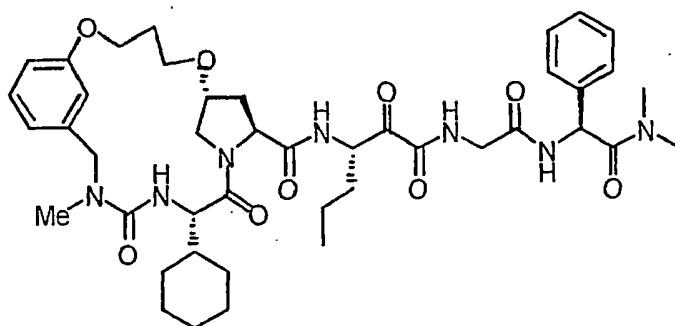
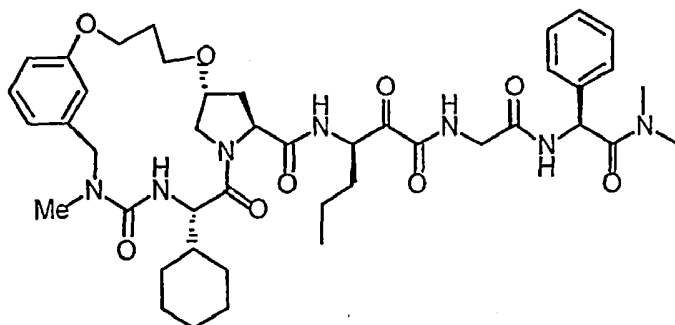
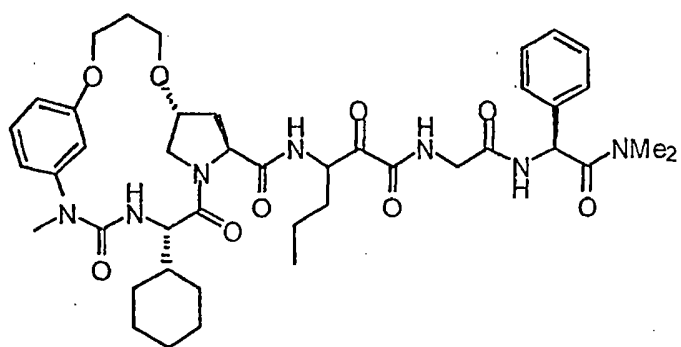
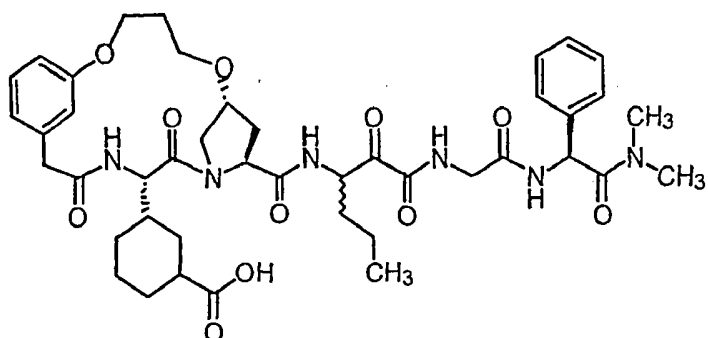




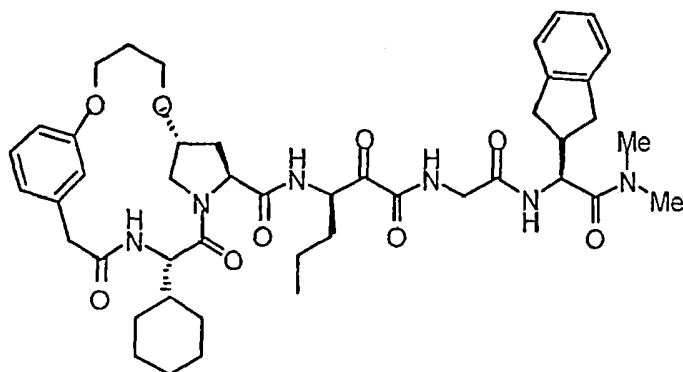
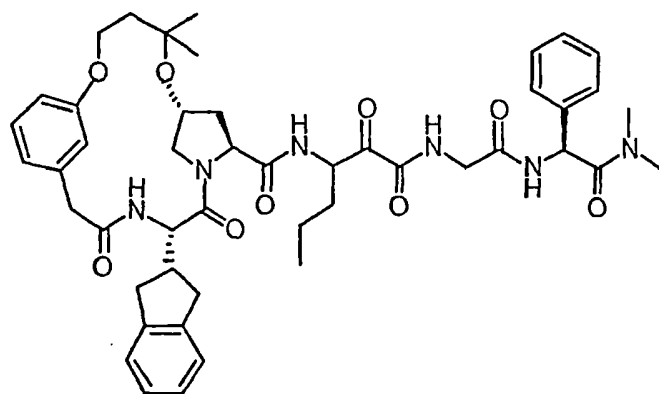
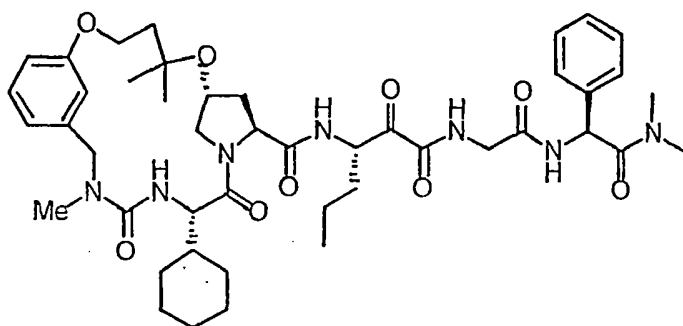
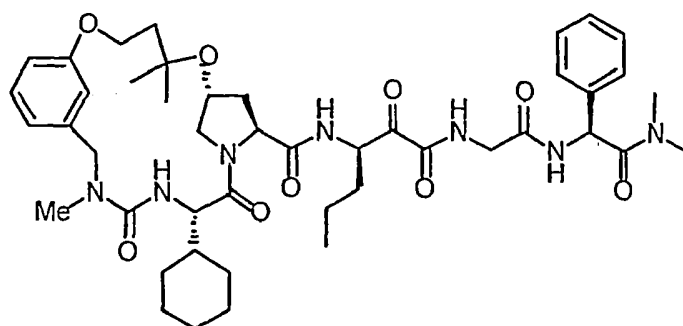


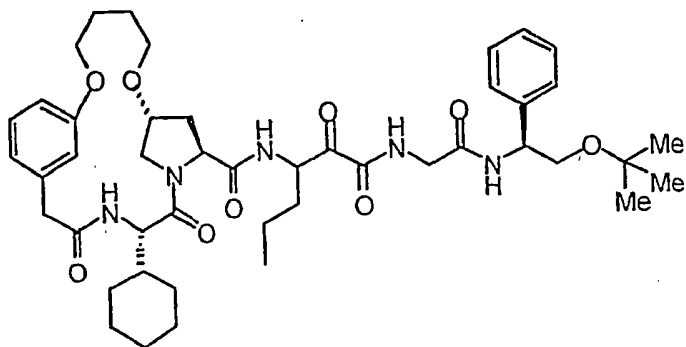
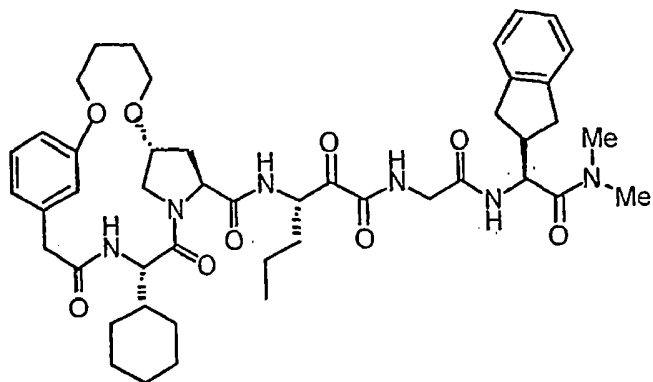
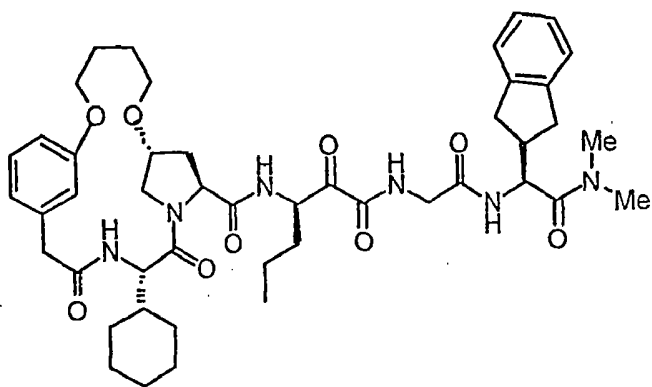
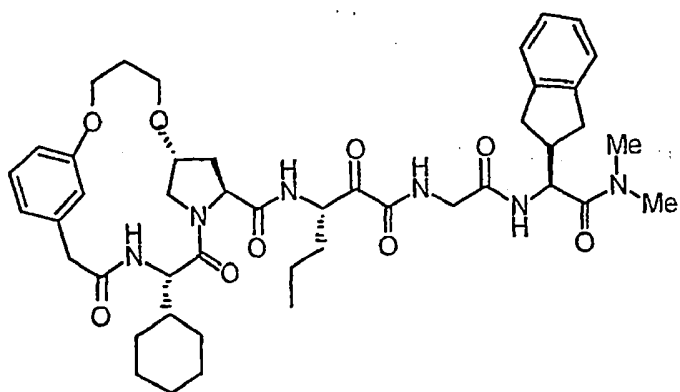


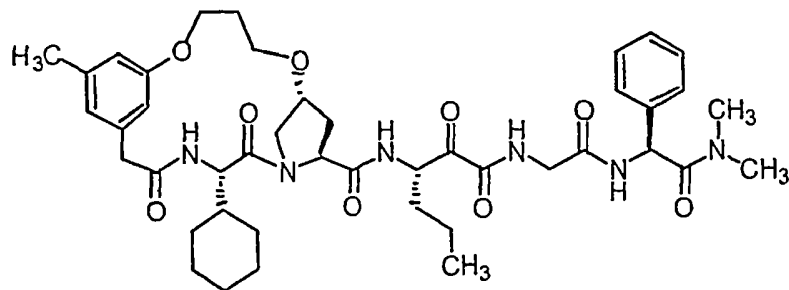
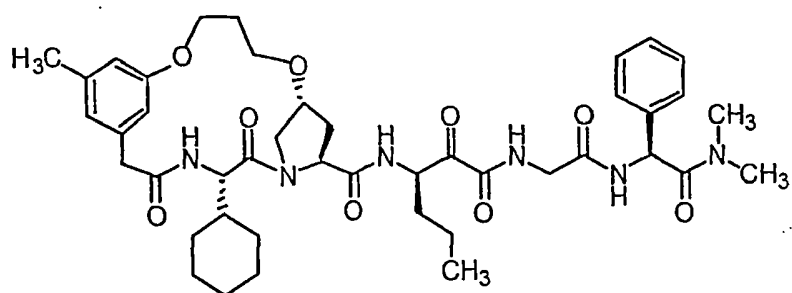
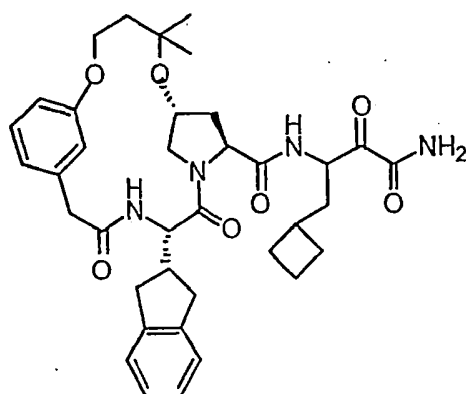
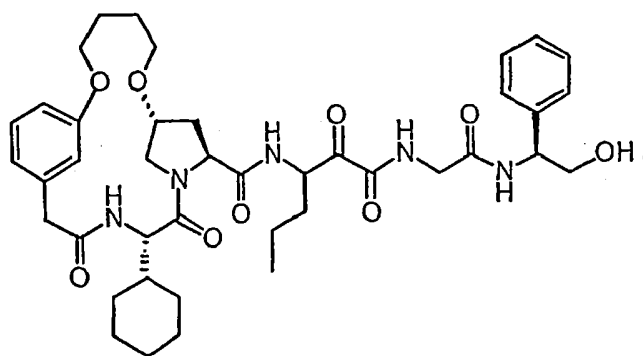


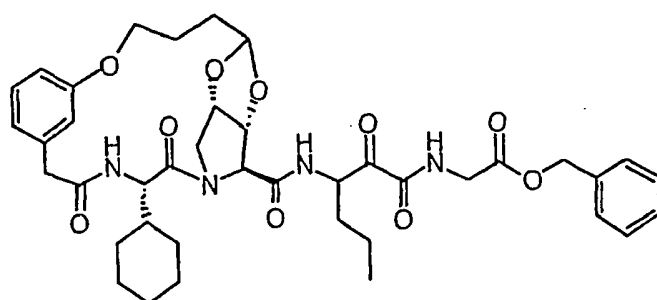
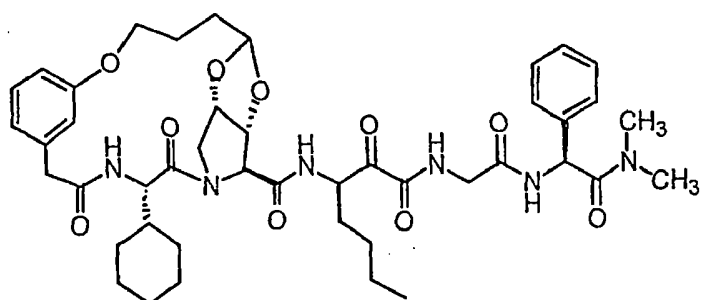
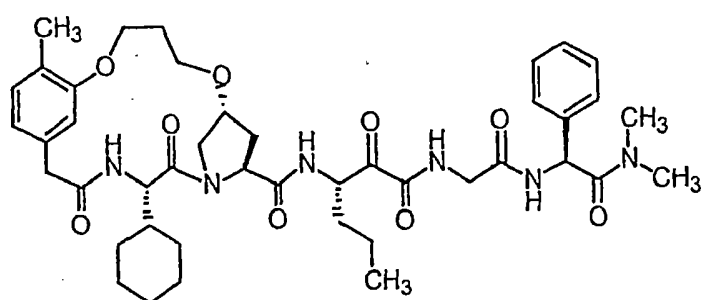
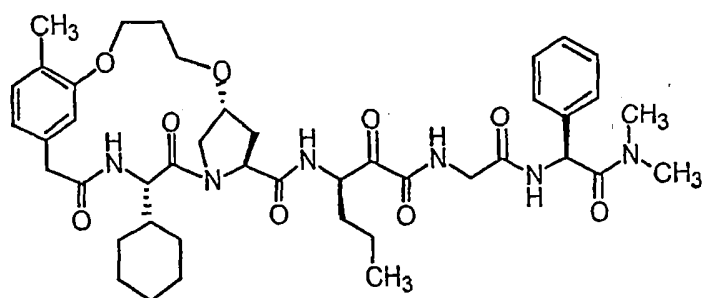


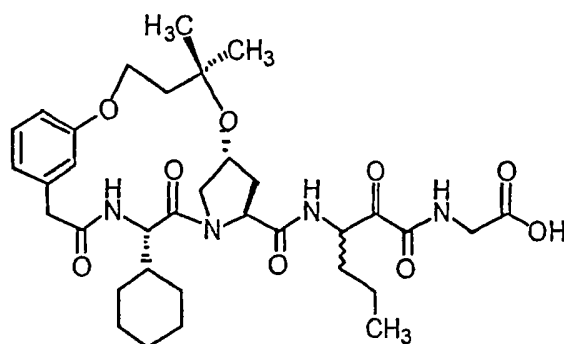
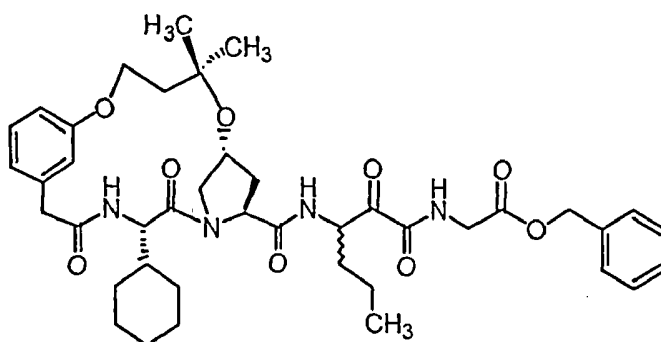
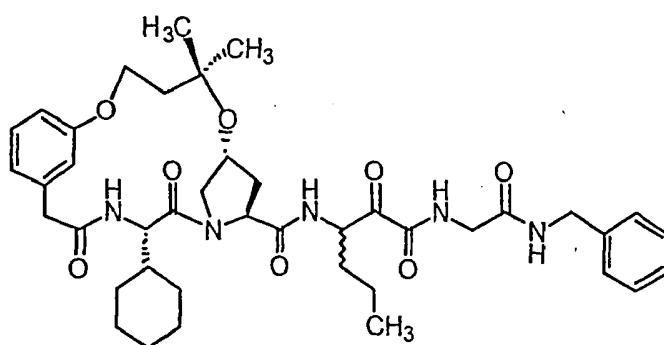
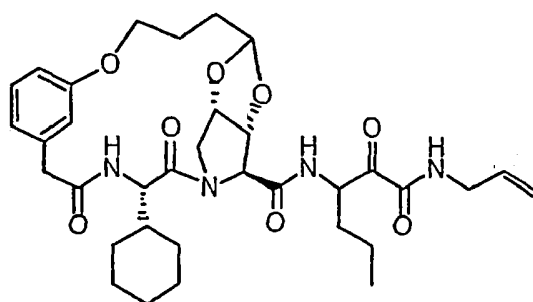
- 329 -

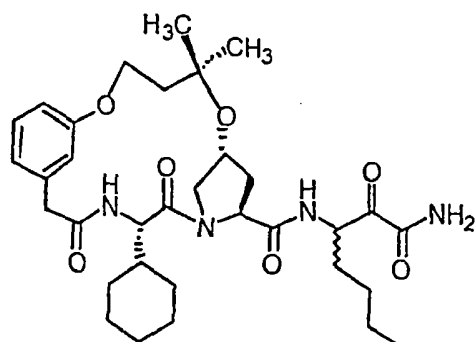
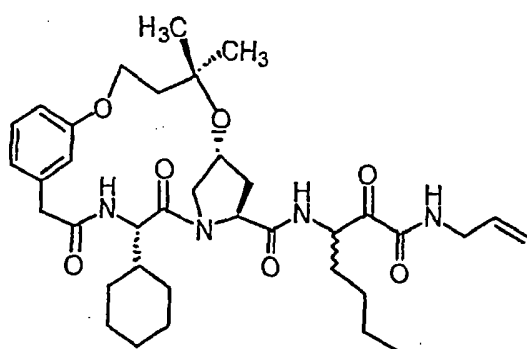
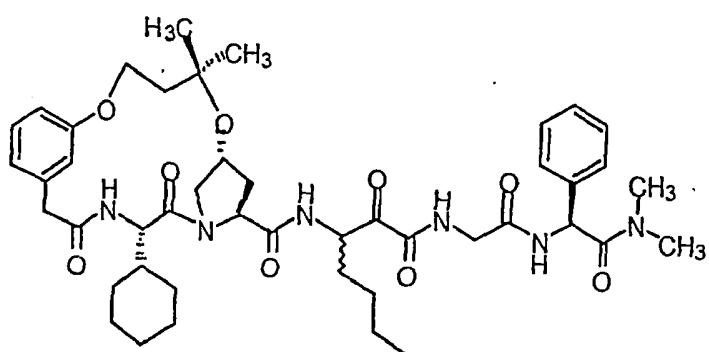
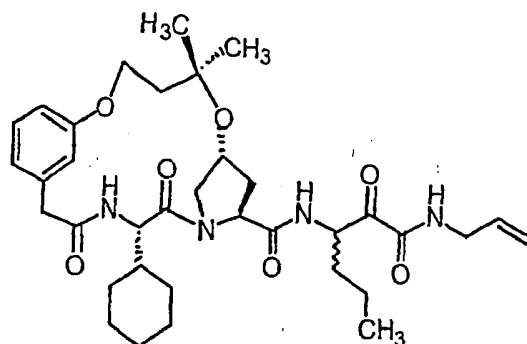


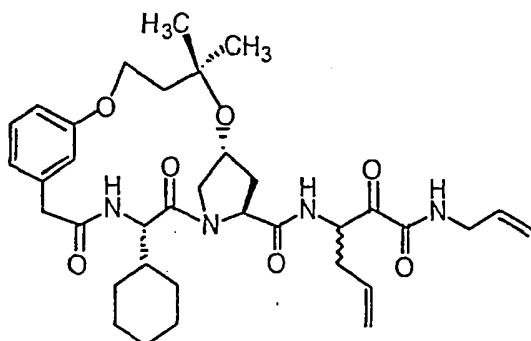
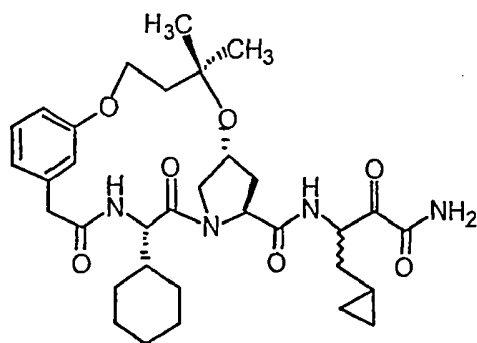
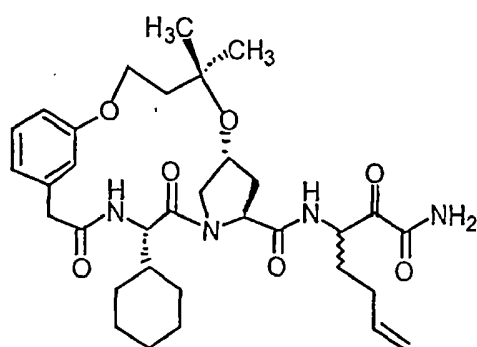
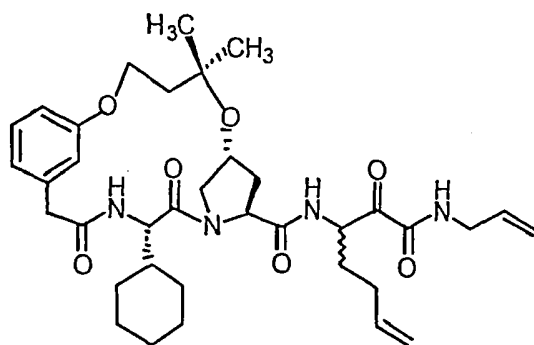


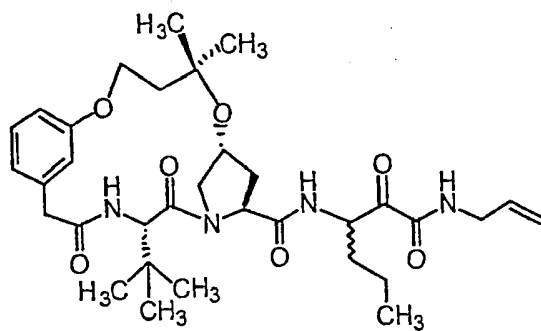
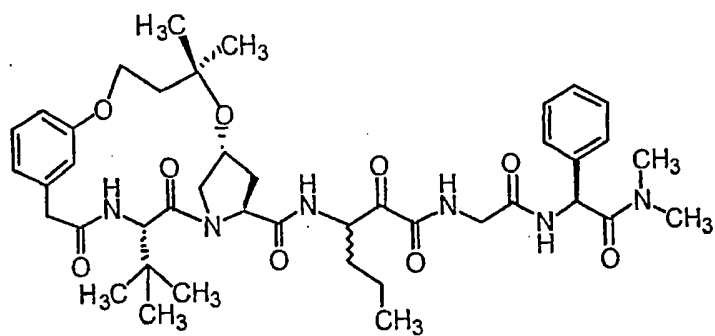
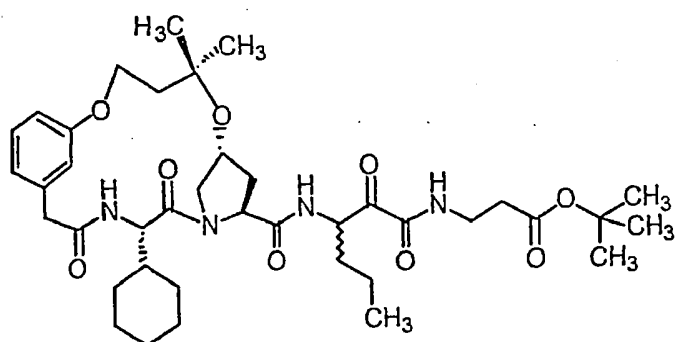
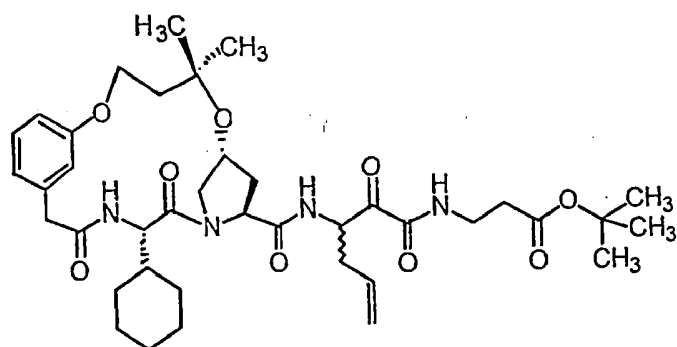


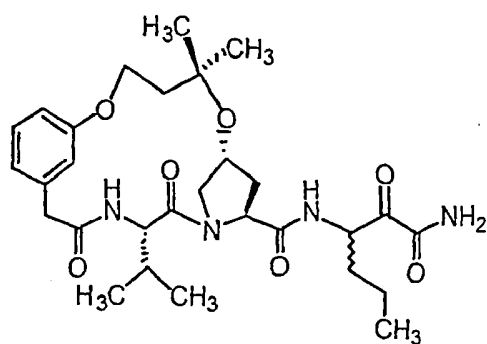
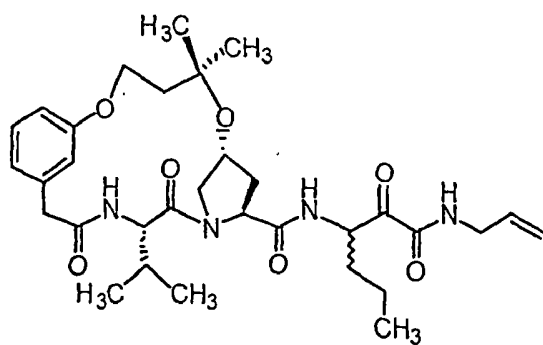
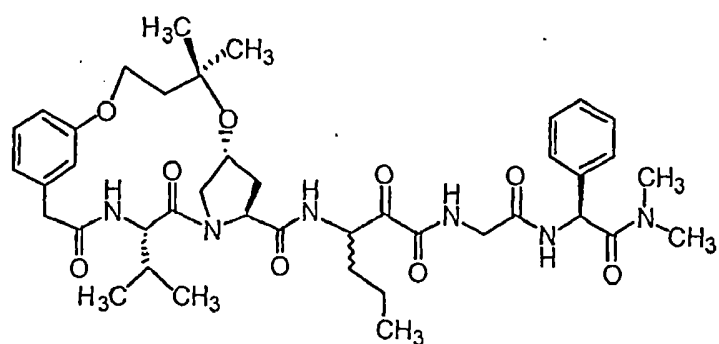
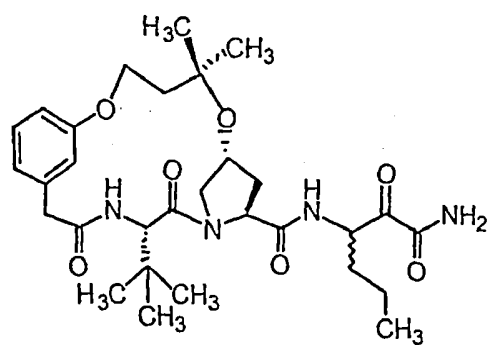


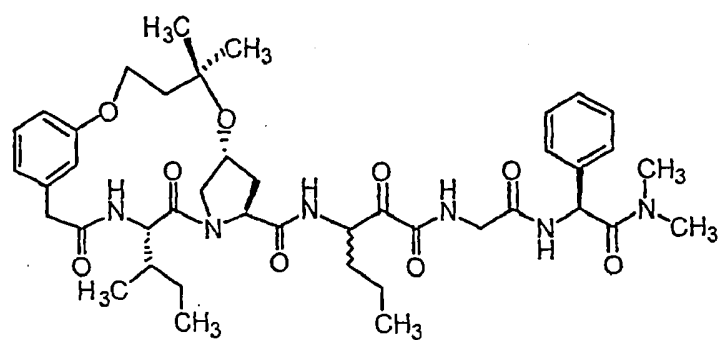
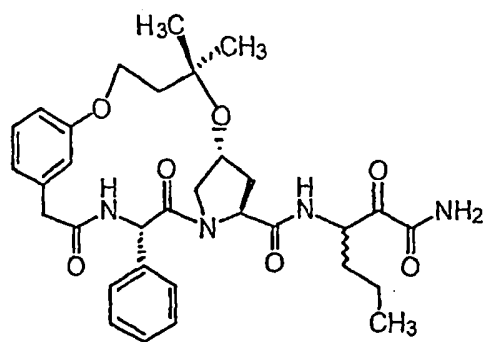
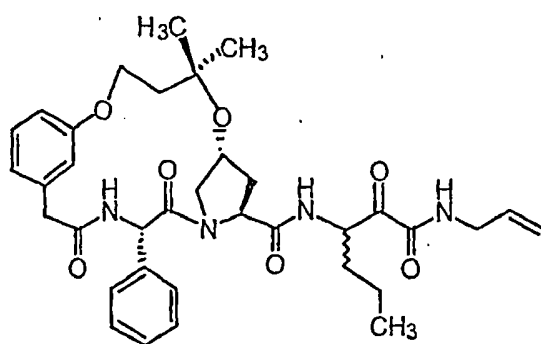
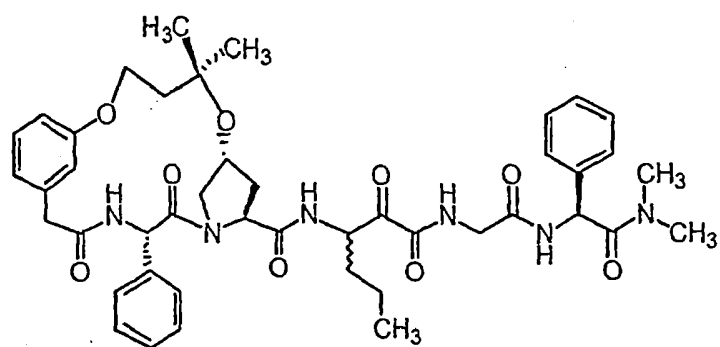


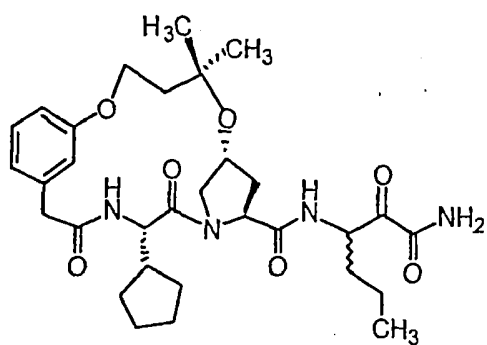
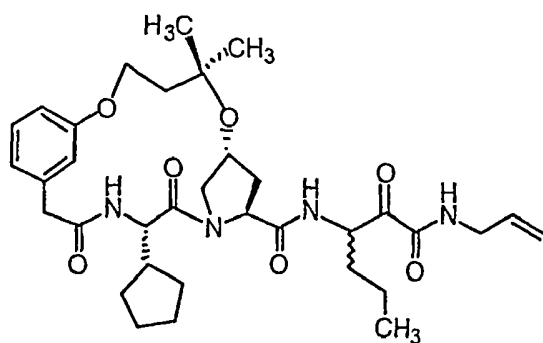
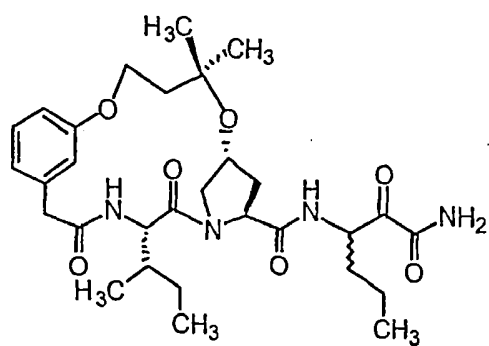
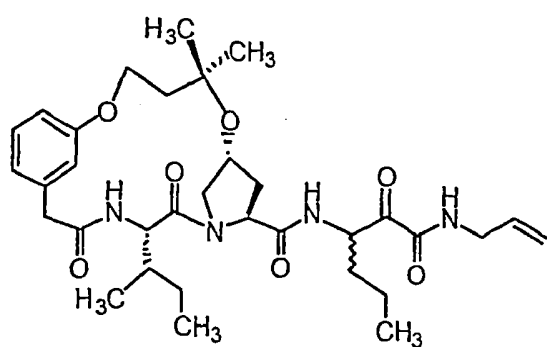


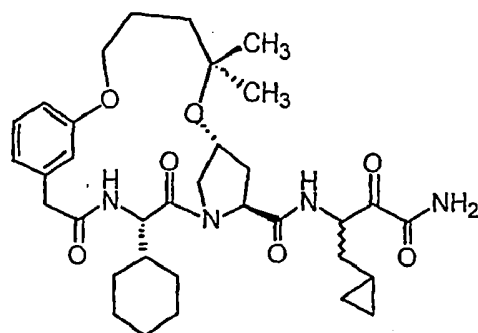
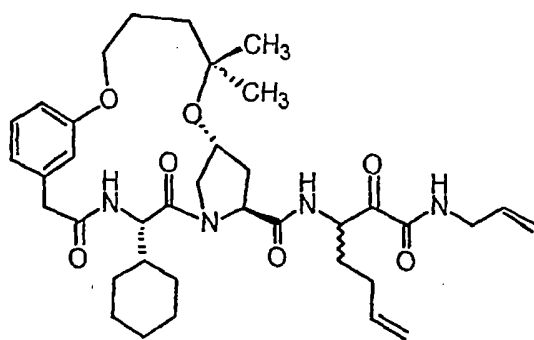
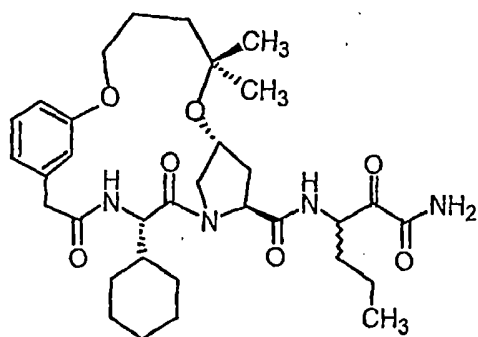
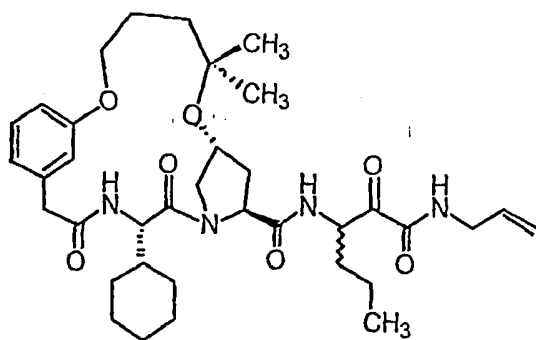


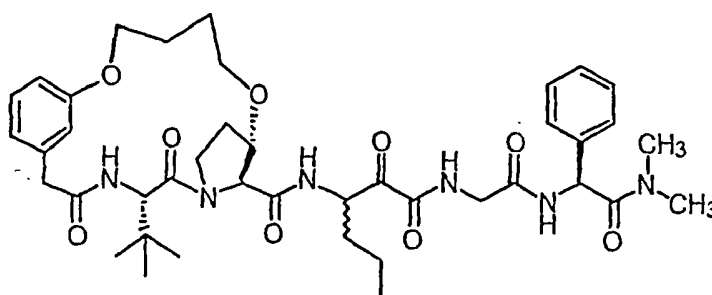
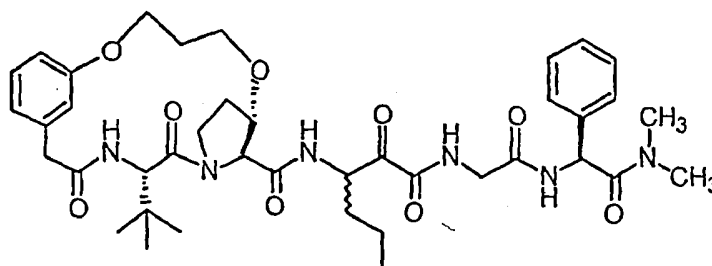












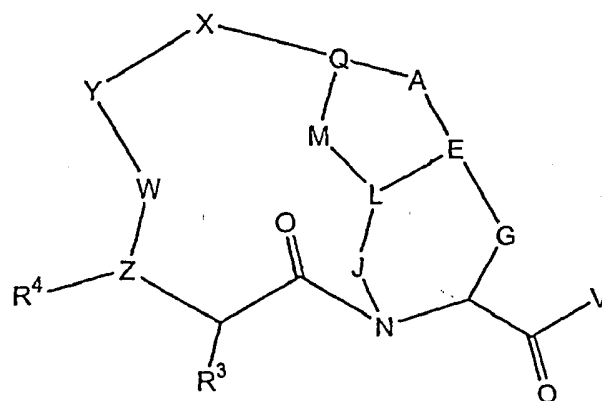
32. Farmaceutický prostriedok na liečenie porúch spojených s HCV proteázou, vyznačujúci sa tým, že obsahuje terapeuticky účinné množstvo jednej alebo viacerých makrocyclických zlúčenín podľa nároku 31 a farmaceuticky prijateľný nosič.

33. Farmaceutický prostriedok podľa nároku 32, vyznačujúci sa tým, že obsahuje antivirotikum.

34. Farmaceutický prostriedok podľa nároku 32 alebo nároku 33, vyznačujúci sa tým, že obsahuje interferón.

35. Farmaceutický prostriedok podľa nároku 34, vyznačujúci sa tým, že antivirotikom je ribavirín a interferónom je α -interferón.

36. Makrocyclické zlúčeniny podľa nároku 1 všeobecného vzorca



kde V je OR alebo NHR, pričom R je H alebo alkyl; a X, Y, Q, A, M, W, L, E, G, J, Z, R³ a R⁴ sú určené v nároku 1.