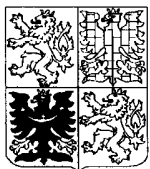


PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **10.03.1999**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **10.03.1998 11.08.1998**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1998/077610 1998/096063**

(33) Země priority: **US US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14.03.2001**
(Věstník č. 3/2001)

(86) PCT číslo: **PCT/US99/05232**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO99/45927**

(21) Číslo dokumentu:

2000 - 3289

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 213/74	A 61 K 31/44
C 07 D 239/42	A 61 K 31/4427
C 07 D 401/12	A 61 K 31/505
C 07 D 409/12	A 61 P 19/00
C 07 D 413/12	A 61 P 35/00
C 07 D 417/12	A 61 P 9/00
C 07 D 471/04	
A 61 K 31/4375	

(71) Přihlašovatel:

SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION,
Philadelphia, PA, US;

(72) Původce:

Miller William H., Collegeville, PA, US;
Gleason John G., Downingtown, PA, US;
Heerding Dirk, Malvern, PA, US;
Samanen James M., Phoenixville, PA, US;
Uzinskas Irene N., Villanova, PA, US;
Manley Peter J., Phoenixville, PA, US;

(74) Zástupce:

Zelený Pavel JUDr., Hájkova 2, Praha 2, 12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Antagonisté receptoru vitronektinu

(57) Anotace:

Řešení se týká farmaceuticky aktivních sloučenin, které inhibují receptor vitronektinu a jsou vhodné pro léčbu zánětu, zhoubných nádorových onemocnění a kardiovaskulárních onemocnění jako je ateroskleróza a restenóza, a chorob s účastí kostní resorpce jako je osteroporóza.

Antagonisté receptoru vitronektinu

Oblast techniky

Vynález se týká farmaceuticky aktivních sloučenin inhibujících receptor vitronektinu, které jsou vhodné pro léčení zánětu, zhoubných nádorových onemocnění a kardiovaskulárních chorob jako je ateroskleróza a restenóza a chorob ve kterých má svoji úlohu kostní resorpce jako je osteoporóza.

Dosavadní stav techniky

Integriny tvoří superrodinu buněčných adhezních receptorů, tvořených transmembránovými glykoproteiny exprimovanými různými buňkami. Tyto buněčné adhezní povrchové receptory zahrnují gpIIb/IIIa (receptor fibrinogenu) a $\alpha_v\beta_3$ (receptor vitronektinu). Receptor fibrinogenu gpIIb/IIIa je exprimován na povrchu trombocytů a zprostředkovává srážení trombocytů a tvorbu hemostatické sraženiny v místě krvácející rány. Philips a sp., Blood, 1988, 71, 831. Receptor vitronektinu $\alpha_v\beta_3$ je exprimován více buňkami zahrnujícími endoteliální buňky, buňky hladkého svalstva, osteoklasty a tumorové buňky, a má tedy různé funkce. Receptor $\alpha_v\beta_3$ exprimovaný membránami osteoklastů, zprostředkovává adhezi osteoklastů na kostní matrici, klíčový stupeň procesu kostní resorpce. Ross a sp., J.Biol.Chem., 1987, 262, 7703. Osteoporóza je choroba charakterizovaná nadměrnou kostní resorpcí. Receptor $\alpha_v\beta_3$ exprimovaný v buňkách lidského aortálního hladkého svalstva je prostředníkem pro jejich migraci do neointima, což je proces vedoucí po perkutánní koronární angioplastice k restenóze. Brown a sp., Brown a sp., Cardiovascular Res., 1994, 28, 1815. Kromě toho z práce Brooks

27.11.00

a sp., Cell, **1994**, 79, 1157 vyplývá, že antagonist $\alpha\upsilon\beta_3$ je prostředek schopný podpořit regresí tumoru apoptózou angiogenních krevních cév. Prostředky blokující receptor vitronektinu mohou tedy být vhodné pro léčbu chorob jako je osteoporóza, restenóza a zhoubná nádorová onemocnění.

V současnosti je známo, že jako receptor vitronektinu působí tři různé integriny označované jako $\alpha\upsilon\beta_1$, $\alpha\upsilon\beta_3$ a $\alpha\upsilon\beta_5$. Horton a sp., Int.J.Exp.Pathol., **1990**, 71,741. Receptor $\alpha\upsilon\beta_1$ váže fibronektin a vitronektin. Receptor $\alpha\upsilon\beta_3$ váže více různých ligandů zahrnujících fibrin, fibrinogen, laminin, thrombospondin, vitronektin, von Willebrandův faktor, osteopontin a kostní sialoprotein I. Bylo zjištěno, že vitronektinový receptor $\alpha\upsilon\beta_5$ je zahrnut v buněčné adhezi různých typů buněk zahrnujících mikrovaskulární epitheliální buňky (Davis a sp., J.Cell.Biol., **1993**, 51, 206) a rovněž byla potvrzena jeho úloha v angiogenezi. Brooks a sp., Science, **1994**, 264, 569. Tento integrin je exprimován v krevních cévách granulační tkáně rány u lidí, ale v normální tkáni exprimován není.

Je známo, že receptor vitronektinu se váže na proteiny kostní matrice které obsahují tripeptidovou vazbu Arg-Gly-Asp (nebo RGD). Horton s sp., Exp.Cell Res., **1991**, 195, 368, uvádějí, že peptidy obsahující RGD a protilátku vitronektinového receptoru , antivitronektin-receptor (23C6), inhibují resorpci dentinu a šíření buněk osteoklasty. Kromě toho Sato a sp., J.Cell Biol., **1990**, 111, 1713, uvádějí, že echistin, peptid hadího jedu obsahující RDG sekvencí, působí v tkáňové kultuře jako účinný inhibitor kostní resorpce a inhibuje připojení osteoklastů ke kosti.

Nyní bylo zjištěno, že určité sloučeniny jsou účinnými

27.11.00

inhibitory $\alpha_v\beta_3$ a $\alpha_v\beta_5$ receptorů. Zejména bylo zjištěno, že tyto sloučeniny účinněji inhibuje receptor vitronektinu než receptor fibrinogenu.

Podstata vynálezu

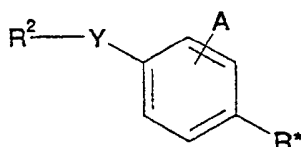
Vynález zahrnuje dále popsané sloučeniny obecného vzorce (I), které vykazují farmakologickou aktivitu zahrnující inhibici receptoru vitronektinu a jsou vhodné pro léčení zánětu, zhoubných nádorových onemocnění a kardiovaskulárních chorob jako je ateroskleróza a restenóza a chorob ve kterých má svoji úlohu kostní resorpce jako je osteoporóza.

Vynález rovněž zahrnuje farmaceutickou kompozici obsahující sloučeninu obecného vzorce (I) a farmaceuticky přijatelný nosič.

Vynález dále zahrnuje způsob léčby chorob zprostředkovaných receptorem vitronektinu. Podle jednoho aspektu vynálezu jsou sloučeniny podle vynálezu vhodné pro léčbu aterosklerózy, restenózy, zánětu a chorob ve kterých má svoji účast kostní resorpce jako je osteoporóza.

Podrobný popis vynálezu

Vynález zahrnuje nové sloučeniny které jsou účinnějšími inhibitory receptoru vitronektinu než receptoru fibrinogenu. Sloučeniny podle vynálezu mají obecný vzorec (I):

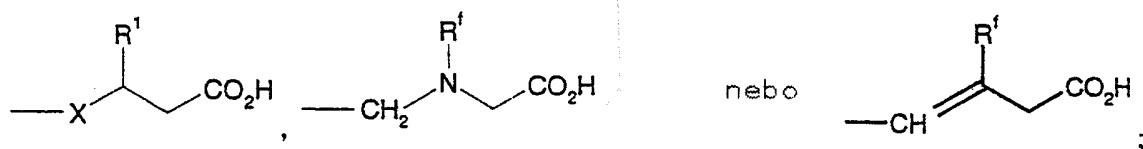


(I)

27.11.00

ve kterém

R* znamená



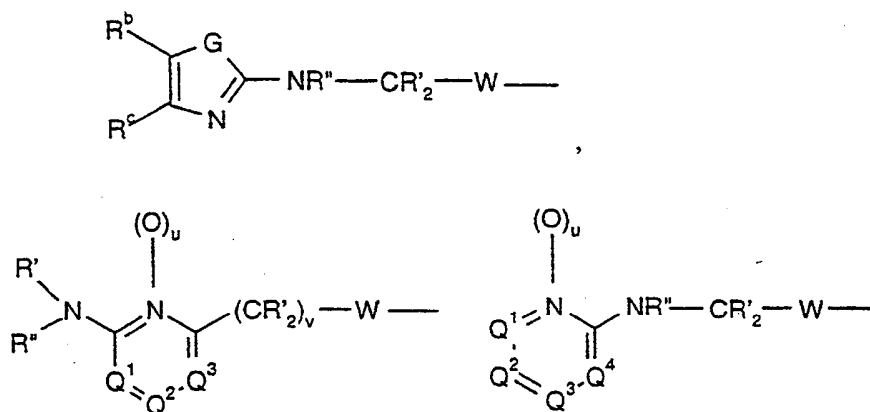
X znamená CR'R', NR', O nebo S;

Y znamená CR'R', NR', O nebo S;

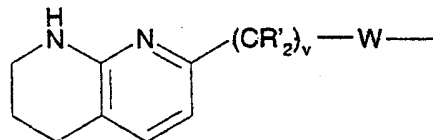
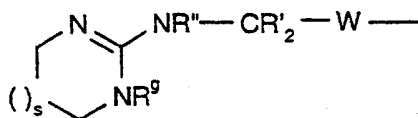
A znamená skupinu ze skupiny zahrnující zahrnující H, halogen, —OR^a, —SR^a, —CN, —NR^aR^k, —NO₂, —CF₃, —S(O)_rCF₃, —CO₂R^a, —COR^a, —CONR^a₂C₁₋₆alkyl, —Co-6alkyl-Ar, —Co-6alkyl-Het, —Co-6alkyl-C₃₋₆cykloalkyl, —S(O)_kR^a, a CH₂N(R^f)₂;

R¹ znamená skupinu ze skupiny zahrnující —Co-6alkyl-Het, —Co-6alkyl-Ar, —C₁₋₆alkyl, —H, —CN, —CH=CH₂, —C≡CH a —S(O)_kR^a;

R² znamená



27.11.00



nebo

W znamená $-(CHR^g)_a-U-(CHR^g)_b-$;

U nemá žádný význam nebo znamená CO, CR^g_2 , $C(=CR^g_2)$, $S(O)_k$, O, NR^g , CR^gOR^g , $CR^g(OR^k)CR^g_2$, $CR^g_2CR^g(OR^k)$, $C(O)CR^g_2$, $CR^g_2C(O)$, $CONR^i$, NR^iCO , $OC(O)$, $C(O)O$, $C(S)O$, $OC(S)$, $C(S)NR^g$, $NR^gC(S)$, $S(O)_2NR^g$, $NR^gS(O)_2N=N$, NR^gNR^g , $NR^gCR^g_2$, $CR^g_2NR^g$, CR^g_2O , OCR^g_2 , $C\equiv C$, $CR^g=CR^g$, Ar nebo Het;

G znamená NR^g , S nebo O;

R^g znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-6alkyl, Het-Co-6alkyl, C₃-7cykloalkyl-Co-6alkyl, a Ar-Co-6alkyl;

R^k znamená R^g , $-C(O)R^g$, nebo $-C(O)OR^f$;

R^i znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-6alkyl, Het-Co-6alkyl, C₃-7cykloalkyl-Co-6alkyl, Ar-Co-6alkyl, nebo C₁-6alkyl substituovaný jednou až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CN, NR^g_2 , OR^g , SR^g , CO_2R^g a $CON(R^g)_2$;

R^f znamená H, C₁-6alkylovou nebo Ar-Co-6alkylovou skupinu;

27.11.00

R^e znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-6alkyl, Ar-Co-6alkyl, Het-Co-6alkyl, C₃-7cykloalkyl-Co-6alkyl, a $(CH_2)_kCO_2R^g$;

R^b a R^c nezávisle znamenají skupinu zvolenou ze skupiny zahrnující H, C₁-6alkyl, Ar-Co-6alkyl, Het-Co-6alkyl nebo C₃-6cykloalkyl-Co-6alkyl, halogen, CF₃, OR^f, S(O)_kR^f, COR^f, NO₂, N(R^f)₂, CO(NR^f)₂, CH₂N(R^f)₂, nebo R^b a R^c vzájemně spojené tvoří pětičlenný nebo šestičlenný aromatický nebo nearomatický, karbocyklický nebo heterocyklický kruh, případně substituovaný až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CF₃, C₁-4alkyl, OR^f, S(O)_kR^f, COR^f, CO₂R^f, OH, NO₂, N(R^f)₂, CO(NR^f)₂ a CH₂N(R^f)₂; nebo methylenedioxykupinu;

Q¹, Q², Q³ a Q⁴ nezávisle znamenají N nebo C-R^y s výhradou, že nejvýše jeden ze skupiny zahrnující Q¹, Q², Q³, a Q⁴ znamená N;

R' znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-6alkyl, Ar-Co-6alkyl, a C₃-6cykloalkyl-Co-6alkyl;

R'' znamená R' , -C(O) R' nebo C(O)OR['];

R^y znamená H, halogen, -OR^g, -SR^g, -CN, -NR^gR^k, -NO₂, -CF₃, -CF₃S(O)_r-, -CO₂R^g, -COR^g nebo -CONR^g₂, nebo C₁-6alkylovou skupinu případně substituovanou halogenem, -OR^g, -SR^g, -CN, -NR^gR'', -NO₂, -CF₃, R'[']S(O)_r-, -CO₂R^g, -COR^g nebo -CONR^g₂;

a znamená 0, 1 nebo 2;

b znamená 0, 1 nebo 2;

k znamená 0, 1 nebo 2

27.11.00

r znamená 0, 1 nebo 2;

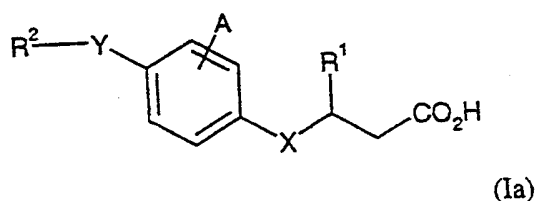
s znamená 0, 1 nebo 2;

u znamená 0 nebo 1; a

v znamená 0 nebo 1;

nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Výhodně vynález zahrnuje sloučeniny obecného vzorce (I) mající obecný vzorec (Ia):



kde

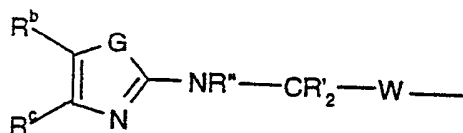
X znamená CR'R', NR', O nebo S;

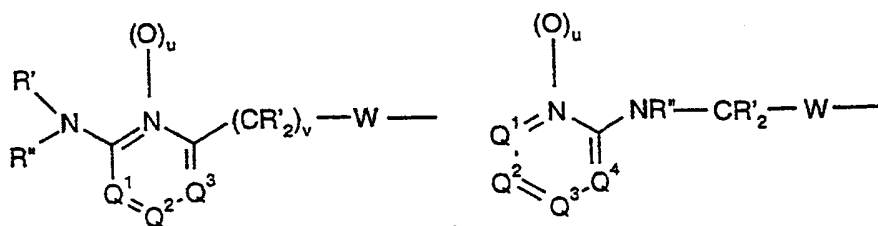
Y znamená CR'R', NR', O nebo S;

A znamená skupinu ze skupiny zahrnující zahrnující H, halogen, -OR^a, -SR^a, -CN, -NR^aR^k, -NO₂, -CF₃, -S(O)_rCF₃, -CO₂R^a, -COR^a, -CONR^a₂C₁₋₆alkyl, -Co-6alkyl-Ar, -Co-6alkyl-Het, -Co-6alkyl-C₃₋₆cykloalkyl, -S(O)_kR^a, a CH₂N(R^f)₂;

R¹ znamená skupinu ze skupiny zahrnující -Co-6alkyl-Het, -Co-6alkyl-Ar, -H, -CN, a -S(O)_kR^a;

R² znamená




$$\text{(})_s \begin{array}{c} \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{NR}'' - \text{CR}'_2 - \text{W} - \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{NR}^g \end{array}$$

Rⁱ znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-alkyl, Het-Co-alkyl, C₃-cykloalkyl-Co-alkyl, Ar-Co-alkyl, nebo

C₁-alkyl substituovaný jednou až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CN, NR^a₂, OR^a, SR^a, CO₂R^a a CON(R^a)₂;

R^f znamená H, C₁-alkylovou nebo Ar-Co-alkylovou skupinu;

R^e znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-alkyl, Ar-Co-alkyl, Het-Co-alkyl, C₃-7cykloalkyl-Co-alkyl, a (CH₂)_kCO₂R^a;

R^b a R^c nezávisle znamenají skupinu zvolenou ze skupiny zahrnující H, C₁-alkyl, Ar-Co-alkyl, Het-Co-alkyl nebo C₃-6cykloalkyl-Co-alkyl, halogen, CF₃, OR^f, S(O)_kR^f, COR^f, NO₂, N(R^f)₂, CO(NR^f)₂, CH₂N(R^f)₂, nebo R^b a R^c vzájemně spojené tvoří pětičlenný nebo šestičlenný aromatický nebo nearomatický, karbocyklický nebo heterocyklický kruh, případně substituovaný až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CF₃, C₁-4alkyl, OR^f, S(O)_kR^f, COR^f, CO₂R^f, OH, NO₂, N(R^f)₂, CO(NR^f)₂ a CH₂N(R^f)₂; nebo methylen-dioxyskupinu;

Q¹, Q², Q³ a Q⁴ nezávisle znamenají N nebo C-R^y s výhradou, že nejvýše jeden ze skupiny zahrnující Q¹, Q², Q³, a Q⁴ znamená N;

R' znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-alkyl, Ar-Co-alkyl, a C₃-6cykloalkyl-Co-alkyl;

R'' znamená R', -C(O)R' nebo C(O)OR';

R^y znamená H, halogen, -OR^a, -SR^a, -CN, -NR^aR^k, -NO₂, -CF₃, -CF₃S(O)_r-, -CO₂R^a, -COR^a nebo -CONR^a₂, nebo

C₁-alkylovou skupinu případně substituovanou halogenem, -OR^a, -SR^a, -CN, -NR^aR', -NO₂, -CF₃, R'S(O)_r-, -CO₂R^a, -COR^a nebo -CONR^a₂;

a znamená 0, 1 nebo 2;

b znamená 0, 1 nebo 2;

k znamená 0, 1 nebo 2

r znamená 0, 1 nebo 2;

s znamená 0, 1 nebo 2;

u znamená 0 nebo 1; a

v znamená 0 nebo 1;

nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Vynález také zahrnuje farmaceuticky přijatelné adiční soli a komplexy sloučenin podle vynálezu. V případech, kdy sloučeniny podle vynálezu obsahují jedno nebo více chirálních center, vynález, pokud není uvedeno jinak, zahrnuje každou z jednotlivých neracemických sloučenin kterou lze připravit a štěpit obvyklými způsoby. V případech, kdy sloučeniny podle vynálezu obsahují nenasycené dvojné vazby uhlík-uhlík, vynález zahrnuje jak cis (Z) tak trans (E) isomery. V případech, kdy sloučeniny podle vynálezu mohou existovat v tautomerních formách, jako jsou keto-enol tautomery vzorce



a



, předpokládá se že vynález zahrnuje

každou z tautomerních forem bez ohledu na to, zda existují v rovnovážném stavu nebo v jedné z forem zablokované vhodnou substitucí substituentem R'.

Sloučeniny obecného vzorce (I) inhibují vazbu vitronektinu a dalších peptidů obsahujících RGD na receptor

vitronektinu. Inhibice receptoru vitronektinu na osteoklastech inhibuje osteoklasty vyvolanou kostní resorpcí a je vhodná k léčbě chorob ve kterých patologický stav souvisí s kostní resorpcí, jako je osteoporóza a osteoartritida.

Dalším aspektem vynálezu je způsob stimulace tvorby kostí který zahrnuje podávání sloučeniny zvyšující uvolňování osteokalcinu. Zvýšená tvorba kostní hmoty je vysloveně žádoucí u chorob, kde je žádoucí zmenšit množství mineralizované kostní hmoty nebo v případě přestavky kostí jako je hojení fraktur a v případě prevence fraktur kostí. Tento způsob léčby může také být vhodný u chorob a metabolických poruch, které vedou ke ztrátě kostní struktury. Podávání sloučeniny podle vynálezu může být prospěšné u chorob jako je například hyperparatyreóza, Pagetova nemoc, hyperkalcémie při maligním onemocnění, osteolytické léze při kostních metastázách, úbytek kostní hmoty při nehybnosti nebo při nedostatku pohlavních hormonů, Behcetův syndrom, osteomalacie, hyperostóza a osteopetróza.

Navíc, protože sloučeniny podle vynálezu inhibují vitronektinové receptory na více typech různých buněk, uvedené sloučeniny mohou být vhodné při léčbě zánětlivých chorob jako je revmatoidní artritida a psoriáza, a při léčbě kardiovaskulárních chorob jako je aterosklerza a restenóza. Sloučeniny obecného vzorce (I) mohou být prospěšné i při léčbě dalších chorob zahrnujících, ale bez omezení jen na ně, tromboembolická onemocnění, astma, alergie, úzkostný respirační syndrom dospělých, reakci hostitele na štěp, rejekci transplantovaného orgánu, septický šok, ekzém, kontaktní ekzém, zánětlivá choroba střev a další autoimunitní onemocnění. Sloučeniny podle vynálezu mohou také přispívat k hojení ran.

Sloučeniny podle vynálezu jsou rovněž vhodné pro léčbu včetně prevence angiogenních chorob. Výraz angiogenní choroby použitý v tomto textu zahrnuje stavý zahrnující abnormální neovaskularizací. V případech, kdy tvorba nových krevních cév vyvolává nebo přispívá k patologickému stavu souvisejícímu s chorobou, inhibice angiogeneze vede ke snížení škodlivých projevů choroby. Příkladem takového chorobného stavu je diabetická retinopatie. V případech, kdy růst nových cév je potřebný k zajištění růstu nežádoucí škodlivé tkáně, inhibice angiogeneze snižuje zásobování těchto tkání krví a tím přispívá ke snížení množství tkání závislých na jejich zásobování potřebným množstvím krve. Jako příklad lze uvést růst tumorů, kde neovaskularizace tvoří trvalý předpoklad pro růst tumorů a vznik metastáz solidních tumorů. Sloučeniny podle vynálezu tedy inhibují angiogenezi tumorové tkáně a tím zabraňují růstu tumoru a tvorbě metastáz tumoru.

Způsoby podle vynálezu, inhibicí angiogeneze s použitím sloučenin podle vynálezu, je možné mírnit symptomy uvedených chorob a v některých případech je léčit.

Další terapeutický cíl sloučenin podle vynálezu jsou oční choroby charakterizované neovaskularizací. Takovéto oční choroby zahrnují korneální neovaskulární choroby, jako je transplantace rohovky, herpetická keratitida, luetická keratitida, pterygium a neovaskulární pannus související s použitím kontaktních čoček. Další oční onemocnění zahrnují makulární degeneraci spojenou se stářím, pavděpodobnou oční histoplazmózu, retrolentální retinopatii a neovaskulární glaukom.

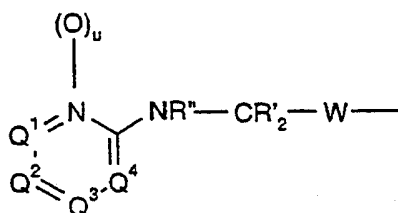
Vynález dále poskytuje způsob inhibice růstu tumoru,

27.11.00

který zahrnuje postupné podávání nebo podávání fyzikální kombinace sloučeniny vzorce (I) a antineoplastika jako je topotekan nebo cisplatina.

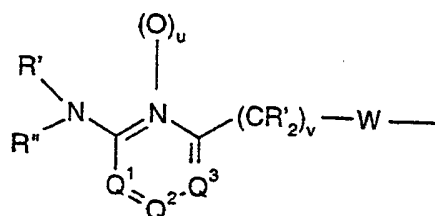
V obecném vzorci (I) a (Ia):

R² výhodně znamená



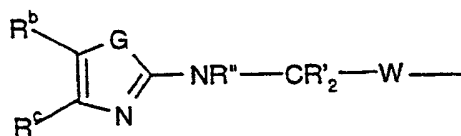
kde každý ze substituentů Q¹, Q² a Q³ znamená CR^y, Q⁴ znamená CR^y nebo N, u znamená O, a výhodně každý substituent R' znamená H, R'' znamená H nebo C₁-alkylovou skupinu, W znamená -(CH₂)₁₋₄-, Q⁴ znamená CR^y a R^y znamená H.

Alternativně R² znamená



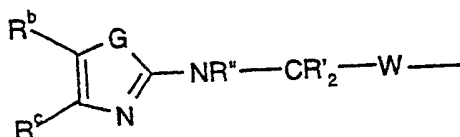
kde každý ze substituentů Q¹, Q² a Q³ znamená CH a u znamená O, a výhodně každý substituent R' znamená H, R'' znamená H nebo C₁-alkylovou skupinu, W znamená -CH₂-CH₂- a v znamená O.

Alternativně R² znamená



kde G znamená NH a R^b a R^c každý znamená H, a W výhodně znamená $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$.

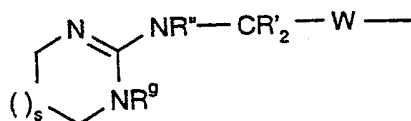
Alternativně R^2 znamená



kde G znamená NH a R^b a R^c jsou vzájemně spojené za vzniku pětičlenného nebo šestičlenného aromatického nebo nearomatického karbocyklického nebo heterocyklického kruhu, případně substituovaného až třemi substituenty které znamenají skupinu zvolenou ze skupiny zahrnující halogen, CF_3 , $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$, OR^f , $\text{S}(\text{O})_k\text{R}^f$, COR^f , CO_2R^f , OH , NO_2 , $\text{N}(\text{R}^f)_2$, $\text{CO}(\text{NR}^f)_2$ a $\text{CH}_2\text{N}(\text{R}^f)_2$; nebo methylenedioxy skupinu. Výhodně jsou R^b a R^c vzájemně spojené za tvorby šestičlenného aromatického karbocyklického nebo heterocyklického kruhu a W znamená $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$.

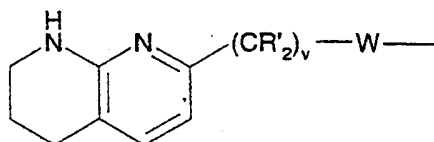
Alternativně R^2 znamená

27.11.00



kde každý každý substituent R^1 znamená H, $R^{1'}$ znamená H nebo C₁-alkylovou skupinu, R^9 znamená H nebo C₁-alkylovou skupinu a s znamená 0, 1 nebo 2, a W výhodně znamená -CH₂-CH₂-.

Alternativně R^2 znamená



kde v znamená 0 a W znamená -CH₂-CH₂-.

V obecném vzorci (I) R^1 vhodně znamená skupinu ze skupiny zahrnující fenylyl, benzyl, pyridyl, imidazolyl, oxazolyl nebo thiazolyl. Výhodně znamená fenylovou skupinu. Výhodně Y znamená O nebo CH₂ a X znamená NH nebo CH₂. Výhodně Y znamená O.

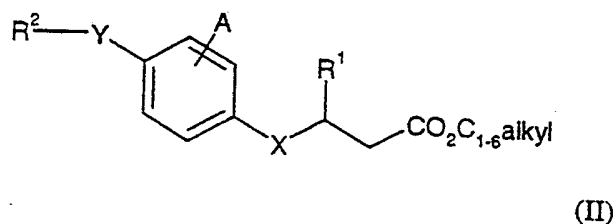
Typické nové sloučeniny podle vynálezu jsou sloučeniny uvedené v dále uvedených příkladech 1-43.

V případech kdy sloučeniny podle vynálezu obsahují jedno nebo více chirálních center, vynález, pokud není uvedeno jinak, zahrnuje každou z jednotlivých neracemických sloučenin

kterou lze připravit a štěpit obvyklými způsoby. U sloučenin podle vynálezu obecného vzorce (I) je výhodná konfigurace (S).

V případech, kdy sloučeniny podle vynálezu obsahují nenasycené dvojné vazby uhlík-uhlík, vynález zahrnuje jak *cis* (Z) tak *trans* (E) isomery. Význam kteréhokoli substituentu v kterémkoli místě výskytu je nezávislý na jeho významu v jiném místě výskytu nebo na významech jiných substituentů.

Vynález rovněž zahrnuje proléčiva sloučenin podle vynálezu. Za proléčiva se pokládají všechny nosiče s kovalentní vazbou uvolňující *in vivo* mateřské léčivo vzorce (I). Dalším aspektem vynálezu jsou tedy nová proléčiva, která jsou rovněž meziprodukty při přípravě sloučenin obecného vzorce (Ia), sloučeniny obecného vzorce (II):



kde

X znamená CR'R', NR', O nebo S;

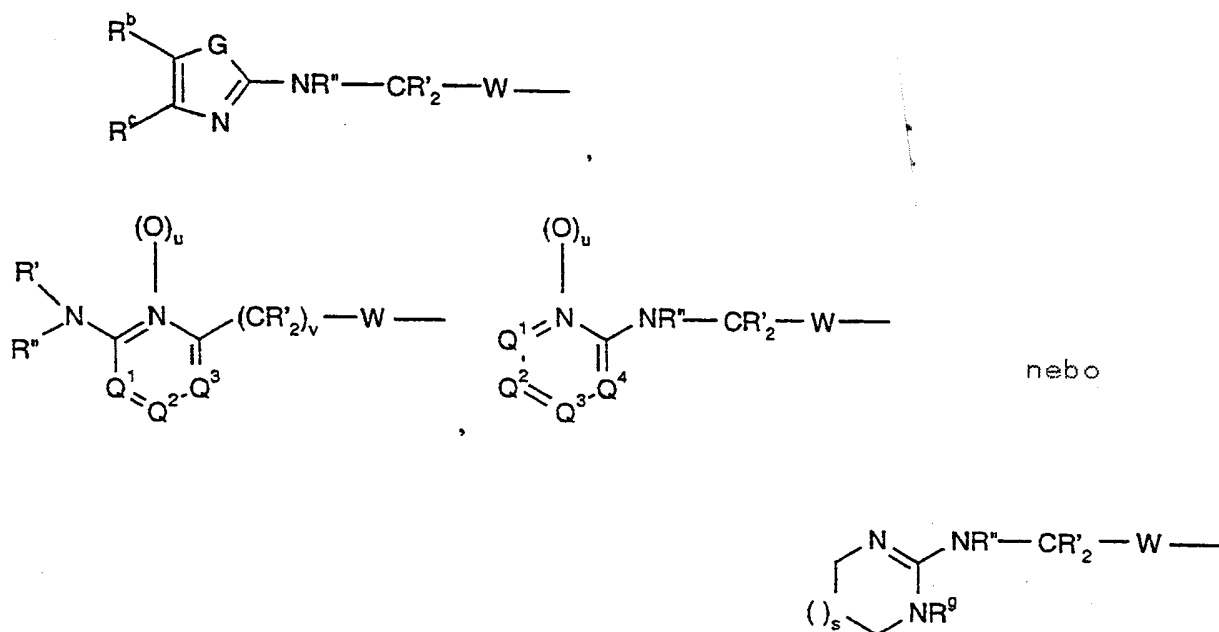
Y znamená CR'R', NR', O nebo S;

A znamená skupinu ze skupiny zahrnující zahrnující H, halogen, -OR^a, -SR^a, -CN, -NR^aR^k, -NO₂, -CF₃, -S(O)_rCF₃, -CO₂R^a, -COR^a, -CONR^a₂C₁₋₆alkyl, -C₆-6alkyl-Ar,

-Co-6alkyl-Het, -Co-6alkyl-C3-6cykloalkyl, -S(O)_kR^g, a
CH₂N(R^f)₂;

R¹ znamená skupinu ze skupiny zahrnující -Co-6alkyl-Het,
-Co-6alkyl-Ar, H, -CN, a -S(O)_kR^g;

R² znamená



W znamená -(CHR^g)_a-U-(CHR^g)_b-;

U nemá žádný význam nebo znamená CO, CR^g₂, C(=CR^g₂),
S(O)_k, O, NR^g, CR^gOR^g, CR^g(OR^k)CR^g₂, CR^g₂CR^g(OR^k), C(O)CR^g₂,
CR^g₂C(O), CONRⁱ, NRⁱCO, OC(O), C(O)O, C(S)O, OC(S), C(S)NR^g,
NR^gC(S), S(O)₂NR^g, NR^gS(O)₂N=N, NR^gNR^g, NR^gCR^g₂, CR^g₂NR^g,
CR^g₂O, OCR^g₂, C≡C, CR^g=CR^g, Ar nebo Het;

G znamená NR^g, S nebo O;

R^g znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-alkyl, Het-Co-alkyl, C₃-7cykloalkyl-Co-alkyl, a Ar-Co-alkyl;

R^k znamená R^g , $-C(O)R^g$, nebo $-C(O)OR^f$;

R^i znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-alkyl, Het-Co-alkyl, C₃-7cykloalkyl-Co-alkyl, Ar-Co-alkyl, nebo C₁-alkyl substituovaný jednou až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CN, NR^g_2 , OR^g , SR^g , CO_2R^g a $CON(R^g)_2$;

R^f znamená H, C₁-alkylovou nebo Ar-Co-alkylovou skupinu;

R^e znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-alkyl, Ar-Co-alkyl, Het-Co-alkyl, C₃-7cykloalkyl-Co-alkyl, a $(CH_2)_kCO_2R^g$;

R^b a R^c nezávisle znamenají skupinu zvolenou ze skupiny zahrnující H, C₁-alkyl, Ar-Co-alkyl, Het-Co-alkyl nebo C₃-6cykloalkyl-Co-alkyl, halogen, CF_3 , OR^f , $S(O)_kR^f$, COR^f , NO_2 , $N(R^f)_2$, $CO(NR^f)_2$, $CH_2N(R^f)_2$, nebo R^b a R^c vzájemně spojené tvoří pětičlenný nebo šestičlenný aromatický nebo nearomatický, karbocyklický nebo heterocyklický kruh, případně substituovaný až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CF_3 , C₁-4alkyl, OR^f , $S(O)_kR^f$, COR^f , CO_2R^f , OH, NO_2 , $N(R^f)_2$, $CO(NR^f)_2$ a $CH_2N(R^f)_2$; nebo methylenedioxykupinu;

Q^1 , Q^2 , Q^3 a Q^4 nezávisle znamenají N nebo C- R^y s výhradou, že nejvýše jeden ze skupiny zahrnující Q^1 , Q^2 , Q^3 , a Q^4 znamená N;

R' znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-alkyl,

27.11.00

Ar-Co-alkyl, a C₃-cykloalkyl-Co-alkyl;

R' znamená R', -C(O)R' nebo C(O)OR';

R^y znamená H, halogen, -OR^g, -SR^g, -CN, -NR^gR^k, -NO₂, -CF₃, -CF₃S(O)_r-, -CO₂R^g, -COR^g nebo -CONR^g₂, nebo C₁-alkylovou skupinu případně substituovanou halogenem, -OR^g, -SR^g, -CN, -NR^gR', -NO₂, -CF₃, R'S(O)_r-, -CO₂R^g, -COR^g nebo -CONR^g₂;

a znamená 0, 1 nebo 2;

b znamená 0, 1 nebo 2;

k znamená 0, 1 nebo 2

r znamená 0, 1 nebo 2;

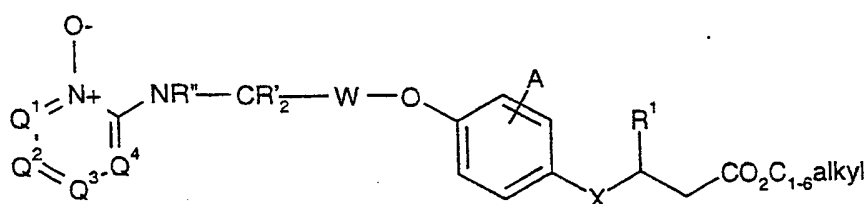
s znamená 0, 1 nebo 2;

u znamená 0 nebo 1; a

v znamená 0 nebo 1;

nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Podle ještě dalšího aspektu vynález poskytuje nové meziprodukty obecného vzorce (III)



(III)

kde

X znamená $CR'R'$, NR' , O nebo S;

Y znamená $CR'R'$, NR' , O nebo S;

A znamená skupinu ze skupiny zahrnující zahrnující H, halogen, $-OR^g$, $-SR^g$, $-CN$, $-NR^gR^k$, $-NO_2$, $-CF_3$, $-S(O)_rCF_3$, $-CO_2R^g$, $-COR^g$, $-CONR^g_2C_1-6alkyl$, $-Co-6alkyl-Ar$, $-Co-6alkyl-Het$, $-Co-6alkyl-C_3-6cykloalkyl$, $-S(O)_kR^g$, a $CH_2N(R^f)_2$;

R^1 znamená skupinu ze skupiny zahrnující $-Co-6alkyl-Het$, $-Co-6alkyl-Ar$, H, $-CN$, a $-S(O)_kR^g$;

W znamená $-(CHR^g)_a-U-(CHR^g)_b-$;

U nemá žádný význam nebo znamená CO, CR^g_2 , $C(=CR^g_2)$, $S(O)_k$, O, NR^g , CR^gOR^g , $CR^g(OR^k)CR^g_2$, $CR^g_2CR^g(OR^k)$, $C(O)CR^g_2$, $CR^g_2C(O)$, $CONR^f$, NR^fCO , $OC(O)$, $C(O)O$, $C(S)O$, $OC(S)$, $C(S)NR^g$, $NR^gC(S)$, $S(O)_2NR^g$, $NR^gS(O)_2N=N$, NR^gNR^g , $NR^gCR^g_2$, $CR^g_2NR^g$, CR^g_2O , OCR^g_2 , $C\equiv C$, $CR^g=CR^g$, Ar nebo Het;

R^g znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, $C_1-6alkyl$, $Het-Co-6alkyl$, $C_3-7cykloalkyl-Co-6alkyl$, a $Ar-Co-6alkyl$;

R^k znamená R^g , $-C(O)R^g$, nebo $-C(O)OR^f$;

R^f znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, $C_1-6alkyl$, $Het-Co-6alkyl$, $C_3-7cykloalkyl-Co-6alkyl$, $Ar-Co-6alkyl$, nebo $C_1-6alkyl$ substituovaný jednou až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CN, NR^g_2 , OR^g , SR^g , CO_2R^g a

$\text{CON}(\text{R}^g)_2$;

R^f znamená H, C₁-alkylovou nebo Ar-Co-alkylovou skupinu;

Q^1 , Q^2 , Q^3 a Q^4 nezávisle znamenají N nebo C- R^y s výhradou, že nejvýše jeden ze skupiny zahrnující Q^1 , Q^2 , Q^3 , a Q^4 znamená N;

R' znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-alkyl, Ar-Co-alkyl, a C₃-cykloalkyl-Co-alkyl;

R'' znamená R' , $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ nebo $\text{C}(\text{O})\text{OR}'$;

R^y znamená H, halogen, $-\text{OR}^g$, $-\text{SR}^g$, $-\text{CN}$, $-\text{NR}^g\text{R}^k$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CF}_3\text{S}(\text{O})\text{r}-$, $-\text{CO}_2\text{R}^g$, $-\text{COR}^g$ nebo $-\text{CONR}^g_2$, nebo C₁-alkylovou skupinu případně substituovanou halogenem, $-\text{OR}^g$, $-\text{SR}^g$, $-\text{CN}$, $-\text{NR}^g\text{R}''$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CF}_3$, $\text{R}'\text{S}(\text{O})\text{r}-$, $-\text{CO}_2\text{R}^g$, $-\text{COR}^g$ nebo $-\text{CONR}^g_2$;

a znamená 0, 1 nebo 2; a

b znamená 0, 1 nebo 2;

nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli.

V popisu sloučenin podle vynálezu jsou použité zkratky a symboly obvykle používané v oboru peptidů a chemie. Zkratky aminokyselin jsou obecně podle zásad IUPAC-IOB Joint Commission on Biochemical Nomenclature popsanych v Eur.J.Biochem, 158, 9 (1984).

Výraz C₁-4alkyl použitý v tomto textu znamená případně substituovanou alkylovou skupinu o 1 až 4 atomech uhlíku,

zahrnující methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, isobutyl a terc.butyl. C₁-6alkyl navíc zahrnuje pentyl, isopentyl, neopentyl a hexyl a jeho jednoduché alifatické isomery. Výraz C₀-4alkyl a C₀-6alkyl navíc indikuje, že nemusí být přítomná žádná alkylová skupina (přítomná je například kovalentní vazba).

Každá C₁-4alkylová nebo C₁-6alkylová, C₂-6alkenylová, C₂-6alkinylová nebo C₁-6oxoalkylová skupina může být případně substituovaná skupinou R^x na kterémkoli atomu jestliže výsledná struktura je stabilní a způsob přípravy je možný obvyklými způsoby syntézy. Vhodné skupiny které může znamenat skupina R^x zahrnují C₁-4alkyl, OR', SR', C₁-4alkylsulfonyl, C₁-4alkylsulfoxyl, -CN, N(R')₂, CH₂N(R')₂, -NO₂, -CF₃, -CO₂R', -CON(R')₂, -COR', -SO₂N(R')₂, -NR'C(O)R', C, Cl, Br, I nebo CF₃S(O)_r-, kde r znamená 0, 1 nebo 2.

"Halogen" znamená F, Cl, Br, a I.

Výraz "Ar nebo aryl" použitý v tomto textu znamená fenylovou nebo naftylovou skupinu, nebo fenylovou nebo naftylovou skupinu substituovanou jedním až třemi substituenty popsanými výše pro substituci alkylové skupiny zejména znamenajícími skupinu zahrnující C₁-alkyl, C₁-4alkoxy, C₁-4alkylthio, CF₃, NH₂, OH, F, Cl, Br a I.

Výraz "Het nebo heterocyklus" znamená případně substituovaný pětičlenný nebo šestičlenný monocyklický kruh, nebo devítičlenný nebo desetičlenný bicyklický kruh, obsahující jeden až tři heteroatomy zvolené ze skupiny zahrnující dusík, kyslík a síru, kterou jsou stabilní a jejich příprava je možná obvyklými způsoby chemické syntézy. Příklady heterocyklů zahrnují benzofuran, benzimidazol,

benzopyran, benzothiofen, benzothiazol, furan, imidazol, indolin, morfolin, piperidin, piperazin, pyrrol, pyrrolidin, tetrahydropyridin, pyridin, thiazol, oxazol, thiofen, chinolin, isochinolin, a tetra- a perhydrochinolin a isochinolin. Vynález zahrnuje rovněž heterocykly substituované na heterocyklickém kruhu až třemi substituenty popsanými výše pro substituci alkylové skupiny, které lze připravit obvyklými způsoby chemické syntézy a které jsou stabilní.

Výraz "C₃-cykloalkyl" znamená případně substituovaný karbocyklický systém obsahující tři až sedm atomů uhlíku, který může obsahovat až dvě nenasycené vazby uhlík-uhlík. Typické C₃-cykloalkylové skupiny zahrnují cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl, cyklohexyl, cyklohexenyl a cykloheptyl. Vynález zahrnuje rovněž cykloalkylové skupiny substituované na cykloalkylovém kruhu až třemi substituenty popsanými výše pro substituci alkylové skupiny, které lze připravit obvyklými způsoby chemické syntézy a které jsou stabilní.

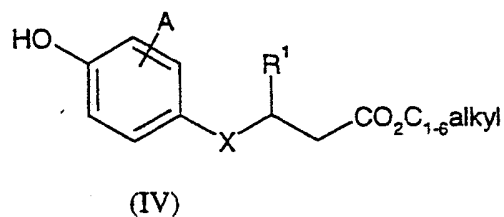
Jestliže R^b a R^c jsou vzájemně spojené za vzniku pěti- nebo šestičlenného aromatického nebo nearomatického karbocyklického nebo heterocyklického kruhu kondenzovaného na kruh, ke kterému jsou R^b a R^c připojené, vzniklý kruh je obecně pěti- nebo šestičlenný heterocyklus typů uvedených výše pro Het, nebo to je fenylový, cyklohexylový nebo cyklopentylový kruh. Výhodně R^b a R^c tvoří skupinu -D₁=D₂-D₃=D₄-, kde D₁-D₄ nezávisle znamenají CH, N, nebo C-R_x, s výhradou, že nejvýše dva z D₁-D₄ znamenají N. Nejvýhodnější je, když R^b a R^c se vzájemně spojí za tvorby skupiny -CH=CH-CH=CH-.

Určité radikálové skupiny jsou v tomto popise uvedené ve

formě zkratk. Zkratka t-Bu znamená terc.butyloxykarbonylový radikál, Fmoc znamená fluorenylmethoxykarbonylový radikál, Ph znamená fenylový radikál, Cbz znamená benzyloxykarbonylový radikál, Bn znamená benzylový radikál, Me znamená metylovou skupinu, Et znamená ethylovou skupinu, Ac znamená acylovou skupinu, Alk znamená C₁-4alkylovou skupinu, Nph znamená 1- nebo 2-naftylovou skupinu a cHex znamená cyklohexylovou skupinu. Tet znamená 5-tetrazolylskupinu.

Rovněž určitá reakční činidla jsou uvedena formou zkratk. DCC znamená dicyklohexylkarbodiimid, DMAP znamená dimethylaminopyridin, DIEA znamená diisopropylethylamin, EDC znamená 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimid-hydrochlorid, HOBt znamená 1-hydroxybenzotriazol, THF znamená tetrahydrofuran, DIEA znamená diisopropylethylamin, DEAD znamená diethylazodikarboxylat, PPh₃ znamená trifenylfosfin, DIAD znamená diisopropylazodikarboxylat, DME znamená dimethoxyethan, DMF znamená dimethylformamid, NBS znamená N-bromsukcinimid, Pd/C znamená palladiový katalyzátor na uhlíku, PPA znamená kyselinu polyfosforečnou, DPPA znamená difenylfosforylazid, BOP znamená benzotriazol-1-yloxy-tris-(dimethylamino)fosfoniumhexafluorofosfat, HF znamená kyselinu fluorovodíkovou, TEA znamená triethylamin, TFA znamená kyselinu trifluoroctovou, PCC znamená pyridiniumchlorochroman.

Sloučeniny obecného vzorce (Ia) se obecně připravují reakcí sloučeniny obecného vzorce (IV) se sloučeninou obecného vzorce (V):



s následným odstraněním všech chránících skupin a případnou přípravou farmaceuticky přijatelné soli.

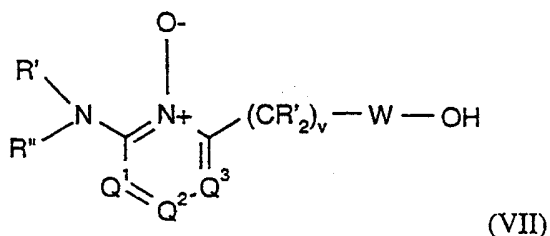
$$\begin{array}{c}
 \text{O}^- \\
 | \\
 \text{Q}^1 = \text{N}^+ = \text{C} = \text{NR}'' - \text{CR}'_2 - \text{W} - \text{OH} \\
 | \quad \quad \quad // \\
 \text{Q}^2 = \text{Q}^3 - \text{Q}^4
 \end{array}
 \quad \text{(VI)}$$

s následným odstraněním všech chránících skupin a případnou přípravou farmaceuticky přijatelné soli.

Ve sloučeninách obecného vzorce (VI) výhodně každý z Q^1 , Q^2 , Q^3 a Q^4 znamenají CH, W znamená $-(CH_2)_{1-4}-$, R^1 znamená H a R'' znamená H nebo C_{1-6} alkylovou skupinu. Vhodně se reakce sloučeniny vzorce (IV) se sloučeninou vzorce (VI) provede v přítomnosti diethylazodikarboxylatu a trifenylyfosfinu v aprotickém rozpouštědle.

27.11.00

Kromě toho se sloučeniny obecného vzorce (Ia) mohou připravit reakcí sloučeniny vzorce (IV) popsané výše se sloučeninou obecného vzorce (VII):



kde R', R'', W, Q¹, Q², Q³, a v mají význam uvedený pro vzorec (Ia) s tím, že všechny reaktivní funkční skupiny jsou chráněné;

s následným odstraněním všech chránících skupin a případnou přípravou farmaceuticky přijatelné soli.

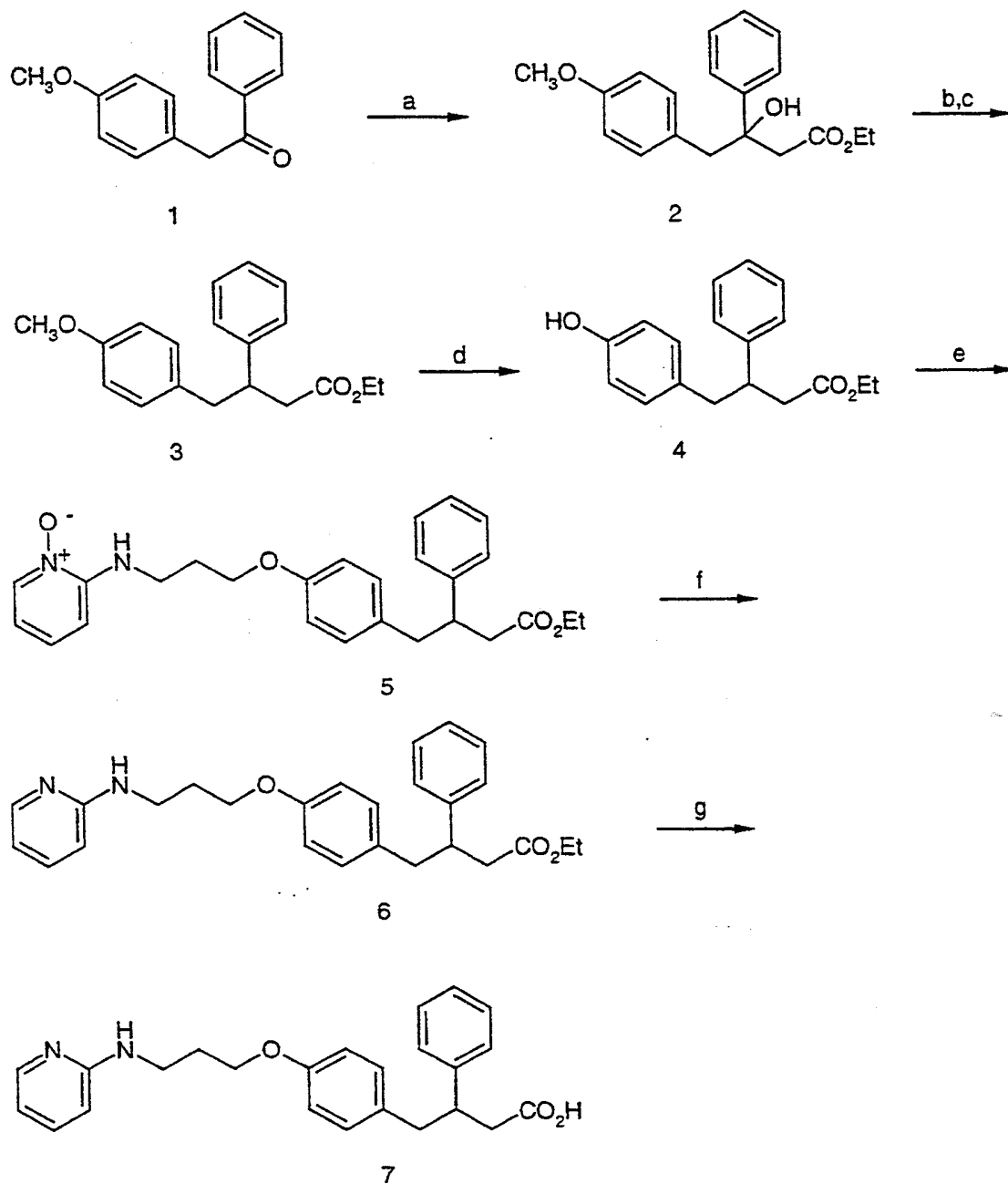
Ve sloučeninách obecného vzorce (VII) výhodně Q¹, Q², a Q³ znamenají CH, W znamená -CH₂-CH₂-, R' znamená H a R'' znamená H nebo C₁-alkylovou skupinu. Vhodně se reakce sloučeniny vzorce (IV) se sloučeninou vzorce (VII) provede v přítomnosti diethylazodikarboxylatu a trifenylofosfinu v aprotickém rozpouštědle.

Sloučeniny podle vynálezu zahrnující sloučeniny obecného vzorce (I) a obecného vzorce (Ia) se připraví obecnými způsoby znázorněnými ve schématech I-XVI.

Přípravu sloučenin ve kterých Y znamená O a X znamená CH₂

znázorňuje schéma I.

Schéma I



(a) EtOAc/LiN(TMS)₂, THF; (b) Et₃SiH, BF₃·OEt₂·CH₂Cl₂; (c) H₂, 10% Pd/C, EtOH; (d) EtSH, AlCl₃, CH₂Cl₂; (e)

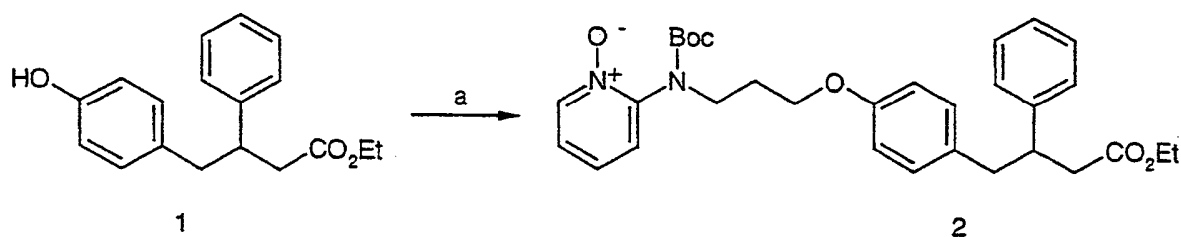
2-[(3-hydroxy-1-propyl)amino]pyridin-N-oxid, DIAD, $(\text{Ph})_3\text{P}$, DMF; (f) cyklohexen, 10% Pd/C, 2-propanol; (g) 1,0 N LiOH, THF, H_2O a následné okyselení.

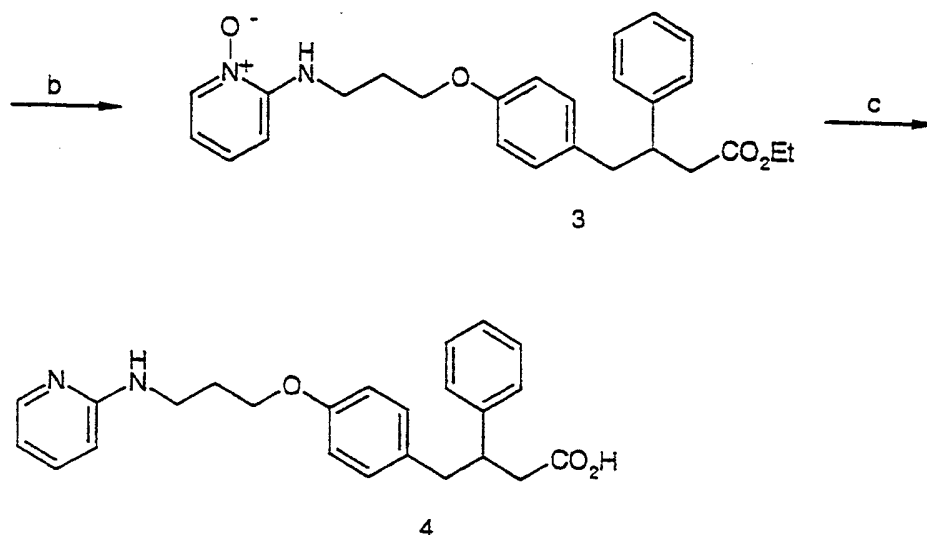
Vhodně substituovaný derivát deoxybenzoinu, jako je 2-(4-methoxyfenyl)-1-fenylethanon (Chem.Ber. **1958**, 91, 755-759) se nechá reagovat v reakci aldolového typu s enolatem ethylacetatu, který lze generovat z ethylacetatu vystaveného účinkům vhodné amidové baze, například lithium-diisopropylamidu (LDA) nebo lithium-bis(trimethylsilyl)amidu ($\text{LiN}(\text{TMS})_2$) za tvorby sloučeniny **I-2**. Rozpouštědlem první volby pro uvedenou reakci aldolového typu je THF, i když se často používá THF společně s různými přísadami, například s HMPA nebo TMEDA. Reakcí sloučeniny **I-2** s triethylsilanem (Et_3SiH) v přítomnosti etheratu fluoridu boritého ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$), způsobem podle Orphanopoulose a Smonu (Synth.Comm. **1988**, 833) pro redukci terciárních benzylalkoholů, se získá sloučenina **I-3** společně s olefinickým produktem pocházejícím z β -eliminací reakce alkoholu. Olefinický produkt lze výhodně převést na sloučeninu **I-3** hydrogenací na palladiovém katalyzátoru jako je kovové palladium na aktivním uhlí (Pd/C) ve vhodném inertním rozpouštědle jako je například methanol, ethanol nebo ethylacetat. Odstranění methyletheru ze sloučeniny **I-3** a její převedení na sloučeninu **I-4** lze provést reakcí s ethanthiolem (EtSH) v přítomnosti Lewisovy kyseliny jako katalyzátoru, výhodně v přítomnosti bezvodého chloridu hlinitého (AlCl_3), v přítomnosti inertního rozpouštědla například CH_2Cl_2 . Další vhodné způsoby pro odstranění methyletheru jsou popsány v práci Greene "Protective Groups in organic Synthesis" (publikované Wiley-Interscience). Sloučenina **I-4** se pak nechá reagovat v kopulační reakci podle Mitsunobu (Organic reactions **1992**, 41, 335-656; Synthesis

1981, 1-28) s 2-[(3-hydroxy-1-propyl)amino]pyridin-N-oxidem a získá se tak sloučenina **I-5**. Tato reakce je zprostředkována komplexem vytvořeným z diesteru azodikarboxylatu jako je diethylazodikarboxylat nebo diisopropylazodikarboxylat a z trifenylfosfinu, a provádí se v aprotickém rozpouštědle, například v THF, CH₂Cl₂ nebo v DMF. Pyridin-N-oxidová skupina sloučeniny **I-5** se redukuje na odpovídající pyridinovou sloučeninu **I-6** přenosovou hydrogenační reakcí s použitím palladiového katalyzátoru, výhodně kovového palladia na aktivním uhlí, v inertním rozpouštědle jako je například methanol, ethanol, nebo 2-propanol. Jako činidla pro přenos vodíku se v tomto typu reakce obvykle používá cyklohexen, 1,4-cyklohexadien, kyselina mravenčí a soli kyseliny mravenčí jako je formiat draselný nebo formiat amonný. Ethylester sloučeniny **I-6** se pak hydrolyzuje s použitím vodné baze, například LiOH ve vodném THF nebo NaOH ve vodném methanolu nebo ethanolu, meziproductová karboxylatová sůl se pak okyslí vhodnou kyselinou například TFA nebo HCl a získá se tak karboxylová kyselina **I-7**. Alternativně je možné, je-li to žádoucí, meziproductovou karboxylatovou sůl izolovat, nebo připravit karboxylatovou sůl volné karboxylové kyseliny způsoby známými v oboru.

Alternativní způsob přípravy sloučenin obecného vzorce (I) znázorňuje schéma II.

Schéma II





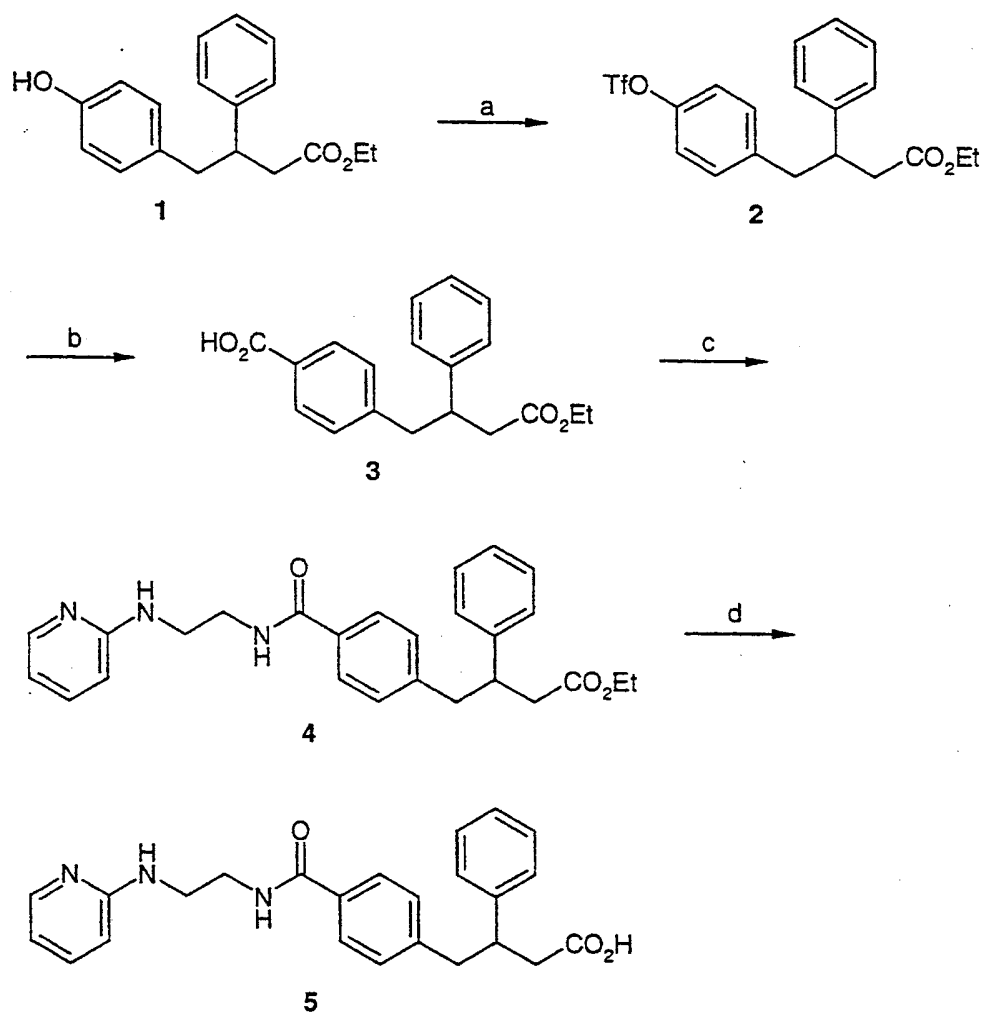
(a) NaH, 2-[N-methansulfonyloxy-1-propyl)-N-(terc.butoxy-karbonyl)amino]pyridin-N-oxid, DMSO; (b) TFA, CH₂Cl₂; (c) viz schéma I

Sloučenina II-1, připravená způsobem popsaným ve schématu I, se nechá reagovat s bazí, výhodně s hydridem alkalického kovu jako je hydrid sodný nebo hydrid draselný, v polárním aprotickém rozpouštědle, obvykle v THF, DMF, DMSO nebo jejich směsích, čímž se připraví odpovídající fenoxid alkalického kovu. Alternativně lze k deprotonaci použít amid alkalického kovu, například LDA nebo lithnou, sodnou nebo draselnou sůl hexamethyldisilazanu. Meziproductový fenoxid se obvykle neizoluje, ale nechá se reagovat in situ s vhodným elektrofilním prostředkem například s 2-[N-(3-methansulfonyloxy-1-propyl)-N-(terc.butoxykarbonyl)amino]pyridin-N-oxidem za tvorby kopulovaného produktu II-2. Terc.butoxykarbonylová chránicí skupina ve sloučenině II-2 se odstraní za

27.11.00

kyselých podmínek, například pomocí 4 M HCl v 1,4 dioxanu nebo TFA v CH₂Cl₂ a získá se tak sloučenina II-3. Podmínky pro odstranění terc.butoxykarbonylové chránicí skupiny jsou v oboru dobře známé, a několik vhodných způsobů je uvedeno ve standardních pracích v oboru jako je Greene "Protective Groups in Organic Synthesis". Sloučenina II-3 se pak převede na sloučeninu II-4 způsobem znázorněným ve schématu I.

Schéma III

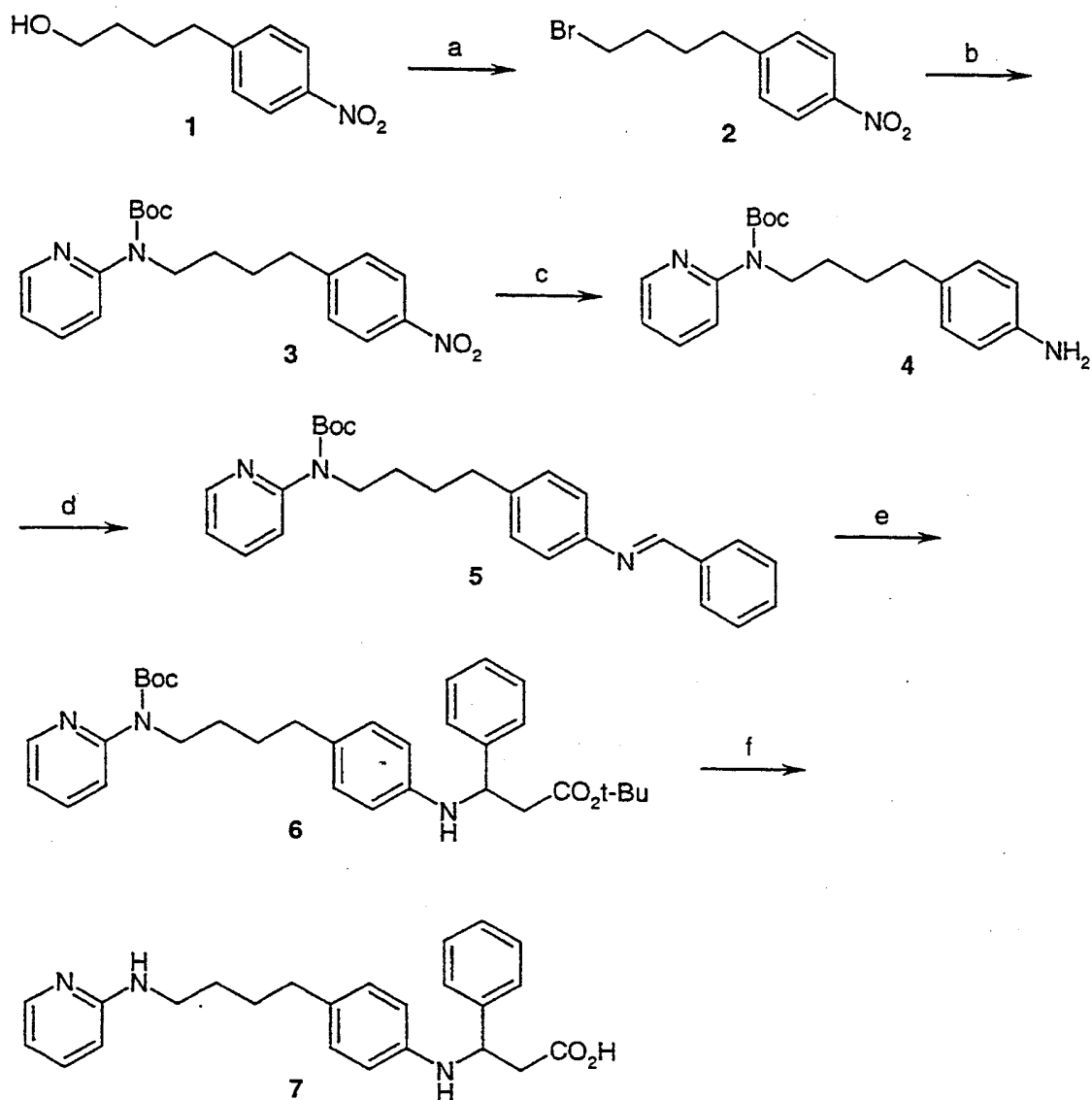


(a) TiCl_4 , 2,6-lutidin, CH_2Cl_2 ; (b) CO, KOAc, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, dppf, DMSO; (c) 2-[(2-amino-1-ethyl)amino]pyridin-dihydrochlorid, EDC, HOBT. H_2O , Et_3N , CH_3CN ; (d) LiOH, THF, H_2O a následné okyselení.

Fenol **III-1**, který se připraví způsobem popsaným ve schématu I, se převede na svůj trifluormethansulfonátový ester **III-2** reakcí s anhydridem kyseliny trifluormethansulfonové (TiCl_4) v přítomnosti vhodné nenukleofilní aminové báze jakou je 2,6-lutidin, v přítomnosti inertního rozpouštědla, obvykle CH_2Cl_2 . Sloučenina **III-2** se pak nechá reagovat s oxidem uhelnatým (CO) v přítomnosti octanu draselného, 1,1'-bis-(difenylfosfino)ferrocenu (dppf) a palladiového katalyzátoru například octanu palladnatého ($\text{Pd}(\text{OAc})_2$), ve vhodném rozpouštědle, výhodně v DMSO, způsobem obecně popsaným v práci autorů Cacchi a Lupi (Tet.Lett. **1992**, 33, 3939) pro karboxylaci aryl-trifluormethansulfonátů. Karboxylová skupina získané sloučeniny (**III-3**) se pak převede na aktivovanou formu s použitím například EDC, HOBT nebo SOCl_2 , a v této aktivované formě se nechá reagovat s příslušným aminem, například s 2-[(2-amino-1-ethyl)amino]pyridin-dihydrochloridem, ve vhodném rozpouštědle jako je DMF, CH_2Cl_2 nebo CH_3CN , a získá se tak sloučenina **III-4**. V závislosti na tom, zda je potřebné neutralizovat kyselinu, lze přidat bazi, jako je triethylamin (Et_3N), diisopropylethylamin ((i-Pr) $_2\text{NEt}$) nebo pyridin. Pro konverzi karboxylové kyseliny na amid je známých mnoho dalších způsobů, které lze nalézt ve standardní literatuře oboru jako je "Compendium of Organic Synthetic Methods" Vol.I-VI (publikované Wiley-Interscience), nebo Bodansky, "The Practice of Peptide Synthesis" (publikované Springer-Verlag). Ethylester sloučeniny **III-4** se hydrolyzuje pomocí vodné báze, například LiOH ve vodném THF nebo NaOH ve vodném methanolu nebo ethanolu, a meziproduktová karboxylátová sůl se

okyselením vhodnou kyselinou, například TFA nebo HCl, převede na karboxylovou kyselinu **III-5**. Alternativně je možné, je-li to žádoucí meziproduktovou karboxylatovou sůl izolovat, nebo je možné karboxylatovou sůl volné kyseliny připravit způsoby známými v oboru.

Schéma IV



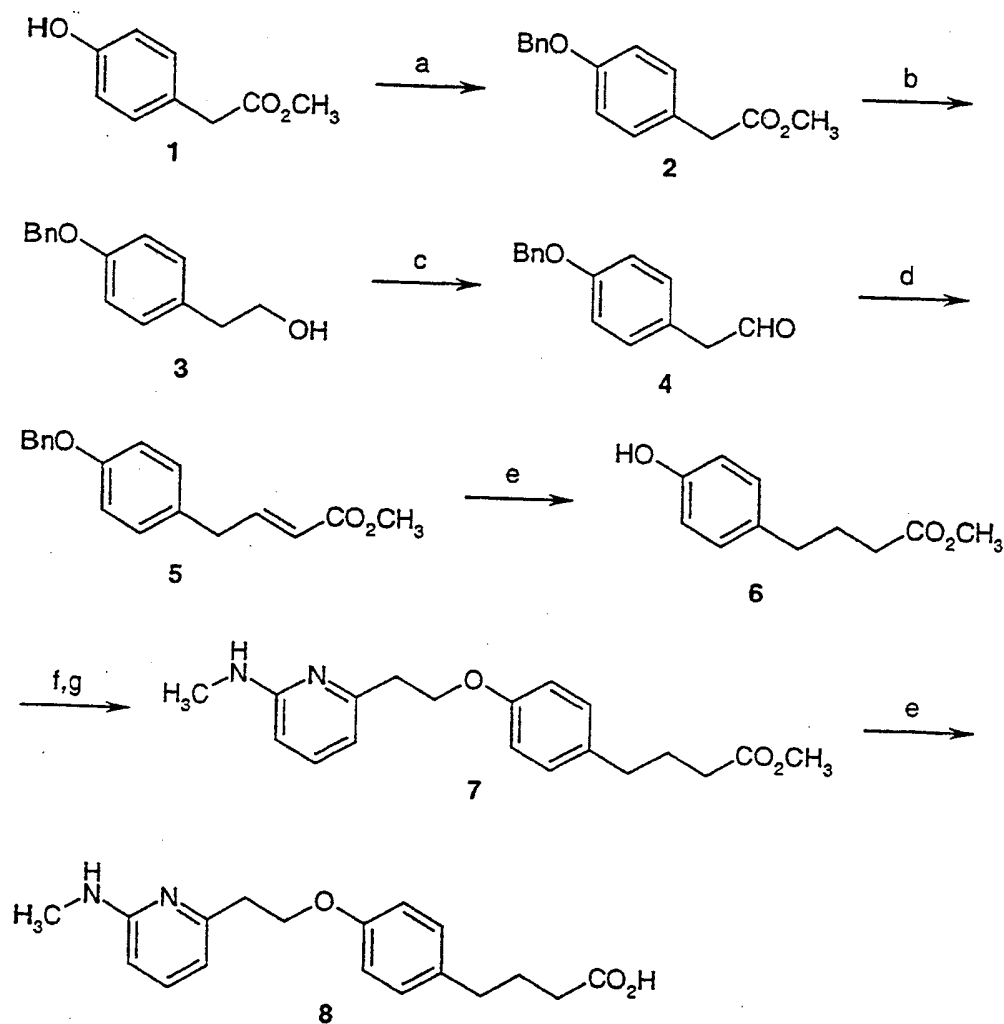
(a) CBr₄, Ph₃P, THF; (b) 2-(tert.butoxyamino)pyridin,

27.11.00

NaH, DMF; (c) H_2 , Pd/C, EtOAc; (d) PhCHO, $MgSO_4$, CH_2Cl_2 ; (e) $BrZnCH_2CO_2-t.Bu$, $BF_3.OEt_2$, THF; (f) TFA, CH_2Cl_2 .

Obchodně dostupný alkohol **IV-1** se převede na aktivovaný typ sloučeniny jako je například odpovídající bromid **IV-2** s použitím bromidu uhličitého a trifenylofosfinu v inertním rozpouštědle, výhodně v THF. Dostupných je i mnoho dalších způsobů převedení alkoholu na aktivované sloučeniny jako na odpovídající bromid, chlorid, jodid, mesylat, nebo triflat, které jsou pracovníkům v oboru dobře známé. Bromid **IV-2** se pak alkyluje vhodným derivátem 2-aminopyridinu, například 2-(terc.butoxyamino)pyridinem, a získá se tak alkylovaný derivát **IV-3**. Reakce je zprostředkovaná vhodnou bazí, jako je halogenid alkalického kovu a provádí se v polárním aprotickém rozpouštědle, obvykle v THF, DMF, DMSO nebo v jejich směsích. Redukcí nitroskupiny sloučeniny **IV-3** lze provést různými způsoby, které jsou v oboru dobře známé. Výhodně se redukce provede hydrogenací v přítomnosti palladiového katalyzátoru, například palladia na aktivním uhlí, ve vhodném rozpouštědle jako je EtOAc, MeOH, EtOH, i-PrOH nebo jejich směsí. Získaný anilin **IV-4** se nechá reagovat s vhodným aldehydem jako je benzaldehyd, v inertním rozpouštědle jako je CH_2Cl_2 , benzen nebo toluen, a získá se tak odpovídající aldimin **IV-5**. Je-li to zapotřebí, lze během reakce k odstraňování vzniklé H_2O použít dehydratační prostředek jako je $MgSO_4$. Pak se aldimin nechá reagovat v reakci aldolového typu s vhodným enolatem esteru kyseliny octové a získá se sloučenina **IV-6**. Tato reakce je obvykle zprostředkovaná Lewisovou kyselinou, například $BF_3.OEt_2$, a obvykle se provádí v etherových roztocích, jako jsou roztoky THF a DME. Jak je popsáno pro schéma I, enolat lze připravit z ethylacetátu vystavenému účinkům vhodné amidové baze, například lithium-diisopropylamidu (LDA) nebo lithium-bis(trimethylsilyl)amidu ($LiN(TMS)_2$). Alternativně lze

Schéma V

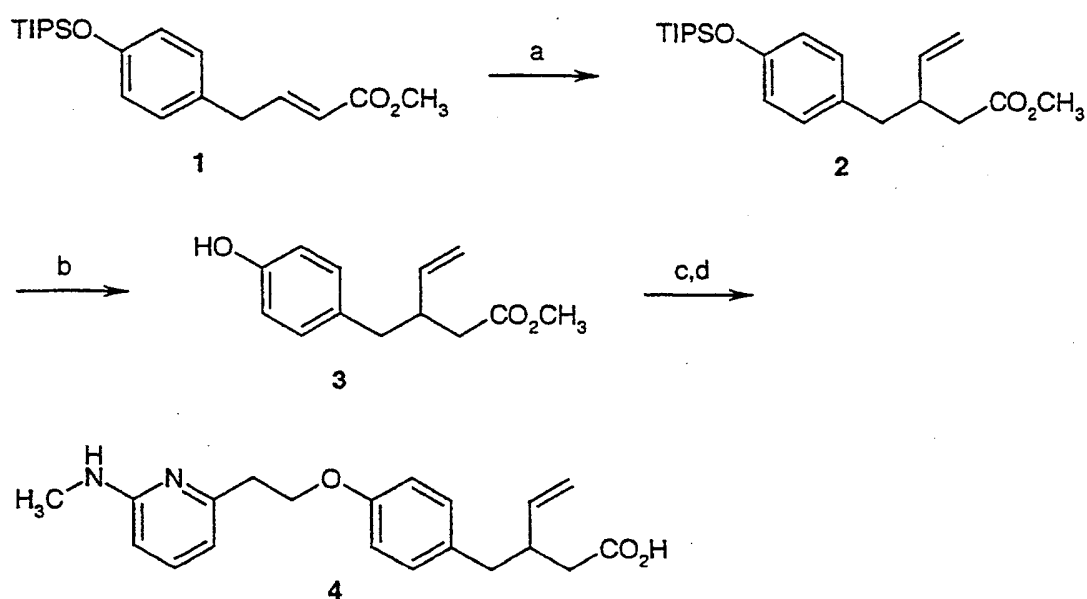


(a) BnCl , K_2CO_3 , aceton; (b) LiAlH_4 , THF; (c) Swernova oxidace; (d) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{CH}_3$, THF; (e) H_2 , Pd/C, MeOH; (f) 6-(methylamino)-2-pyridylethanol, DIAD, $(\text{Ph})_3\text{P}$, THF; (g) LiOH, THF, H_2O , a následné okyselení.

Fenolová skupina obchodně dostupného methyl-4-hydroxy-fenylacetátu (**V-1**) se chrání vhodnou chráňicí skupinou například formou methyletheru, benzetheru nebo triisopropyletheru. Chránění fenolů je pracovníkům v oboru dobře známé a typické chráňicí skupiny jsou popsány ve standardní literatuře oboru jako v Greene "Protective Groups in Organic Synthesis" (vydané Wiley-Interscience). Esterová skupina sloučeniny **V-2** se pak redukuje na odpovídající primární alkohol hydridem lithno-hlinitým. Ze standardní literatury oboru, jako je "Compendium of Organic Synthetic Methods" (vydaného Wiley-Interscience) je známých více dalších způsobů pro redukci karboxylových kyselin a esterů na alkoholy. Alkohol **V-3** se pak oxiduje na odpovídající aldehyd za podmínek podle Swerna známých v oboru (J.Org.Chem. **1978**, 43, 2480). Ze standardní literatury oboru, jako je "Compendium of Organic Synthetic Methods" (vydaného Wiley-Interscience) je známých více dalších způsobů pro oxidaci alkoholů na aldehydy. Aldehyd **V-4** se pak převede na α,β -nenasycený ester **V-5** dobře známou Wittigovou reakcí. Optimálně se reakce provede s použitím (karboxymethoxymethylen)trifenylfosforanu v polárním aprotickém rozpouštědle jako je DMSO, THF nebo jejich směsi. Redukce olefinové skupiny sloučeniny **V-5** se optimálně provede hydrogenací v přítomnosti palladiového katalyzátoru, například palladia na aktivním uhlí, ve vhodném rozpouštědle jako je EtOAc, MeOH, EtOH, i-PrOH nebo jejich směsi. Jestliže k chránění fenolové skupiny je použita benzyletherová skupina, dojde současně k jejímu štěpení a uvolnění volného fenolu. V případě použití jiné chráňicí skupiny je zapotřebí zvolit

vhodné podmínky pro její odstranění. Například jestliže se použije methylether, lze jej štěpit ethanthiolem (EtSH) a chloridem hlinitým (AlCl_3) jak je popsáno ve schématu I, nebo pomocí boridu bromitého (BBr_3) v inertním rozpouštědle, výhodně v CH_2Cl_2 . Alternativně, jestliže se použije triisopropylsilylová skupina, lze ji štěpit například pomocí tetrabutylamoniumfluoridu v neutrálním rozpouštědle jako je THF. Další vhodné způsoby sejmutí ochranných skupin fenolové skupiny jsou popsány v práci Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis" (vydané Wiley-Interscience). Vzniklý fenol **V-6** se nechá reagovat s 6-(methylamino)-2-pyridylethanol v kopulační reakci podle Mitsunobu (Organic Reactions **1992**, 42, 335-656; Synthesis **1981**, 1-28) a získá se tak sloučenina **V-7**. Reakce je zprostředkována komplexem vzniklým mezi diesterem azodikarboxylátu jako je diethylazodikarboxylát nebo diisopropylazodikarboxylát a trifenylofosfinem, a provádí se v aprotickém rozpouštědle jako například v THF, CH_2Cl_2 , nebo v DMF. Sloučenina **V-7** se pak převede na **V-8** způsobem uvedeným ve schématu III.

Schéma VI



(a) (vinyl)MgBr, CuBr.DMS, THF; (b) TBAF, THF; (c) 6-(methylamino)-2-pyridylethanol, DIAD, (Ph)₃P, DMF; (d) LiOH, THF, H₂O, s následným okyslením.

α,β -nenasycený ester **VI-1** připravený způsobem podle schématu V se nechá reagovat s měďnanovým činidlem k provedení konjugační adiční reakce. Například reakcí sloučeniny **VI-1** s činidlem obsahujícím měďnou sůl vzniklým z vinylmagnesiumbromidu a komplexu bromid mědný (I)-dimethylsulfid v aprotickém rozpouštědle jako je Et₂O nebo THF vznikne konjugovaný adiční produkt **VI-2**. V literatuře je popsáno mnoho postupů a několik přehledných prací týkajících se konjugačních adičních reakcí a použití různých měďnanových činidel a organoměďných činidel (viz například Posner, Organic Reactions 1972, 19, 1-113; Lipshutz a Sengupta, Organic Reactions 1992, 41, 135-631). Triisopropylsilylová skupina sloučeniny **VI-2** se odstraní způsobem podle schématu V, a získaný fenol **VI-3** se převede na **VI-4** způsoby popsány pro schéma V.

Schéma VII

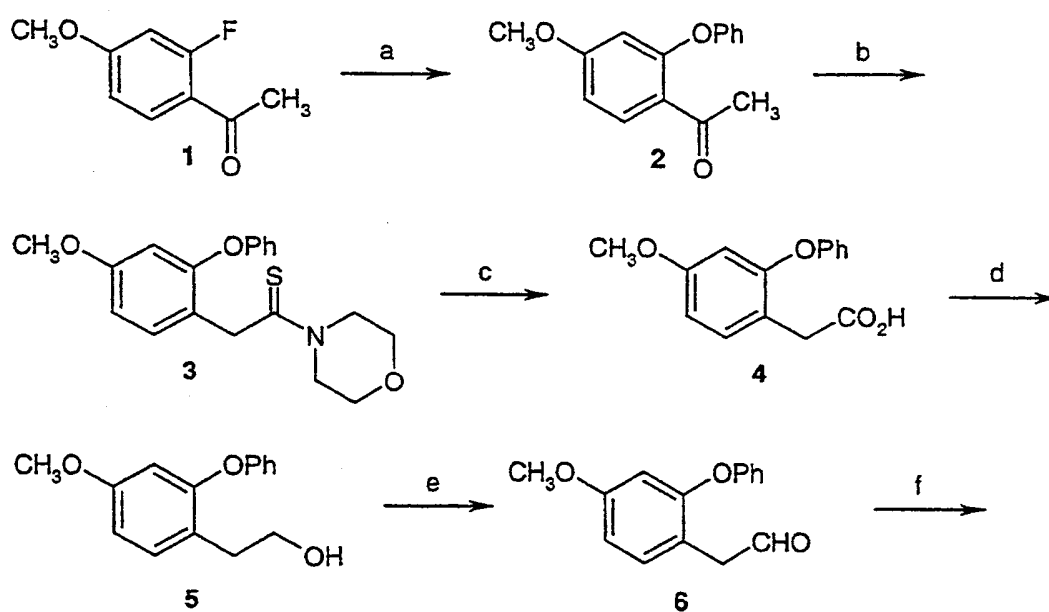
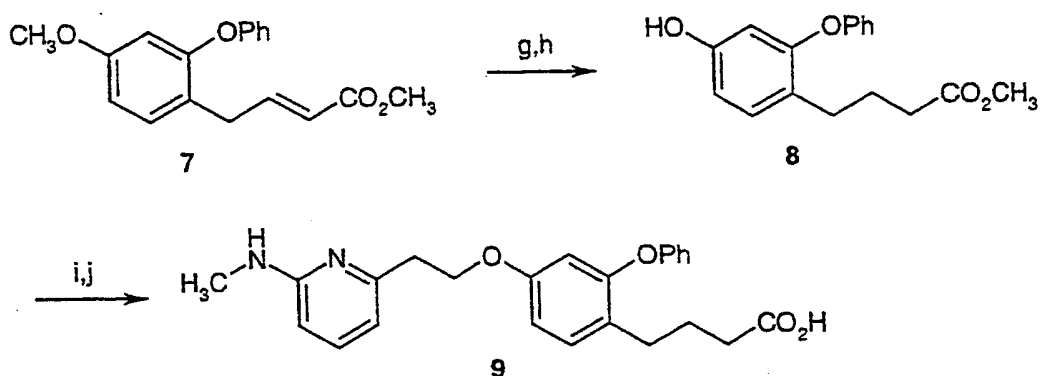


Schéma VII (pokračování)

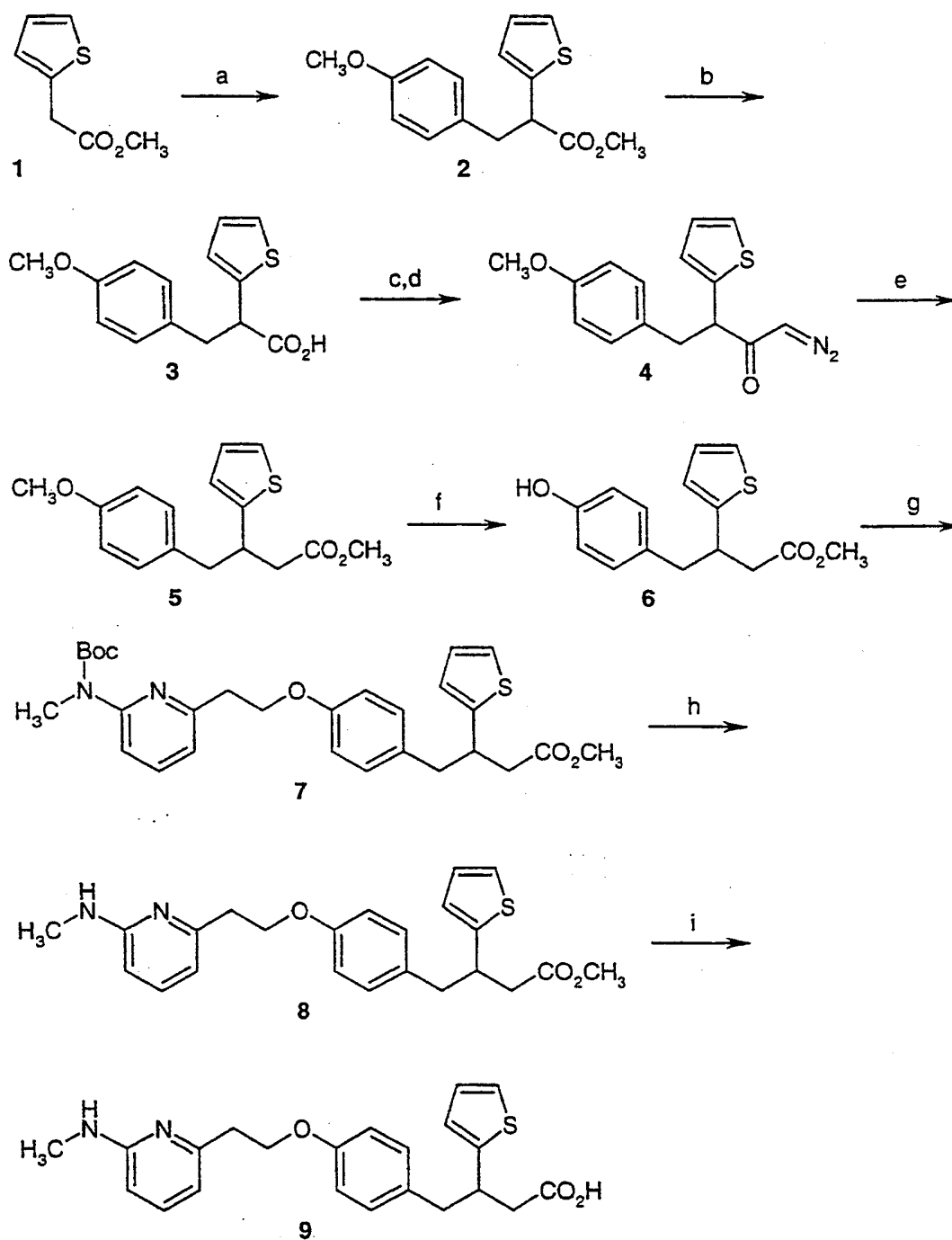


(a) PhOH, Cu, K₂CO₃; (b) síra, morfolin; (c) KOH, H₂O, i-PrOH; (d) LiAlH₄, THF; (e) Swernova oxidace; (f) Ph₃P=CHCO₂CH₃, THF; (g) H₂, Pd/C, MeOH; (h) BBr₃, CH₂Cl₂; (i) 6-(methylamino)-2-pyridylethanol, DEAD, (Ph)₃P, CH₂Cl₂; (j) 1,0 N NaOH, MeOH, a následné okyselení.

Obchodně dostupný 2-fluor-4-methoxyacetofenon (VII-1) se nechá reagovat s alkoholem, například s fenolem, v přítomnosti kovové mědi a vhodné baze, například K₂CO₃ a získá se tak diarylether VII-2. Zpracováním se sírou a vhodným primárním nebo sekundárním aminem, výhodně morfolinem, obecným způsobem popsaným Harrisem (J. Med. Chem. 1982, 25, 855) se sloučenina VII-2 převede na VII-3 klasickou Willgerodt-Kindlerovou reakcí. Takto připravený thioamid se pak hydrolyzuje na odpovídající karboxylovou kyselinu VII-4 reakcí s hydroxidem alkalického kovu, vhodně s KOH, ve vodném alkoholickém rozpouštědle jako je MeOH, EtOH nebo i-PrOH. Sloučenina VII-4 se pak převede na sloučeninu VII-9 způsobem obecně popsaným

pro schéma V.

Schéma VIII

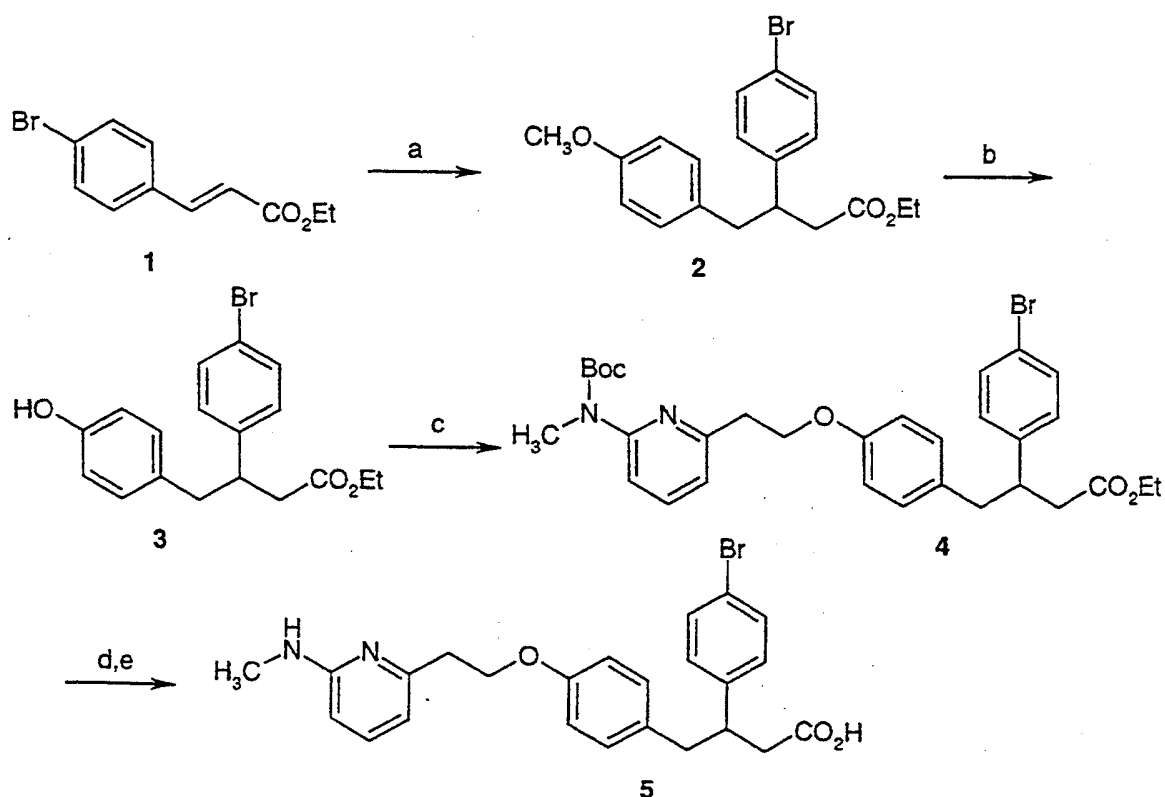


(a) $\text{LiN}(\text{TMS})_2$, THF, potom 4-methoxybenzylchlorid; (b) 1,0 N NaOH, MeOH s následným okyselením; (c) SOCl_2 ; (d) CH_2N_2 , Et_2O ; (e) AgOBz, MeOH; (f) BBr_3 , CH_2Cl_2 ; (g) 6-(N-Boc-N-methylamino)-2-pyridylethanol, DEAD, $(\text{Ph})_3\text{P}$, CH_2Cl_2 ; (h) HCl/dioxan; (i) 1,0 N NaOH, MeOH s následnou acidifikací.

Methylester kyseliny 2-thiofenoctové (**VIII-1**) se deprotonizuje vhodnou bazí, obvykle amidem alkalického kovu jako je LDA nebo bis(trimethylsilyl)amid lithný, a meziproduktový ester-enolat se nechá reagovat bez další izolace s vhodným benzylhalogenidem jako je například 4-methoxybenzylchlorid za tvorby produktu alkylace **VIII-2**. V této reakci je obecně výhodné použít polární aprotické rozpouštědlo jako je THF, nebo THF v přítomnosti různých aditiv jako je například HMPA nebo TMEDA. Methylester sloučeniny **VIII-2** se pak hydrolyzuje pomocí vodné baze, například LiOH ve vodném THF nebo NaOH nebo ve vodném MeOH nebo EtOH, meziproduktová karboxylátová sůl se pak okyselí vhodnou kyselinou, například TFA nebo HCl, a získá se tak karboxylová kyselina **VIII-3**. Ta se převede na aktivovanou formu karboxylové kyseliny například pomocí SOCl_2 , a tato aktivovaná forma se pak nechá reagovat s diazomethanem ve vhodném rozpouštědle jako je Et_2O nebo směs Et_2O a CH_2Cl_2 , čímž se získá diazoketon **VIII-4**. Zpracováním s vhodnou solí stříbra, například benzoanem stříbrným nebo triflatem stříbrným, v alkoholovém rozpouštědle, obvykle v MeOH nebo EtOH, proběhne klasická Arndt-Eistert reakce, kterou se připraví ester **VIII-5**. Deprotekcí methyletheru za obecných podmínek popsaných pro schéma V se získá sloučenina **VIII-6**, která se převede na sloučeninu **VIII-7** reakcí s 6-(N-Boc-N-methylamino)-2-pyridylethanolem reakcí podle Mitsunobu za podmínek popsaných pro schéma V. Terc.butoxykarbonylová

skupina sloučeniny VIII-7 se pak sejme za kyselých podmínek, jako v prostředí 4 M HCl v 1,4-dioxanu nebo TFA v CH₂Cl₂, a získá se tak sloučenina VIII-8. Podmínky deprotektce terc.butylkarbamátů jsou pracovníkům v oboru známe, a několik vhodných způsobů je popsanych ve standardní práci tohoto oboru, Greene "Protective Groups in Organic Synthesis". Zmýdelněním obecnými způsoby popsány pro schéma III se získá sloučenina VIII-9.

Schéma IX

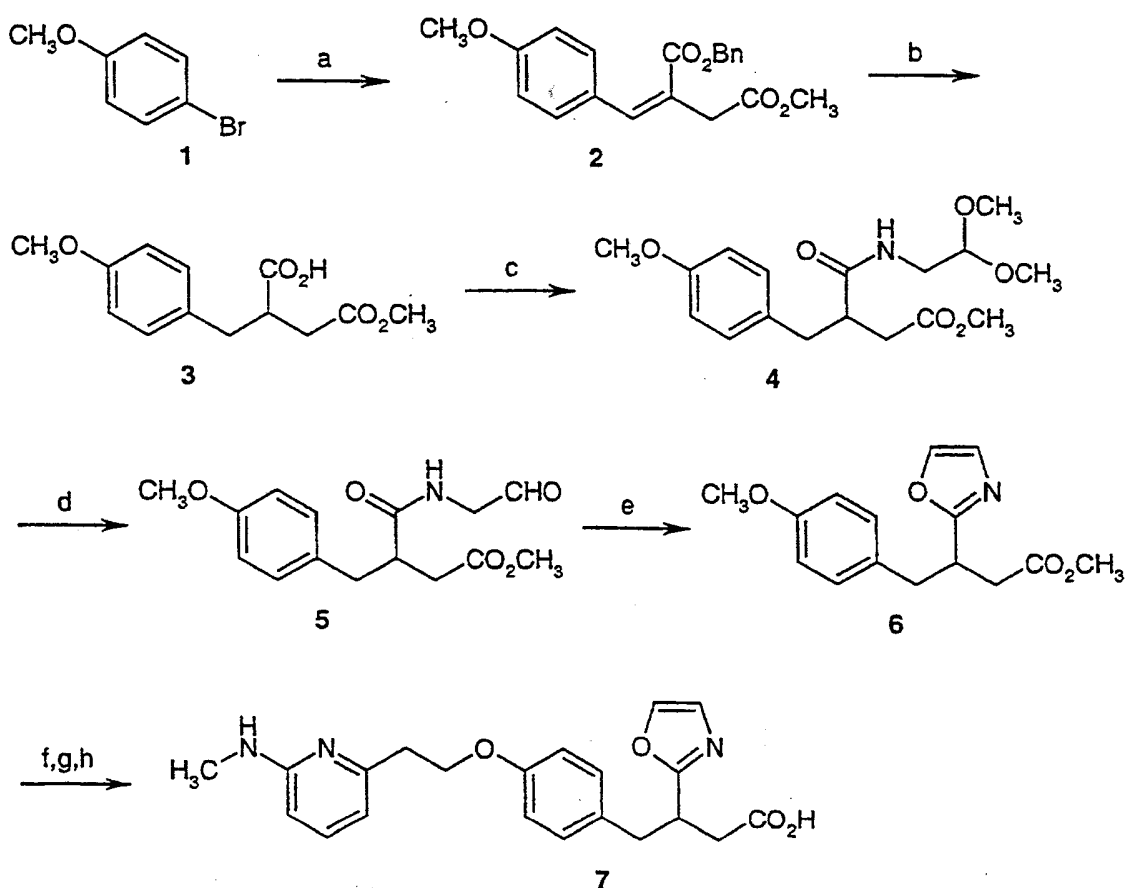


(a) 4-methoxybenzylmagnesiumchlorid, CuI, TMEDA, TMSCl, THF; (b) BBr₃, CH₂Cl₂; (c) 6-(N-Boc-N-methylamino)-2-pyridylethanol, DIAD, (Ph)₃P, CH₂Cl₂; (d) 4 N HCl/dioxan; (e) 1,0 N NaOH, EtOH, s následným okyslením.

Vhodný derivát kyseliny akrylové, například ethyl-4-brom-

-cinnamat (IX-1), se převede na derivát IX-2 reakcí se zvolenými benzylměďnanovými činidly obecným způsobem podle Van Heerdena (Tetrahedron **1996**, 52, 12313). Jak je uvedeno v popisu pro schéma VI, je známo více dalších způsobů této přípravy a konjugačních adičních reakcí s použitím různých měďnanových a organoměďných činidel. Produkt adice IX-2 se pak převede na sloučeninu IX-5 obecným postupem popsáním pro schéma VIII.

Schéma X



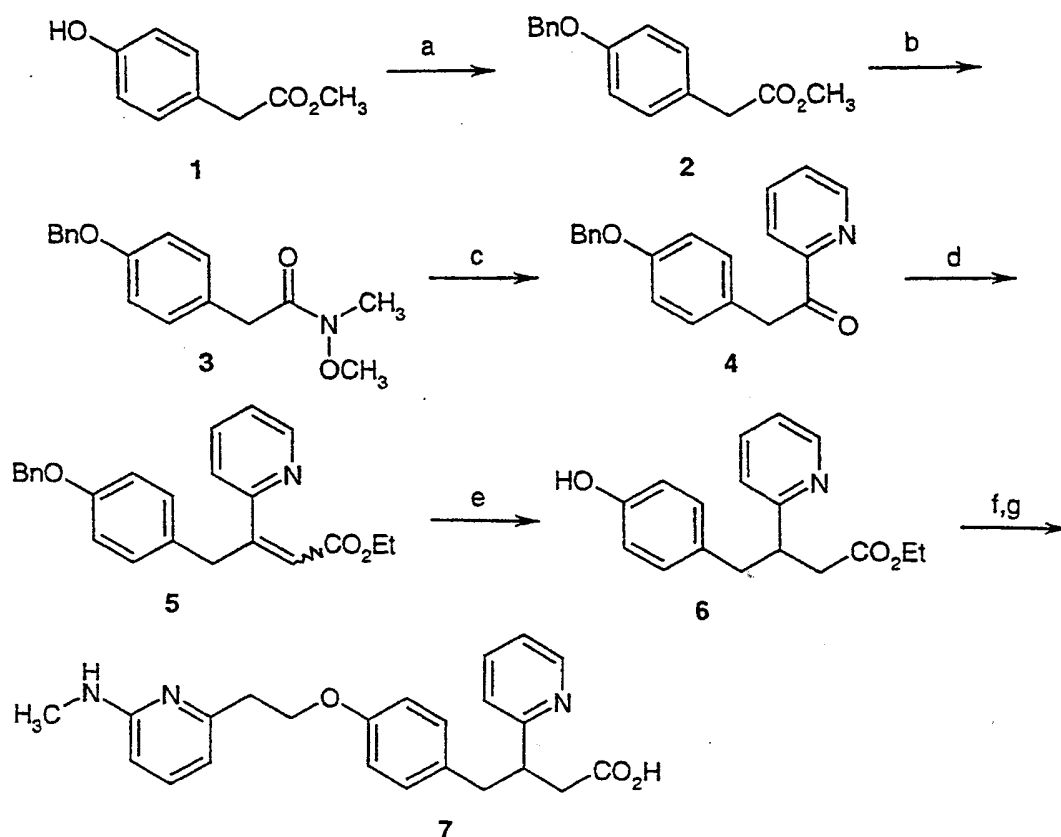
(a) methyl-3-(benzyloxykarbonyl)-3-butenat, Pd(OAc)₂, P(tol)₃, (i-Pr)₂NEt, propionitril; (b) H₂, 10% Pd/C, MeOH, EtOAc; (c) CDI, (CH₃O)₂CHCH₂NH₂, CH₂Cl₂; (d) 6 N HCl, THF; (e) I₂, PPh₃, Et₃N, CH₂Cl₂; (f) BBr₃, CH₂Cl₂; (g) 6-(methylamino)-

-2-pyridylethanol, DIAD, $(\text{Ph})_3\text{P}$, THF; (h) LiOH , THF, H_2O , s následným okyselením.

Vhodná halogenaromatická sloučenina, například 4-bromanisol (**X-1**) se nechá reagovat s methyl-3-(benzyloxy-karbonyl)-3-butenóatem v reakci Heckova typu (viz Heck, Org.Reactions **1982**, 27, 345) a získá se tak sloučenina **X-2**. Tato reakce probíhá v přítomnosti forem palladia (0), a obecně se provádí v inertním rozpouštědle jako je CH_3CN , propionitril nebo toluen, a v přítomnosti vhodného prostředku zachycujícího kyseliny jako je triethylamin (Et_3N) nebo diisopropylethylamin ($((i\text{-Pr})_2\text{NEt})$). Typické zdroje palladia (0) zahrnují palladium(II)acetát ($\text{Pd}(\text{OAc})_2$) a palladium(II)chlorid (PdCl_2), většinou v přítomnosti fosfinových ligandů, například v přítomnosti trifenylfosfinu (PPh_3) nebo tri-orto-tolylfosfinu ($\text{P}(\text{tol})_3$). Získaný α,β -nenasycený ester **X-2** se pak redukuje na nasycenou sloučeninu **X-3** reakcí s plynným vodíkem v přítomnosti vhodného katalyzátoru, výhodně v přítomnosti kovového palladia na aktivním uhlíku (Pd/C) v inertním rozpouštědle, obvykle v MeOH , EtOH , EtOAc nebo jejich směsích. Benzylester ve sloučenině **X-2** se za těchto podmínek současně štěpí za uvolnění odpovídající karboxylové kyseliny. Tato karboxylová kyselina **X-3** se pak převede na aktivovanou formu použitím například EDC a HOBt, SOCl_2 nebo 1,1'-karbonyl-diimidazolu (CDI), a aktivovaná forma se pak nechá reagovat s vhodným aminem, například s dimethyldiacetalem aminobenzaldehydu, ve vhodném rozpouštědle jako je CH_2Cl_2 , a získá se tak sloučenina **X-4**. Je-li potřebné kyselinu neutralizovat, přidá se base, kde lze použít base jako triethylamin (Et_3N), diisopropylethylamin ($((i\text{Pr})_2\text{NEt})$), nebo pyridin. Pro převedení karboxylové kyseliny na amid je známých více dalších způsobů, které lze najít ve standardní literatuře oboru jako je například "Compendium of Organic Synthetic

Methods", Vol.I-VI (vydáno Wiley-Interscience), nebo Bodansky, "The Practice of Peptide Synthesis" (vydáno Springer-Verlag). Dimethylacetát sloučeniny **X-4** se pak za kyselých podmínek štěpí na odpovídající aldehyd (**X-5**), výhodně pomocí kyseliny chlorovodíkové v THF nebo v dioxanu. Ve standardní literatuře oboru jako v Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis" (vydáno Wiley-Interscience) lze nalézt další způsoby pro konverzi dimethylacetátu na aldehyd. Aminoaldehyd **X-6** se cyklizuje na oxazol **X-6** způsobem podle práce Rovnyaka (J.Med.Chem.1997, 40, 24-34). Sloučenina **X-6** se pak převede na sloučeninu **X-7** způsobem popsáním pro schéma V.

Schéma XI



(a) BnCl , K_2CO_3 , acetone; (b) $(\text{CH}_3\text{O})\text{NHCH}_3 \cdot \text{HCl}$, AlCl_3 , toluene; (c) 2-bromopyridine, tert. BuLi , THF; (d)

(EtO)₂P(O)CH₂CO₂Et, NaH, THF; (e) H₂, Pd/C, EtOH; (f) 6-(methylamino)-2-pyridylethanol, DIAD, (Ph)₃P, THF; (g) LiOH, THF, H₂O, s následným okyslením.

Fenolová skupina obchodně dostupného methyl-4-hydroxy-fenylacetátu (XI-1) se chrání jako benzylether způsobem popsaným pro schéma V. Získaná sloučenina (XI-2) se pak nechá reagovat s N,O-dimethylhydroxylamin-hydrochloridem v přítomnosti AlCl₃, v přítomnosti inertního rozpouštědla, výhodně toluenu, způsobem popsaným v práci Weinreba (Synth. Commun. **1982**, 12, 989) a získá se tak sloučenina XI-3. Tato sloučenina se pak nechá reagovat způsobem podle Weinreba (Tet.Lett. **1981**, 22, 3815) s vhodným Grignardovým činidlem nebo jiným organolithným činidlem vhodným pro přípravu ketonů. Například pyridin-2-lithium, připravený z 2-brompyridinu a terc.butyllithia, reaguje se sloučeninou XI-3 v etherovém rozpouštědle jako je THF nebo DME za tvorby ketonového derivátu XI-4. Tento keton pak reaguje v reakci Wittigova typu s triethylfosfonoacetatem v přítomnosti vhodné baze, například LiN(TMS)₂ nebo NaH, v polárním aprotickém rozpouštědle, výhodně v THF, za tvorby α,β-nenasyceného esteru XI-5. Jak je výše popsáno pro schéma V, hydrogenací sloučeniny XI-5 se jednak redukuje olefin a současně se odstraněním benzyletheru získá sloučenina XI-6. Tato sloučenina se pak převede na sloučeninu XI-7 způsobem popsaným pro schéma V.

Schéma XII

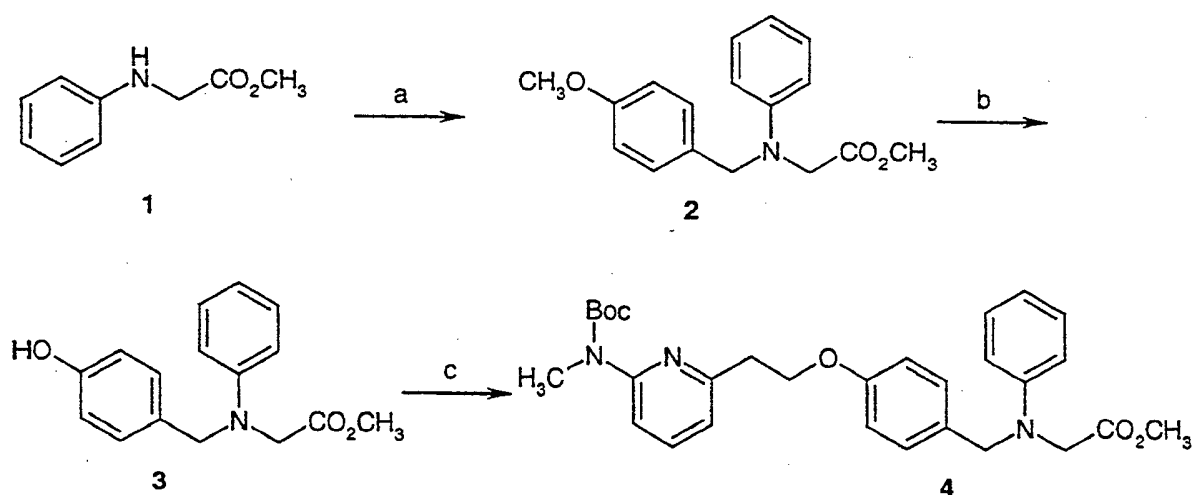
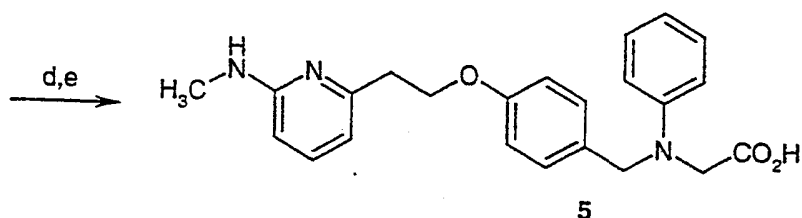


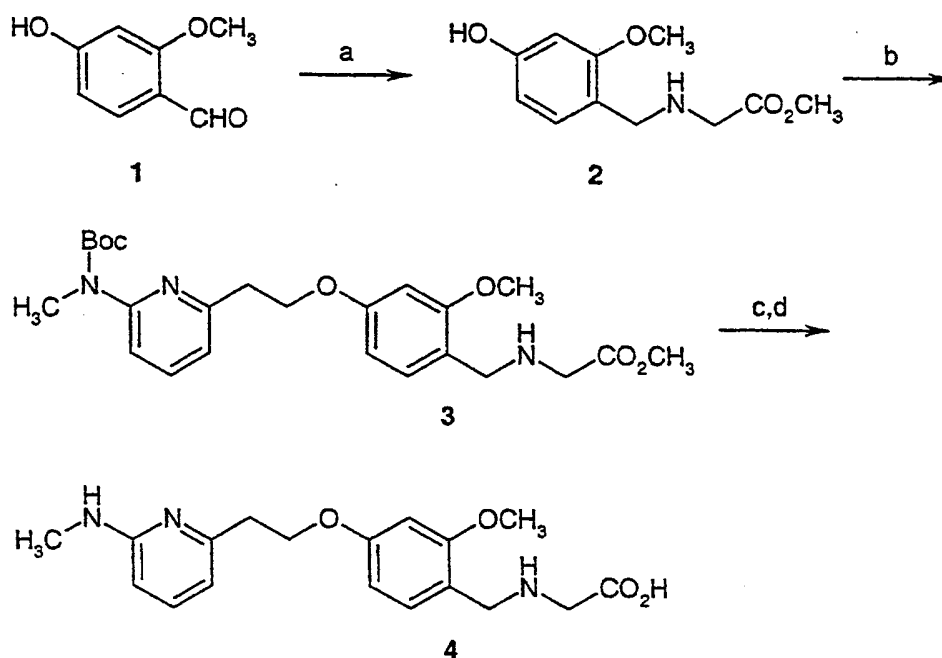
Schéma XII (pokračování)



(a) NaH, 4-methoxybenzylchlorid, DMF; (b) BBr₃, CH₂Cl₂; (c) 6-(N-Boc-N-methylamino)-2-pyridylethanol, DIAD, (Ph)₃P, CH₂Cl₂; (d) 4 N HCl/dioxan; (e) 1,0 N NaOH, EtOH, s následným okyselením.

Vhodný derivát aminokyseliny s funkční skupinou na N, například N-fenylglycin (XII-1) se nechá reagovat s vhodným derivátem benzylhalogenidu, například s 4-methoxybenzylchloridem, a získá se tak sloučenina XII-2. Tato reakce probíhá v přítomnosti baze jako je NaH nebo LiN(TMS)₂ a provádí se v přítomnosti polárního aprotického rozpouštědla, obecně THF, DMF nebo jejich směsí. Produkt, sloučenina XII-2 se pak převede na sloučeninu XII-V způsobem popsáním pro schéma VIII.

Schéma XIII



(a) hydrochlorid methylesteru glycinu, NaBH_3CN , síto 3 A, MeOH; (b) 6-(N-Boc-N-methylamino)-2-pyridylethanol, DIAD, $(\text{Ph})_3\text{P}$, CH_2Cl_2 ; (c) 4 N HCl/dioxan; (d) 1,0 N NaOH, MeOH, THF, s následným okyselením.

Aromatický aldehyd vhodně substituovaný funkční skupinou jako je 4-hydroxy-2-methoxybenzaldehyd (XIII-1) se nechá reagovat s derivátem aminokyseliny jako je například hydrochlorid methylesteru glycinu za podmínek redukční aminace za tvorby sloučeniny XIII-2. Redukční aminace zahrnuje reakci aldehydu nebo ketonu s aminem v přítomnosti vhodného redukčního prostředku, obvykle kyantrihydrogenborátu sodného (NaBH_3CN) nebo triacetoxyhydrogenborátu sodného ($\text{NaB}(\text{OAc})_3\text{H}$), často v přítomnosti kyselého katalyzátoru, obvykle kyseliny octové nebo kyseliny chlorovodíkové. Tato reakce probíhá přes meziproduktový imin, který in situ reaguje s

redukčním prostředkem za tvorby aminu. Alternativně je možné uvedený imin připravit samostatně a redukovat ho v následujícím stupni. Typická rozpouštědla používaná v této reakci zahrnují CH_2Cl_2 , DMF nebo alkohol jako je methanol nebo ethanol. K reakci odstraňující vodu uvolněnou v průběhu reakce je možné použít dehydratační prostředek zahrnující molekulová síta, MgSO_4 nebo trimethylortoformiat. Produkt, sloučenina XIII-2 se pak převede na sloučeninu XIII-4 způsobem popsáním pro schéma VIII.

Schéma XIV

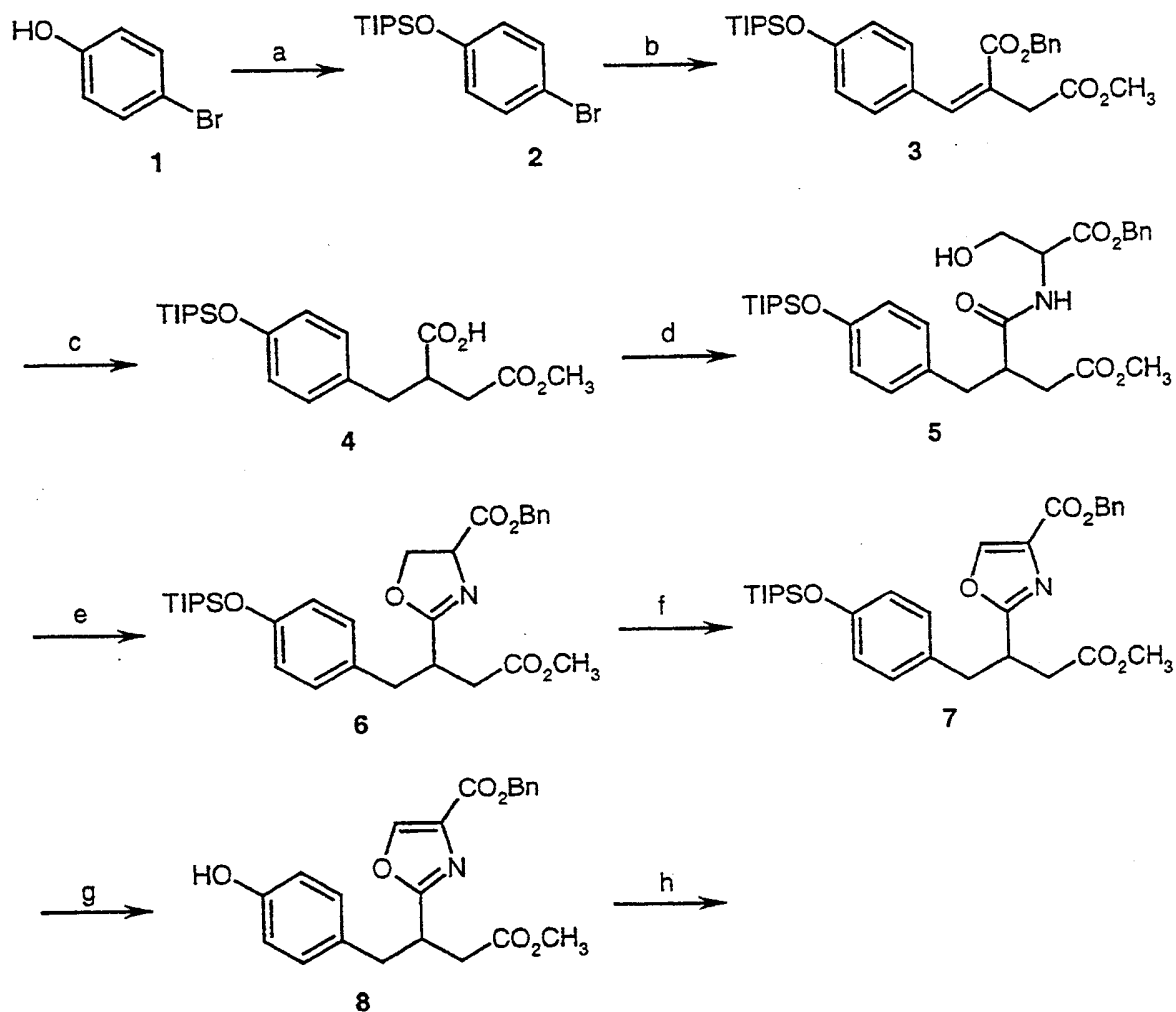
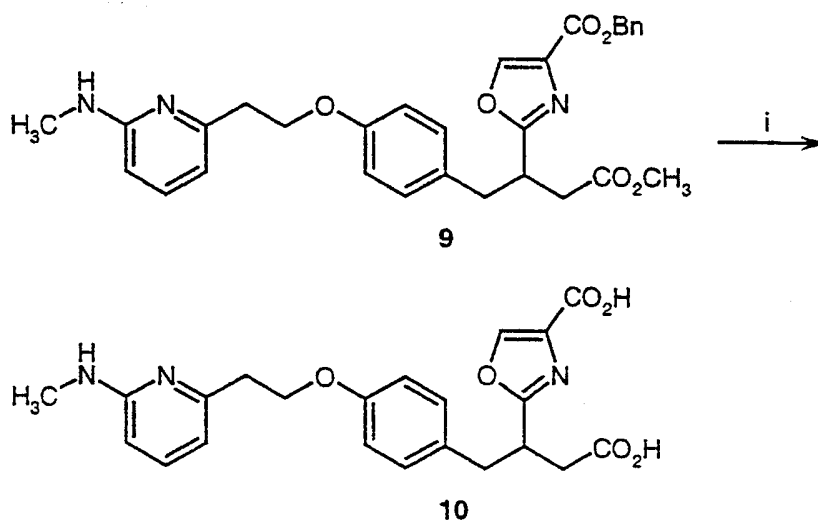


Schéma XIV (pokračování)

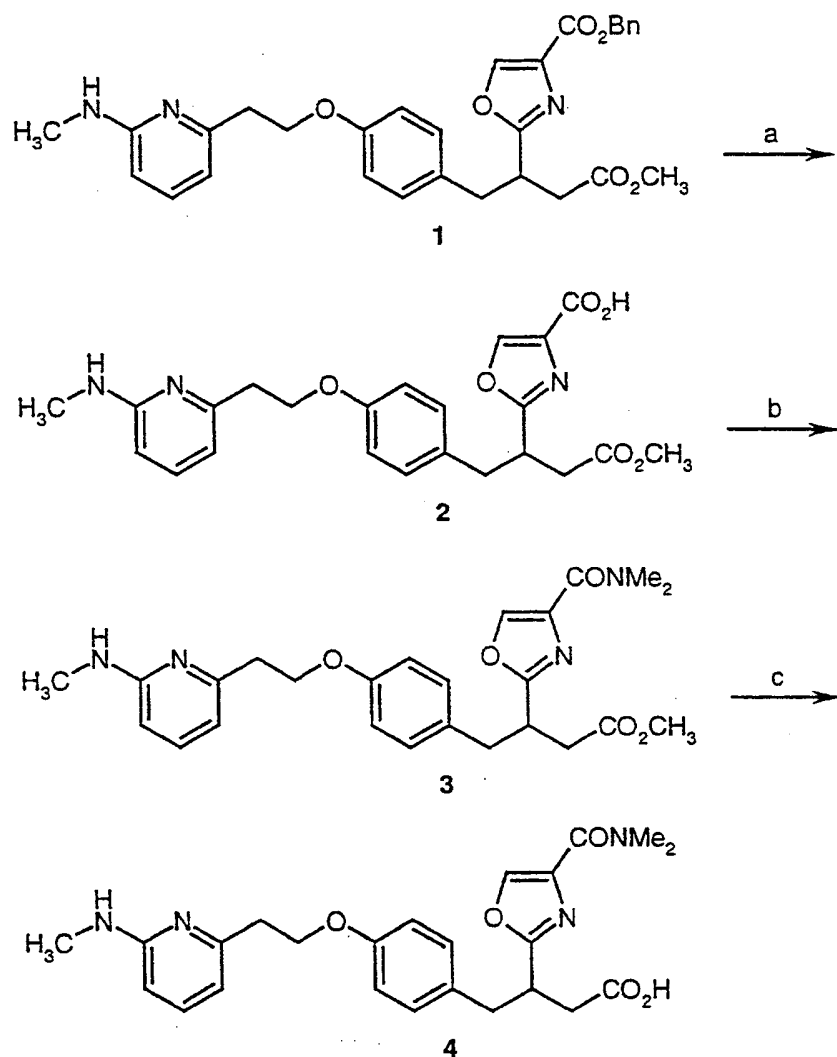


(a) triisopropylsilylchlorid, imidazol, DMF; (b) methyl-3-(benzyloxykarbonyl)-3-butenat, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, $\text{P}(\text{tol})_3$, $(i\text{-Pr})_2\text{NEt}$, propionitril; (c) H_2 , 10% Pd/C , $i\text{-PrOH}$, EtOAc ; (d) benzylester serinu, EDC, $\text{HOBt} \cdot \text{H}_2\text{O}$, Et_3N , DMF; (e) Burgessovo činidlo, THF; (f) Cl_3CBr , DBU, CH_2Cl_2 ; (g) TBAF, THF; (h) 6-(methylamino)-2-pyridylethanol, DIAD, $(\text{Ph})_3\text{P}$, THF; (i) LiOH , THF, H_2O , s následným okyselením.

Halogenderivát fenolu, například 4-bromfenol (XIV-1) se převede na vhodným způsobem chráněný derivát, například 4-brom-1-(triisopropylsilyloxy)benzen (XIV-2). Použitá chránicí skupina musí být kompatibilní s následným chemickým zpracováním a musí být možné ji selektivně odstranit v případě potřeby. Způsoby chránění fenolů jsou popsány ve standardní literatuře oboru jako je Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis" (vydavatel Wiley-Interscience). Sloučenina XIV-4 se pak převede na sloučeninu XIV-4 a potom na sloučeninu XIV-5 obecnými způsoby popsány pro schéma X. Potom se sloučenina XIV-5 převede na oxazolový derivát XIV-7. Pro

převedení amidoalkoholů na oxazoly je známých více způsobů (Meyers, Tetrahedron **1994**, 50, 2297–2360; Wipf, J.Org.Chem. **1993**, 58, 3604–3606). Je například možné nejprve převést amidoalkohol **XIV-5** na oxazolin **XIV-6**. Této transformace se obvykle docílí za podmínek dehydratace, jako v případě reakce s Burgessovým činidlem v THF. Oxazolin **XIV-6** se pak oxiduje na oxazol **XIV-7** pomocí například bromtrichlormethanu a DBU v CH_2Cl_2 (Williams, Tetrahedron Letters **1997**, 38, 331–334) nebo CuBr_2 a DBU ve vhodném rozpouštědle jako je $\text{EtOAc}/\text{CHCl}_3$ nebo CH_2Cl_2 (Barrish, J.Org.Chem. **1993**, 58, 4494–4496). Odstraněním silylové chránicí skupiny se získá fenol **XIV-8**, který se převede na sloučeninu **XIV-10** způsobem popsáním pro schéma V.

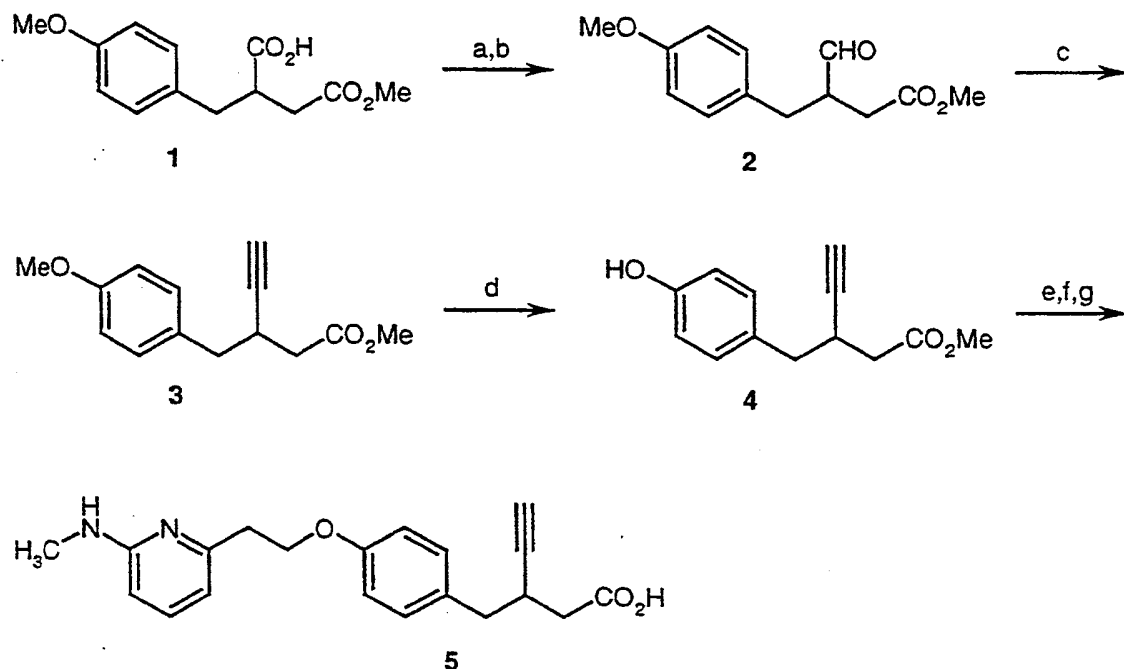
Schéma XV



(a) H_2 , 10% Pd/C, EtOH; (b) $\text{Me}_2\text{NH}\cdot\text{HCl}$, EDC, HOBT. H_2O , Et_3N , DMF; (c) LiOH, THF, H_2O , s následným okyslením.

Sloučenina **XV-1**, připravená způsobem podle schématu XIV, se převede na derivát karboxylové kyseliny **XV-2** hydrogenací v přítomnosti vhodného katalyzátoru, výhodně kovového palladia na aktivním uhlí (Pd/C), v inertním rozpouštědle, obvykle v MeOH, EtOH, EtOAc nebo jejich směsích. Sloučenina **XV-2** se převede na amidový derivát **XV-3** obecným způsobem pro tvorbu amidů z karboxylových kyselin, popsáním pro schéma X. Zmýdelněním podle schématu V se získá sloučenina **XV-4**.

Schéma XVI



(a) $(\text{COCl})_2$, DMF, CH_2Cl_2 ; (b) $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{CuBH}_4$, $(\text{Ph})_3\text{P}$, acetone; (c) dimethyl-1-diazo-2-oxopropylfosfit, K_2CO_3 , MeOH, CH_2Cl_2 ; (d) 6-Boc-N-methylamino)-2-pyridylethanol, DEAD, $(\text{Ph})_3\text{P}$, CH_2Cl_2 ; (e) 4 N HCl/dioxan; (f) 1,0 N NaOH, MeOH, s následným okyselením.

Sloučenina **XVI-1**, připravená způsobem podle schématu X, se převede na aldehydový derivát **XVI-2** výhodně způsobem podle autorů Fleet a Harding (Tet.Lett. 1979, 11, 975-978). Tento způsob zahrnuje nejprve konverzi karboxylové skupiny sloučeniny **XVI-1** na odpovídající chlorid kyseliny standardním způsobem v oboru dobře známým, a následnou redukci na aldehyd s použitím $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{CuBH}_4$. Mezi další známé způsoby patří selektivní konverze karboxylové kyseliny na aldehyd v přítomnosti esteru karboxylové kyseliny, které lze nalézt ve standardní literatuře oboru jako je "Compendium of Organic Synthetic Methods (vydavatel Wiley-Interscience). Aldehyd **XVI-2** se pak převede na acetylenový derivát **XVI-3** způsobem podle autorů Muller a sp. (Syn.Lett. 1996, 521-522).

Sloučenina **XVI-2** se tedy nechá reagovat s dimethyl-1-diazo-2-oxopropylfosfitem v přítomnosti vhodné baze, obvykle K_2CO_3 , a ve vhodném rozpouštědle jako je methanol. Jsou známy i další způsoby pro konverzi aldehydu na acetylen, a lze je nalézt ve standardní literatuře oboru jako je Compendium of Organic Synthetic Methods (vydavatel Wiley-Interscience). Produkt, sloučenina **XVI-3** se pak převede na sloučeninu **XVI-5** obecným postupem popsaným pro schéma VIII.

Jako amidová kopulační činidla se v tomto popise označují činidla, která lze použít pro tvorbu peptidových vazeb. V obvyklých kopulačních reakcích se používají karbodiimidy, aktivované anhydridy a estery a acylhalogenidy. mezi typická

činidla patří EDC, DCC, DPPA, BOP, HOBt, N-hydroxysukcinimid a oxalylchlorid.

Kopulační způsoby tvorby peptidových vazeb jsou v oboru známé. Způsoby syntézy peptidů jsou obecně uvedené v pracích autorů Bodansky a sp., "The Practice of Peptide Synthesis", Springer-Verlag, Berlin, 1984, a Alí a sp., J.Med.Chem., 29, 984 (1986) a v J.Med.Chem., 30, 2291 (1987) a obecně znázorňují technická provedení těchto způsobů a uvedené práce jsou včleněné do tohoto textu odkazem.

Obvykle se amin nebo anilin kopuluje přes svoji volnou aminoskupinu na vhodný substrát obsahující karboxylovou kyselinu s použitím karbodiimidového kopulačního prostředku jako je N,N'-dicyklohexylkarbodiimid, případně v přítomnosti katalyzátorů jako je 1-hydroxybenzotriazol (HOBt) a dimethylaminopyridin (DMAP). Rovněž jsou vhodné další způsoby spojené s tvorbou aktivovaných esterů, anhydridů nebo halogenidů kyselin volné karboxylové skupiny vhodně chráněného kyselého substrátu, s následnou reakcí s volnou aminoskupinou vhodně chráněného aminu případně v přítomnosti baze. Například Boc-chráněná aminokyselina nebo kyselina Cbz-amidino-benzoová se zpracuje v bezvodém rozpouštědle jako methylenchlorid nebo tetrahydrofuran (THF) v přítomnosti baze, jako je N-methylmorfolin, DMAP nebo trialkylamin, s isobutylchlorformiátem za vzniku "aktivovaného anhydridu" který se pak nechá reagovat s volnou aminoskupinou druhé chráněné aminokyseliny nebo s anilinem.

Vhodné meziprodukty pro přípravu sloučenin vzorce (I) ve kterých R² znamená benzimidazol jsou uvedeny v práci autorů Nestor a sp., J.Med.Chem. **1984**, 27, 320. Příklady způsobů přípravy benzimidazolových sloučenin vhodných jako

meziprodukty ve způsobech podle vynálezu jsou v oboru rovněž obvyklé a lze je nalézt například v EP-A 0 381 033.

Adiční soli sloučenin podle vynálezu s kyselinami lze připravit standardním způsobem ve vhodném rozpouštědle z mateřské sloučeniny s přebytkem kyseliny jako je kyselina chlorovodíková, bromovodíková, fluorovodíková, sírová, fosforečná, octová, trifluorooctová, maleinová, jantarová nebo methansulfonová. Přijatelné mohou být i vnitřní soli nebo zwitteriontové formy určitých sloučenin. Soli s kationty lze připravit zpracováním mateřské sloučeniny s přebytkem alkalického prostředku jako je hydroxid, uhličitán nebo alkoxid, který obsahuje vhodný kation; nebo s vhodným organickým aminem. Specifické příklady kationtů vhodných pro farmaceuticky přijatelné sole zahrnují Li^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , a NH_4^+ .

Vynález rovněž poskytuje farmaceutickou kompozici obsahující sloučeninu vzorce (I) a farmaceuticky přijatelný nosič. Sloučeniny vzorce (I) lze tedy použít k přípravě léčiv. Farmaceutické kompozice obsahující sloučeniny vzorce (I) připravené způsoby uvedenými výše, lze formulat jako roztoky nebo lyofilizované prášky pro parenterální podání. V případě prášků se před jejich podáním provede rekonstituce přidavkem vhodného ředidla nebo jiného farmaceuticky přijatelného nosiče. Tekuté přípravky mohou být ve formě pufrovaných, isotonických, vodných roztoků. Příklady vhodných ředidel zahrnují fyziologický roztok chloridu sodného, 5% roztok dextrosy ve vodě pufrované octanem sodným nebo amonným. Tyto formy jsou zvláště vhodné pro parenterální podání, ale je také možné je použít pro orální podávání, nebo mohou být obsažené v dávkovacím přípravku pro inhalaci nebo v rozprašovacím přípravku pro aplikaci insuflací. Vhodný také

může být přídavek přísad jako je polyvinylpyrrolidon, želatina, hydroxycelulosa, arabská guma, polyethylenglykol, mannitol, chlorid sodný nebo citran sodný.

Alternativně mohou být uvedené sloučeniny v zapouzdřené formě, ve formě tablet, emulze nebo sirupu pro orální podání. Tyto formy mohou obsahovat přídavek pevných nebo tekutých nosičů pro zvýšení stability kompozice nebo k usnadnění přípravy kompozice. Uvedené pevné nosiče zahrnují škrob, laktosu, dihydrat síranu vápenatého, terra alba, stearan hořečnatý nebo kyselinu stearovou, talek, pektin, arabskou gumu, agar nebo želatinu. Tekuté nosiče zahrnují sirup, podzemnicový olej, olivový olej, solný roztok a vodu. Množství pevného nosiče může být proměnlivé, ale výhodně obsahuje mezi asi 20 mg až asi 1 g v jednotce lékové formy. Uvedené farmaceutické přípravky se připravují obvyklými způsoby farmaceutické technologie zahrnujícími mletí, mísení, granulaci a lisování jsou-li potřebné pro přípravu tablet; nebo mletí, mísení a rozplňování v případě tvrdých želatinových tobolek. Při použití tekutého nosiče je přípravek ve formě sirupu, tinktury, emulze nebo vodné nebo nevodné suspenze. Uvedené tekuté přípravky lze podávat přímo p.o. nebo je lze plnit do měkkých želatinových tobolek.

Při přípravě přípravků pro rektální podání se sloučeniny podle vynálezu mohou spojovat s přísadami jako je kakaové máslo, glycerin, želatina nebo polyethylenglykoly a tavit je do formy čípků.

Sloučeniny podle vynálezu jsou antagonisté vitronektinového receptoru a jsou vhodné pro léčbu chorob jejichž patologií lze dát do spojitosti s ligandem nebo s buňkou interagující s vitronektinovým receptorem. Uvedené

sloučeniny jsou například vhodné pro léčbu chorob, kde patologický stav zahrnuje úbytek kostní matrice. Sloučeniny podle vynálezu jsou tedy vhodné pro léčbu osteoporózy, hyperparatyreózy, Pagetovy nemoci, hyperkalcémie při maligním onemocnění, osteolytických lézí vyvolaných kostními metastázami, úbytku kostní hmoty vyvolané nehybností nebo deficiencí pohlavních hormonů. Předpokládá se, že sloučeniny podle vynálezu jsou využitelné jako protinádorové, antiangiogenní, protizánětlivé a antimetastatické prostředky a jsou vhodné pro léčbu aterosklerózy a restenózy.

Sloučeninu podle vynálezu je možné podávat pacientovi orálně nebo parenterálně takovým způsobem, aby koncentrace léčiva byla dostatečná k inhibici kostní resorpce nebo k jiné indikaci. Farmaceutická kompozice obsahující kompozici podle vynálezu se podává orálně v dávce v rozmezí od asi 0,1 do asi 50 mg/kg v závislosti na stavu pacienta. Výhodnou orální dávkou je asi 0,5 až asi 20 mg/kg. V akutní terapii je výhodné podávání parenterální. Nejúčinnější je podání intravenózní infúzí peptidu v 5 % roztoku dextrosy ve vodě nebo ve fyziologickém solném roztoku nebo v podobné formě s vhodnými přísadami, i když vhodné je i podání ve formě jednorázové injekce. Parenterální dávka je obvykle v rozmezí asi 0,01 až asi 100 mg/kg; výhodně je v rozmezí 0,1 až 20 mg/kg. Sloučeniny podle vynálezu se podávají jednou až čtyřikrát denně způsobem vedoucím k dosažení celkové denní dávky asi 0,4 až asi 400 mg/kg/den. Pracovník v oboru snadno určí přesnou velikost dávky a způsob podávání na základě srovnání koncentrace léčiva v krvi s koncentrací potřebnou k vyvolání terapeutického účinku.

Vynález dále poskytuje způsob léčby osteoporózy nebo inhibice úbytku kostní hmoty, který zahrnuje postupné podávání

nebo podávání fyzikální kombinace sloučeniny vzorce (I) s jinými inhibitory kostní resorpce jako jsou biofosfonaty (tj.allendronat), hormony substituční hormonální terapie, antiestrogeny, nebo kalcitonin. Kromě toho vynález poskytuje způsob léčby s použitím sloučeniny podle vynálezu a anabolického prostředku, jako je kostní morfogenní protein, iproflavon, kde uvedený způsob je vhodný pro prevenci úbytku kostní hmoty a/nebo ke zvýšení množství kostní hmoty.

Navíc vynález poskytuje způsob inhibice růstu tumorů který zahrnuje postupné podávání sloučeniny vzorce (I) a antineoplastika, nebo podávání jejich fyzikální kombinace. Mezi uvedená antineoplastika patří známé prostředky zahrnující třídu kamptothecinových analog, jako je topotekan, irinotekan a 9-aminokamptothecin, a koordinační komplexy platiny jako je cisplatina, ormaplatina a tetraplatina. Analoga kamptothecinu jsou popsána v U.S.Patentech č.5,004,758, 4,604,463, 4,473,692, 4,545,880, 4,342,776, 4,513,138, 4,399,276, v publikovaných EP patentových přihláškách č. 0 418 099 a 0 088 642, a v pracích Wani a sp., J.Med.Chem., **1986**, 29, 2358, Wani a sp., J.Med.Chem., **1980**, 23, 554, Wani a sp., J.Med.Chem., **1987**, 30, 1774, a Nitta a sp., Proc.14th International Congr.Chemotherapy., **1985**, Anticancer Section 1, 28, které jsou plně včleněné do tohoto textu odkazem. Koordinační komplex platiny, cisplatina, je obchodně dostupný pod názvem Platino1R u firmy Bristol Myers-Squibb Corporation. Vhodně formulované přípravky s obsahem cisplatiny jsou popsány v U.S.Patentech č.5,562,925 a 4,310,515, které jsou plně včleněné do tohoto textu odkazem.

Při inhibici růstu tumoru podle vynálezu, který zahrnuje postupné podávání sloučeniny vzorce (I) a antineoplastika, koordinační sloučeniny platiny, například cisplatiny, a

nebo jejich současné podávání ve fyzikální kombinaci, je možné použít podávání pomalou intravenózní infuzí. Jako výhodný nosič se používá roztok dextrosy/chloridu sodného obsahující mannitol. Plán podávání dávek koordinační sloučeniny platiny může být v průběhu léčby založen na rozmezí dávek od asi 1 do asi 500 mg na metr čtvereční (mg/m^2) tělesného povrchu. Při parenterálním použití sloučeniny, patřící do třídy analog kamptothecinu, se v průběhu terapie terapie obecně užívají dávky od asi 0,1 do asi 300,0 mg/m^2 tělesného povrchu na den v průběhu asi pěti po sobě jdoucích dní. Při nejvýhodnější terapii topotekanem se používají dávky od asi 1,0 do asi 2,0 mg/m^2 tělesného povrchu v průběhu pěti po sobě jdoucích dnech. Výhodně se terapie nejméně jednou opakuje v intervalu po asi sedmi až asi dvacetiosmi dnech.

Farmaceutickou kompozici je možné formulovat tak, že jedna lahvička obsahuje jak sloučeninu vzorce (I) tak antineoplastický prostředek, ale výhodné je formulovat přípravek tak, že každá z obou sloučenin je v oddělené lahvičce. Jsou-li obě sloučeniny v roztoku, mohou být zahrnuty do infúzního/injekčního systému pro současné podávání nebo mohou být v tandemovém uspořádání.

Pro výhodné podávání sloučeniny vzorce (I) a antineoplastického prostředku ve stejnou dobu nebo v různých časech je vhodný kit, obsahující v jednom obalu jako je krabička, kartonová krabice nebo jiný obal jednotlivé lahve, vaky, lahvičky nebo jiné obaly obsahující účinné množství sloučeniny vzorce (I) pro parenterální podání jak je popsáno výše a účinné množství antineoplastika pro parenterální podání. Tento kit může obsahovat například obě farmaceuticky účinné složky v oddělených obalech nebo ve stejném obale, případně ve formě lyofilizátů a nádobek s

rozpouštědly pro rekonstituci. Variantou tohoto uspořádání je provedení, kdy roztok pro rekonstituci a lyofilizát je ve dvou komorách jednoho obalu, který umožňuje jejich smísení před použitím. I při tomto uspořádání mohou být antineoplastikum a sloučenina vzorce (I) rozplněny do oddělených obalů, nebo mohou být lyofilizované společně na prášek obsažený v jedné nádobce.

V případě, kdy oba prostředky jsou v roztoku, mohou být obsažené v injekčním/infúzním systému určeném pro současné podání nebo mohou být v tandemovém uspořádání. Sloučenina vzorce (I) může být například v i.v.injekční formě nebo ve infúzním vaku sériově spojeným trubičkami s antineoplastikem v druhém infúzním vaku. Při použití takovýchto systémů může pacient obdržet počáteční jednorázovou injekční nebo infúzní dávku sloučeniny vzorce (I) a následně antineoplastikum podávané infúzí.

Sloučeniny podle vynálezu lze hodnotit jedním z několika biologických stanovení vhodných k určení koncentrace sloučeniny potřebné k vyvolání požadovaného farmakologického účinku.

Inhibice vazby vitronektinu

Vazba [^3H]-SK&F-107260 na $\alpha\text{v}\beta_3$ v tuhé fázi: $\alpha\text{v}\beta_3$ z lidské placenty nebo z lidských trombocytů (0,1–0,3 mg/ml) v pufru T (obsahujícím 2 mM CaCl_2 a 1 % oktylglukosidu) se zředí T pufrem obsahujícím 1 mM CaCl_2 , 1 mM MnCl_2 , 1 mM MgCl_2 (pufr A) a 0,05 % NaN_3 a pak se ihned vnese na 96-jamkové desky ELISA (Corning, New York, NY) v množství 0,1 ml na jamku. Každá jamka pak obsahuje 0,1–0,2 μg $\alpha\text{v}\beta_3$. Pak se desky nechají inkubovat přes noc při 4 °C. Na začátku pokusu se

Jamky jednou promyjí pufrem A a inkubují se s 0,1 ml 3,5% hovězího sérového albuminu ve stejném pufru 1 hodinu při teplotě místnosti. Po inkubaci se tekutina z jamek odsaje a jamky se dvakrát promyjí 0,2 ml pufru A.

Hodnocené sloučeniny se rozpustí ve 100% DMSO na 2 mM zásobní roztoky, které se pak ředí pufrem pro stanovení vazby (15 mM tris-HCl (pH 7,4), 10 mM NaCl, 1 mM CaCl₂, 1 mM MnCl₂, 1 mM MgCl₂) na konečnou koncentraci sloučeniny 100 μM. Tento roztok se pak ředí na konečnou koncentraci sloučeniny. Do jamek se pak vnáší různé koncentrace neznačených antagonistů (0,001 -100 μM) ve třech souběžných nanáškách, a pak se přidá 5,0 nM [³H]-SK&F-107260 (65-86 Ci/mmol).

Desky se pak inkubují 1 hodinu při teplotě místnosti. Po inkubaci se tekutina úplně odsaje a obsah se jednou promyje 0,2 ml ledově chladného pufru A způsobem od jamky k jamce. Pak se receptory solubilizují 0,1% SDS a navázaný [³H]-SK&F-107260 se stanoví scintilačně s tekutým scintilátorem s přídavkem 3 ml Ready Safe v přístroji Beckman LS Liquid Scintillation Counter s 40% účinností. Nespecifická vazba [³]-SK&F-107260 se stanoví pomocí 2 μM SK&F-107260 a bylo zjištěno, že spolehlivě tvoří méně než 1 % celkového přídavku radioligandu. Hodnota IC₅₀ (koncentrace antagonisty, která inhibuje 50 % vazby [³H]-SK&F-107260) se stanoví nelineární metodou vyrovnávání nejmenších čtverců modifikovanou programem LUNDON-2. Hodnota K_i (disociační konstanta antagonisty) se vypočte z rovnice $K_i = IC_{50}/(1+L/K_D)$, kde L a K_D znamenají koncentraci a disociační konstantu [³H]-SK&F-107260.

Sloučeniny podle vynálezu inhibují vazbu vitronektin-receptoru k SK&F 107107260 v koncentračním rozmezí

asi 10 až asi 0,01 $\mu\text{mol/l}$.

Sloučeniny podle vynálezu byly rovněž hodnoceny standardními způsoby in vitro a in vivo stanovení kostní resorpce používanými v oboru pro hodnocení inhibice tvorby kostní hmoty, jako je stanovení tvorby jamek popsané v EP 528 587, které je také možné provádět s lidskými osteoklasty místo krysími osteoklasty, a stanovení na ovariektomizovaných krysách popsané autorem Wronski a sp., Cells and Materials, 1991, Sup.1, 69-74.

Stanovení migrace buněk aortálního hladkého svalu

Použijí se buňky hladkého svalu aorty. Migrace buněk se sleduje v komůrce pro kultivaci buněk Transwell s použitím polykarbonátové membrány o velikosti pórů 8 μm (Costar). Na spodní povrch filtru se nanese vitronektin. Buňky se suspendují v DMEM s přidavkem 0,2 % hovězího sérového albuminu na koncentraci 2,5-5,0.10⁶ buněk/ml a předzpracují se s hodnocenou sloučeninou v různých jejích koncentracích při 20 °C a po dobu 20 minut. Jako kontrolní vzorek se použije samotné rozpouštědlo. Pak se 0,2 ml buněčné suspenze vnese na horní část komůrky. Spodní část obsahuje 0,6 ml DMEM s přidavkem 0,2 % hovězího sérového albuminu. Kultura se inkubuje při 37 °C 24 hodin v atmosféře 95 % vzduch/5 % CO₂. Po inkubaci se nemigrující buňky na horním povrchu filtru odstraní opatrným seškrábnutím. Filtr se pak fixuje v methanolu a vybarví se 10% barvivem Giemsa. Migrace se stanoví buď a) spočtením počtu buněk které migrovaly na spodní povrch filtru, nebo b) extrakcí vybarvených buněk 10% kyselinou octovou a následným stanovením absorbance při 600 nm.

Model tyroparatyreoidektomizovaných krys.

Každá pokusná skupina zahrnuje 5-6 dospělých krys Sprague-Dawley (o tělesné hmotnosti 250-400 g). Tyroparatyreoidektomizace se u krys provede 7 dní před zahájením pokusu (dostupné u firmy Taconic Farms). Všem krysám se podává každý 3 den substituční dávka thyroxinu. Po obdržení krys se stanoví hladina ionizovaného vápníku v plné krvi ihned po odběru krve venepunkcí z ocasní žíly do heparinizovaných zkumavek. Do pokusu jsou zahrnuty krysy u kterých je hladina ionizovaného Ca (stanovená na přístroji Ciba-Corning, model 634, kalcium, pH, analyzátor) < 1,2 mM/l. Každé kryse se pak zavede žilní a arteriální katetr vhodný pro delší aplikaci, k zavedení zkoušených vzorků a k odběrům vzorků krve. Pak se krysám podává krmivo prosté vápníku a k pití demineralizová voda. Stanoví se základní hladina Ca a jednotlivým krysám se podá buď kontrolní vehikulum, nebo lidský parathorhormon 1-34-peptid (hPTH1-34, dávka 1,25 µg/kg/h v solném roztoku/0,1 % hovězím sérovém albuminu, Bachem, Ca), nebo směs hPTH1-34 a zkoušené sloučeniny, kontinuální intravenózní infúzí venózním katetrem s použitím vnějšího vstřikovacího čerpadla. Kalcemická odezva každé krysy se stanovuje v dvouhodinových intervalech během doby infúze trvající 6-8 hodin.

Hodnocení resorpční a adhezní aktivity lidských osteoklastů

Bylo vyvinuto stanovení resorpčních objemů a adheze standardizované s použitím normálních lidských osteoklastů odvozených z tkáně osteoklastomu. Stanovení 1 bylo vyvinuto pro měření osteoklasty resorbovaných objemů laserovou konfokální mikroskopií. Stanovení 2 bylo vyvinuto pro rozsáhlejší hodnocení, při kterém se stanovují kolagenové fragmenty (uvolňované během resorpce) kompetitivní ELISA.

Stanovení 1 (s použitím laserové konfokální mikroskopie)

- Podíly buněčné suspenze obsahující buňky pocházející z lidského osteoklastomu se vyjmou z tekutého dusíku ve kterém se uchovávají, rychle se ohřejí na 37 °C a promyjí se (x 1) v RPMI-1640 médiu odstředěním (1000 ot/min, 5 minut, 4 °C).
- Médium se odsaje a nahradí se myší anti-HLA-DR protilátkou která se dále ředí médiem RPMI-1640 1:3. Tato suspenze se inkubuje 30 minut na ledu za častého promíchání.
- Buňky se pak promyjí (x 2) chladným RPMI-1640 s následným odstředěním (1000 ot/min, 5 minut, 4 °C) a pak se buňky převedou do sterilní 15 ml zkumavky pro odstředování. Potom se spočítá počet jednojaderných buněk ve zdokonalené Neubaerově počítací komůrce.
- Dostatečný počet magnetických kuliček (5/jednojaderná buňka) potažených kozím anti-myším IgG (Dyna1, Great Neck, NY) se vyjme ze zásobní lahve a vnesou se do 5 ml čerstvého média (k vymytí toxického konzervačního azidu). Toto médium se odstraní znehybněním kuliček magnetem a jeho nahrazením čerstvým médiem.
- Pak se kuličky smísí s buňkami a suspenze se inkubuje 30 minut na ledu. Suspenze se často promíchává.
- Potom se kuličky potažené buňkami znehybní magnetem a zbývající buňky (frakce obsahující osteoklasty) se dekantují do sterilní 50 ml zkumavky pro odstředování.
- Ke kuličkám potaženým buňkami se přidá čerstvé médium aby se uvolnily všechny zachycené osteoklasty. Tento postup se

opakuje ($\times 10$). Kuličky potažené buňkami se odstraní.

- Živé osteoklasty se spočítají v počítací komůrce s použitím fluorescein-diacetatu k označení živých buněk. K vnesení vzorku do komůrky se použije plastická Pasteurova pipeta s výtokovým otvorem o velkém průměru pro jedno použití.
- Potom se osteoklasty peletizují odstředěním, upraví se jejich hustota na vhodnou hodnotu pomocí EMEM média doplněného 10 % fetálního telecího séra a 1,7 g/l hydrogenuhličitanu sodného (počet osteoklastů je v každém nádoru různý).
- Podíly buněčné suspenze objemu 3 ml (pro zpracování s jednou sloučeninou) se dekantují do 15 ml zkumavek pro odstředování. Potom se buňky peletizují odstředěním.
- Do každé zkumavky se přidají 3 ml vhodně zpracované sloučeniny (zředěné na 50 μM v médiu EMEM). Současně se provede kontrolní pokus s vehikulem, pozitivní kontrolní pokus (anti-vitronektinový receptor myši monoklonální protilátka [87MEM1] zředěná na 100 $\mu\text{g/ml}$) a isotypový kontrolní pokus (IgG_{2a} zředěný na 100 $\mu\text{g/ml}$). Vzorky se inkubují 30 minut při 37 °C.
- Na sterilní dentinové řezy v 48-jamkové destičce se naočkují 0,5 ml podíly výše uvedeným způsobem zpracovaných vzorků a ty se pak inkubují 2 hodiny při 37 °C. Provedou se čtyři souběžná stanovení od každého provedení.
- Řezy se pak postupně promyjí v šesti roztocích horkého PBS (10 ml/jamku v 6-jamkové destičce) a potom se vnesou do čerstvého média obsahujícího zpracovanou sloučeninu nebo

kontrolní vzorky. Vzorky se pak inkubují 48 hodin při 37 °C.

Postup s kyselou fosfatasou rezistentní vůči vínanu (TRAP)
(selektivní vybarvení pro buňky osteoklastové linie)

- Kostní řezy obsahující připojené osteoklasty se promyjí ve fosforečnanem pufovaném solném roztoku a fixují se 5 minut v 2% glutaraldehydu (v 0,2 M kakodylatu sodném).
- Pak se řezy promyjí ve vodě a inkubují se 4 minuty v TRAP pufru při 37 °C (0,5 mg/ml naftolu AS-BI fosfatu rozpuštěného v N,N-dimethylformamidu ve směsi s 0,5 M citratovým pufrem (pH 4,5) a s obsahem 10 mM vínanu sodného).
- Po promytí chladnou vodou se řezy ponoří do chladného acetátového pufru (0,1 M, pH 6,2) obsahujícího 1 mg/ml granátové červení stálé a inkubují se 4 minuty při 4 °C.
- Přebytek pufru se odsaje, řezy se promyjí ve vodě a pak se vysuší vzduchem.
- TRAP pozitivní osteoklasty (jasně červená/purpurová sraženina) se spočítají mikroskopii s fázovým kontrastem a pak se osteoklasty odstraní z povrchu dentinu v ultrazvuku.
- Resorbované objemy se pak stanoví pomocí konfokálního mikroskopu Nikon/Lasertac ILM21W.

Stanovení 2 (vyhodnocení metodou ELISA)

Pro screening sloučenin zahrnutých v pokusu se lidské osteoklasty zkoncentrují a zpracují způsoby zahrnujícími prvních 9 stupňů uvedených ve stanovení 1. Pro srozumitelnost

jsou uvedené stupně znovu uvedené níže.

- Podíly buněčné suspenze obsahující buňky pocházející z lidského osteoklastomu se vyjmou z tekutého dusíku ve kterém se uchovávají, rychle se ohřejí na 37 °C a promyjí se (x 1) v RPMI-1640 médiu odstředěním (1000 ot/min, 5 minut, 4 °C).
- Médium se odsaje a nahradí se myší anti-HLA-DR protilátkou která se dále ředí médiem RPMI-1640 1:3. Tato suspenze se inkubuje 30 minut na ledu za častého promíchání.
- Buňky se pak promyjí (x 2) chladným RPMI-1640 s následným odstředěním (1000 ot/min, 5 minut, 4 °C) a pak se buňky převedou do sterilní 15 ml zkumavky pro odstřeďování. Potom se spočítá počet jednojaderných buněk ve zdokonalené Neubaerově počítací komůrce.
- Dostatečný počet magnetických kuliček (5/jednojaderná buňka) potažených kozím anti-myším IgG (Dynal, Great Neck, NY) se vyjme ze zásobní lahve a vnesou se do 5 ml čerstvého média (k vymytí toxického konzervačního azidu). Toto médium se odstraní znehybněním kuliček magnetem a jeho nahrazením čerstvým médiem.
- Pak se kuličky smísí s buňkami a suspenze se inkubuje 30 minut na ledu. Suspenze se často promíchává.
- Potom se kuličky potažené buňkami znehybní magnetem a zbývající buňky (frakce obsahující osteoklasty) se dekantují do sterilní 50 ml zkumavky pro odstřeďování.
- Ke kuličkám potaženým buňkami se přidá čerstvé médium aby se uvolnily všechny zachycené osteoklasty. Tento postup se

opakuje (x 10). Kuličky potažené buňkami se odstraní.

- Živé osteoklasty se spočítají v počítací komůrce s použitím fluorescein-diacetatu k označení živých buněk. K vnesení vzorku do komůrky se použije plastická Pasteurova pipeta s výtokovým otvorem o velkém průměru pro jedno použití.
- Potom se osteoklasty peletizují odstředěním, upraví se jejich hustota na vhodnou hodnotu pomocí EMEM média doplněného 10 % fetálního telecího séra a 1,7 g/l hydrogenuhličitanu sodného (počet osteoklastů je v každém nádoru různý).
- Na rozdíl od způsobu popsaného ve stanovení 1 se sloučeniny hodnotí ve čtyřech koncentracích, aby bylo možné získat hodnotu IC₅₀ jak je uvedeno níže.
- Zpracované osteoklasty se preinkubují 30 minut při 37 °C s testovanou sloučeninou (4 koncentrace) nebo ve formě kontrolních vzorků.
- Pak se zpracované osteoklasty naočkují na vnější stranu řezů hovězí kosti v 48 jamkové destičce pro tkáňové kultury, a pak se destička inkubuje další 2 hodiny při 37 °C.
- Kostní řezy se pak postupně promyjí v šesti roztocích horkého fosforečnanem pufovaného solného roztoku (PBS) aby se odstranily nezachycené buňky a pak se vrátí do jamek 48 jamkové destičky obsahující čerstvý roztok s hodnocenou sloučeninou nebo kontrolní roztok.

Destička s tkáňovou kulturou se pak inkubuje 48 hodin při 37 °C.

Supernatanty z každé jamky se pak odsají do jednotlivých zkumavek a provede se stanovení způsobem kompetitivní ELISA, při kterém lze detegovat c-telopeptid kolagenu typu I, který se uvolňuje během resorpce. Použije obchodně dostupné zařízení ELISA (Osteometer, Dánsko), obsahující králičí protilátku specificky reagující se sekvencí 8-aminokyselin (Glu-Lys-Ala-His-Asp-Gly-Gly-Arg) která je obsažena v telopeptidu s terminální karboxyskupinou řetězce $\alpha 1$ kolagenu typu I. Výsledky se vyjádří v % inhibice resorpce ve srovnání s kontrolním pokusem obsahujícím pouze vehikulum.

Stanovení adheze lidských osteoklastů

Pro screening sloučenin zahrnutých v pokusu se lidské osteoklasty zkoncentrují a zpracují způsoby zahrnujícími prvních 9 stupňů uvedených ve stanovení 1. Pro srozumitelnost jsou uvedené stupně znovu uvedené níže.

- Podíly buněčné suspenze obsahující buňky pocházející z lidského osteoklastomu se vyjmou z tekutého dusíku ve kterém se uchovávají, rychle se ohřejí na 37 °C a promyjí se (x 1) v RPMI-1640 médiu odstředěním (1000 ot/min, 5 minut, 4 °C).
- Médium se odsaje a nahradí se myší anti-HLA-DR protilátkou která se dále ředí médiem RPMI-1640 1:3. Tato suspenze se inkubuje 30 minut na ledu za častého promíchání.
- Buňky se pak promyjí (x 2) chladným RPMI-1640 s následným odstředěním (1000 ot/min, 5 minut, 4 °C) a pak se buňky převedou do sterilní 15 ml zkumavky pro odstřeďování. Potom se spočítá počet jednojaderných buněk ve zdokonalené Neubaerově počítací komůrce.

- Dostatečný počet magnetických kuliček (5/jednojaderná buňka) potažených kozím anti-myším IgG (Dynal, Great Neck, NY) se vyjme ze zásobní lahve a vnesou se do 5 ml čerstvého média (k vymytí toxického konzervačního azidu). Toto médium se odstraní znehybněním kuliček magnetem a jeho nahrazením čerstvým médiem.
- Pak se kuličky smísí s buňkami a suspenze se inkubuje 30 minut na ledu. Suspenze se často promíchává.
- Potom se kuličky potažené buňkami znehybní magnetem a zbývající buňky (frakce obsahující osteoklasty) se dekantují do sterilní 50 ml zkumavky pro odstředování.
- Ke kuličkám potaženým buňkami se přidá čerstvé médium aby se uvolnily všechny zachycené osteoklasty. Tento postup se opakuje ($\times 10$). Kuličky potažené buňkami se odstraní.
- Živé osteoklasty se spočítají v počítací komůrce s použitím fluorescein-diacetatu k označení živých buněk. K vnesení vzorku do komůrky se použije plastická Pasteurova pipeta s výtokovým otvorem o velkém průměru pro jedno použití.
- Potom se osteoklasty peletizují odstředěním, upraví se jejich hustota na vhodnou hodnotu pomocí EMEM média doplněného 10 % fetálního telecího séra a 1,7 g/l hydrogenuhličitanu sodného (počet osteoklastů je v každém nádobě různý).
- Osteoklasty odvozené z osteoklastomu se preinkubují s hodnocenou sloučeninou (4 koncentrace) nebo se preinkubují ve formě kontrolního vzorku 30 minut při 37 °C.

- Pak se buňky naočkují na řezy potažené osteopontinem (lidský nebo kryší osteopontin, 2,5 µg/ml) a inkubují se 2 hodiny při 37 °C.
- Nepřichycené buňky se odstraní důkladným promytím řezů ve fosforečnanem pufovaném solném roztoku a buňky zůstávající na řezech se fixují acetonem.
- Osteoklasty se vybarví kyselou fosfatasou rezistentní na vínan (viz stupně 15-17) a spočítají se pomocí optického mikroskopu. Výsledky se vyjádří v % inhibice adheze ve srovnání s kontrolním vzorkem obsahujícím pouze vehikulum.

Stanovení adheze buněk

Buňky a buněčná kultura

Použijí se lidské embryonální ledvinové buňky (HEH 293), které jsou dostupné u ATCC (katalog č. CRL 1573). Buňky se kultivují v minimálním esenciálním médiu Earl (EMEM) obsahujícím Earlovy soli, 10% fetální hovězí sérum, 1 % glutaminu a 1 % penicilinu-streptomycinu.

Konstrukty a transfekce

Fragment 3,2 kb EcoRI-KpnI subjednotky α_v a fragment 2,4 kb XbaI-XhoI subjednotky β_3 se insertují do klonovacích míst pCDN vektoru (Aiyar *asp.*, 1994), který obsahuje CMV promotor a G 418 selektovatelný marker ligací do tupých konců. K dosažení stabilní exprese se 80×10^6 HEK 293 buněk elektrotransformuje konstrukty $\alpha_v + \beta_3$ (20 µg DNA každé subjednotky) pomocí zařízení Gene Pulser (Hensley a *sp.*, 1994) a buňky se nanesou na 100 mm

destičky (5×10^5 buněk/destička). Po 48 hodinách se kultivační médium doplní 450 $\mu\text{g/ml}$ Geneticinu (G418 sulfat, GIBCO-BRL, Bethesda, MD). Pak se buňky kultivují v selekčním médiu až do doby, kdy jsou kolonie dostatečně velké pro stanovení.

Imunocytochemická analýza transfektovaných buněk

Ke zjištění zda transfektované buňky HEH 293 exprimují vitronektinový receptor se buňky immobilizují na mikroskopické sklíčko odstředěním, fixují se 2 minuty acetonem při teplotě místnosti a vysuší se vzduchem. Specifická reaktivita s 23C6, monoklonální protilátkou specifickou pro komplex $\alpha\text{v}\beta_3$ se prokáže s použitím nepřímé imunofluorescenční metody.

Studie buněčné adheze

ELISA desky o 96 jamkách Corning se nejprve potáhnou 0,1 ml lidského vitronektinu (0,2 $\mu\text{g/ml}$ v médiu RPMI), přes noc při teplotě 4 °C. Před zahájením pokusu se desky jednou promyjí médiem RPMI a blokují se v 3,5 % BSA v RPMI médiu po dobu 1 hodiny při teplotě místnosti. Transfektované 293 buňky se resuspendují v médiu RPMI, doplněném 20 mM Hepes, 0,1 % BSA, při pH 7,4 a na hustotu $0,5 \times 10^6$ buněk/ml. Do každé jamky se vnese 0,1 ml buněčné suspenze a zahájí se inkubace po dobu 1 hodiny při 37 °C v přítomnosti nebo bez přítomnosti různých antagonistů $\alpha\text{v}\beta_3$. Po inkubaci se přidá 0,025 ml 10% roztoku formaldehydu, pH 7,4, a buňky se fixují 10 minut při teplotě místnosti. Pak se destičky 3 krát promyjí 0,2 ml média RPMI a přichycené buňky se 20 minut vybarví 0,1 ml 0,5% tolidinové modří při teplotě místnosti. Přebytek barviva se odstraní důkladným promytím deionizovanou vodou. Tolidinová modř včleněná do buněk se eluuje přidávkem 0,1 ml 50% ethanolu

obsahujícího 50 mM HCl. Buněčná adheze se kvantifikuje změřením optické hustoty při 600 nm ve vyhodnocovacím zařízení pro destičky (Titertek Multiskan MC, Sterling, VA).

Stanovení vazby $\alpha\beta_5$ v pevné fázi

Vitronektinový receptor $\alpha\beta_5$ se získá přečištěním z lidské placenty. Zpracovaný receptor se zředí 50 mM tris-HCl, pH 7,5, 100 mM NaCl, 1 mM CaCl_2 , 1 mM MnCl_2 , 1 mM MgCl_2 (pufr A) a ihned se nanese na 96-jamkové destičky ELISA v dávce 0,1 ml na jamku. Do jamky se vnese 0,1–0,2 μg $\alpha\beta_3$. Pak se destičky inkubují přes noc při 4 °C. Na začátku pokusu se jamky jednou promyjí pufr A a inkubují se s 0,1 ml 3,5% hovězího sérového albuminu ve stejném pufru 1 hodinu při teplotě místnosti. Po inkubaci se jamky odsají a promyjí se dvakrát 0,2 ml pufru A.

Při kompetitivním stanovení s [^3H]-SK&F-107260 se do jamek vnesou různé koncentrace neznačených antagonistů (0,001–100 μM) a potom se přidá 5,0 nM [^3H]-SK&F-107260. Destičky se pak inkubují 1 hodinu při teplotě místnosti. Po inkubaci se tekutina úplně odsaje a obsah se jednou promyje 0,2 ml ledově chladného pufru A způsobem od jamky k jamce. Pak se receptory solubilizují 0,1% SDS a navázaný [^3H]-SK&F-107260 se stanoví scintilačně s tekutým scintilátorem s přídatkem 3 ml Ready Safe v přístroji Beckman LS Liquid Scintillation Counter s 40% účinností. Nespecifická vazba [3]-SK&F-107260 se stanoví pomocí 2 μM SK&F-107260 a bylo zjištěno, že spolehlivě tvoří méně než 1 % celkového přídatku radioligandu. Hodnota IC_{50} (koncentrace antagonisty, která inhibuje 50 % vazby [^3H]-SK&F-107260) se stanoví nelineární metodou vyrovnávání nejmenších čtverců modifikovanou programem LUNDON-2. Hodnota K_i (disociační

konstanta antagonisty) se vypočte z rovnice podle Chenga a Prussoffa: $K_i = IC_{50}/(1+L/K_D)$, kde L a K_D znamenají koncentraci a disociační konstantu [3H]-SK&F-107260.

Inhibice GPIIb-IIIa vazby zprostředkované RGD

Přečištění GPIIb-IIIa

Deset jednotek dříve odebraných, promytých lidských trombocytů (získaných od firmy Red Cross) se rozloží během 2 hodin mírného míchání v prostředí 3% oktylglukosidu, 20 mM tris-HCl, pH 7,4, 140 mM NaCl, 2 mM $CaCl_2$ při 4 °C. Lyzát se pak odstřeďuje 1 hodinu při 100 000 g. Získaný supernatant se pak vnese na kolonu 5 ml lektin(čočka)-Sepharosy 4B (E.Y.Labs) předem ustálené s 20 mM tris-HCl, pH 7,4, 100 mM NaCl, 2 mM $CaCl_2$, 1% oktylglukosidem (pufr A). Po 2 hodinách inkubce se kolona promyje 50 ml chladného pufru A. Lektin se zachyceným GPIIb-IIIa se eluuje pufr A obsahujícím 10 % dextrosy. Celý postup se provádá při 4 °C. Čistota získaného GPIIb-IIIa je > 95 jak bylo ověřeno elektroforézou na SDS polyakrylamidovém gelu.

Inkorporace GPIIb-IIIa do liposomů

Směs fosfatidylserinu (70 %) a fosfatidylcholinu (30 %) (Avanti Polar Lipids) se vysuší na stěnách skleněné zkumavky v proudu dusíku. Přečištěný GPIIb-IIIa se zředí na konečnou koncentraci 0,5 mg/ml a smísí se s fosfolipidy v poměru protein:fosfolipid 1:3 (hmotn.:hmotn.). Tato směs se resuspenduje a sonifikuje se v ultrazvukové lázni 5 minut. Pak se směs dialyzuje přes noc s použitím dialyzační trubice s mezní hodnotou molekulové hmotnosti 12000 -14000 proti 1000násobnému přebytku 50 mM tris-HCl, pH 7,4, 100 mM NaCl, 2

mM CaCl_2 (2 výměny). Liposomy obsahující GPIIb-IIIa se odstředí 15 minut při 12000 g a resuspendují se v dialyzačním pufru na konečnou koncentraci proteinu asi 1 mg/ml. Liposomy se uchovávají při $-70\text{ }^\circ\text{C}$ až do okamžiku potřeby.

Kompetitivní vazba na GPIIb-IIIa

Vazba na fibrinogenový receptor (GPIIb-IIIa) se stanoví nepřímým kompetitivním stanovením vazby s použitím $[^3\text{H}]$ -SK&F-107260 jako ligandu typu RGD. Stanovení vazby se provede v 96 jamkovém filtračním destičkovém uspořádání (Millipore Corporation, Bedford, MA) s použitím $0,22\text{ }\mu\text{m}$ hydrofilních duraporových membrán. Jamky se předem potáhnou při teplotě místnosti $0,2\text{ ml}$ polylysinu $10\text{ }\mu\text{g/ml}$ (Sigma Chemical Co., St.Louis, MO) a ponechají se 1 hodinu k zablokování nespecifické vazby. Do jamek se přidají benzazepiny v různých koncentracích vždy ve čtyřech souběžných provedeních. Pak se do každé jamky vnese $[^3\text{H}]$ -SK&F-107260 v konečné koncentraci $4,5\text{ nM}$, s následným přidavkem $1\text{ }\mu\text{g}$ přečištěného GPIIb-IIIa z destiček obsaženého v liposomech. Tyto směsi se inkubují 1 hodinu při teplotě místnosti. GPIIb-IIIa navázaný na $[^3\text{H}]$ -SK&F-107260 se oddělí od nenavázaných složek filtrací s použitím filtrační sestavy Millipore, potom se promyje ledově chladným pufrem (2krát, vždy po $0,2\text{ ml}$). Navázaná radioaktivní složka, zůstávající na filtru, se kvantifikuje v $1,5\text{ ml}$ Ready Solve (Beckman Instruments, Fullerton, CA) ve scintilačním počítači částic Beckman Liquid Scintillation Counter (Model LS6800) s 40% účinností. Nespecifická vazba se stanoví v přítomnosti $2\text{ }\mu\text{M}$ neznačeného SK&F-107260 a bylo zjištěno, že je spolehlivě menší než $0,14\text{ }\%$ celkem vnesené radioaktivity. Všechny výsledky jsou uváděny jako průměry ze čtyř souběžných stanovení.

Výsledky kompetitivního stanovení vazby se analyzují nelineární metodou vyrovnávání nejmenších čtverců. Tímto způsobem se získají hodnoty hodnota IC_{50} antagonistů (koncentrace antagonisty, která inhibuje specifickou vazbu [3H]-SK&F-107260) o 50 % v rovnovážném stavu). Hodnota IC_{50} má vztah k rovnovážné disociační konstantě (K_i) antagonisty podle rovnice Chenga a Prussoffa: $K_i = IC_{50}/(1+L/K_D)$, kde L znamená koncentraci [3H]-SK&F-107260 použitou v kompetitivním stanovení vazby (4,5 nM) a K_D znamená disociační konstantu [3H]-SK&F-107260 stanovenou Scatchardovou analýzou (4,5 nM).

Výhodné sloučeniny podle vynálezu mají afinitu pro vitronektinový receptor vzhledem k fibrinogenovému receptoru větší než 10:1. Nejvýhodnější sloučeniny mají uvedený poměr aktivity větší než 100:1.

Účinnost sloučenin vzorce (I), samotných nebo v kombinaci s antineoplastikem, lze stanovit na několika modelech s transplantovaným myším tumorem. Podrobnosti o výše uvedených pokusných modelech jsou uvedené v U.S. Patentech č. 5,004,758 a 5,633,016.

Níže uvedené příklady provedení vynálezu jsou určeny pouze ke znázornění přípravy a použití sloučenin podle vynálezu, ale vynález tím žádným způsobem neomezuje. Pracovníkům v oboru bude jistě zřejmých i více dalších možných provedení.

Příklady provedení vynálezu

Obecná vysvětlení k příkladům

Spektra protonové nukleární magnetické rezonance (^1H NMR) jsou zaznamenána buď při 250, 300 nebo při 400 MHz. Chemické posuny jsou uváděné v ppm (δ) vzhledem k referenčnímu píku interního standardu, tetramethylsilanu (TMS). Zkratky uváděné v NMR spektrech mají následující významy: s=singlet, d=dublet, t=triplet, q=kvartet, m=multiplet, dd= dublet dubletů, dt= dublet tripletů, app=zdánlivý, br=široký. J znamená interakční konstantu NMR měřenou v Hz. CDCl_3 znamená deuteriochloroform, $\text{DMSO}-d_6$ znamená hexadeuterodimethylsulfoxid a CD_3OD znamená tetra-deuteromethanol. Infračervená spektra byla získána měřením transmise a výsledky jsou uvedené v recipročních hodnotách vlnových délek (cm^{-1}). Hmotnostní spektra byla získána s použitím ionizačních způsobů jako je elektro-spray (ES) nebo FAB. Elementární analýzy byly provedeny vlastními prostředky nebo u Quantitative Technologies Inc., Whitehouse, NJ. Stanovení teploty tání bylo prováděno na bodotávku Thomas-Hoover, přičemž teploty tání jsou nekorigované. Všechny údaje týkající se teploty jsou uvedeny ve stupních Celsia. Pro chromatografii na tenké vrstvě byl užity desky s tenkou vrstvou Analtech Silica Gel GF a E.Merck Silica Gel 60 F-254. Jak rychlá chromatografie tak chromatografie s vlastním spádem se prováděly s použitím silikagelu E.Merck Kieselgel 60 (230-400 mesh). Analytická a preparativní HPLC stanovení byla provedena na chromatografech Rainin nebo Beckman. ODS znamená oktadecylsilyl-derivatizovanou silikagelovou chromatografickou pevnou fází. $5\ \mu$ APEX-ODS znamená oktadecylsilyl-derivatizovaný silikagelový chromatografický nosič o nominální velikosti částic $5\ \mu$ vyráběný firmou Jones Chromatography, Littleton, Colorado. YMC ODS-AQR znamená registrovaný chráněný název ODS chromatografického nosiče firmy ZMC Co., Ltd, Kyoto, Japonsko. PRP-1R je registrovaný chráněný název pro polymerní (styren-divinylbenzenový) chromatografický nosič firmy Hamilton Co., Reno, Nevada. Celite^R je registrovaný

chráněný název pro filtrační pomocný prostředek obsahující kyselinou promytou křemelinu, firmy Manville Corp., Denver, Colorado.

Příprava 1

Příprava 2-[(3-hydroxy-1-propyl)amino]pyridin-N-oxidu

a) 2-[(3-hydroxy-1-propyl)amino]pyridin-N-oxid

Směs hydrochloridu 2-chlorpyridin-N-oxidu (16,6 g, 0,1 mol), 3-amino-1-propanolu (15,3 ml, 0,2 mol), NaHCO_3 (42 g, 0,5 mol), a terc.amylalkoholu (100 ml) se zahřívá při teplotě zpětného toku. Po 21 hodinách se reakční směs ochladí, zředí se CH_2Cl_2 (300 ml) a zfiltruje se s pomocí odsávání k odstranění nerozpustných složek. Filtrát se zahustí a potom se opětovně zahustí z toluenu čímž se získá žlutý olej. Chromatografií na silikagelu (20 % $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$) se získá titulní sloučenina (15,62 g, 93 %) ve formě žlutého pevného produktu: TLC (20 % $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$) R_f 0,48; ^1H NMR (250, CDCl_3) δ 8,07 (dd, $J=6,6, 1,2$ Hz, 1H), 7,34 (br t, 1H), 7,10–7,30 (m, 1H), 6,64 (dd, $J=8,5, 1,4$ Hz, 1H), 6,40–6,60 (m, 1H), 4,49 (br s, 1H), 3,65–3,90 (m, 2H), 3,35–3,60 (m, 2H), 1,75–2,00 (m, 2H); MS(ES) m/e 169 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Příprava 2

Příprava 6-(methyলামিনো)-2-pyridylethanolu

a) 2-(terc.butoxykarbonylamino)-6-pikolin

Roztok 2-amino-6-pikolinu (21,63 g, 200 mmol) a di-terc.butylidikarbonátu (52,38 g, 240 mmol) v CH_2Cl_2 (200 ml) se zahustí na rotační vakuové odparce při 50 °C a zbytek se nechá otáčet při 50 °C za vakua. Po 21,5 hodinách se reakční

směs zředí hexany (400 ml) a zfiltruje se přes silikagel (hexany a potom směs 20 % EtOAc/hexany). Zahuštěním se získá titulní sloučenina (41,84, kvantitativně) ve formě světle žlutého oleje, který postupně stáním tuhne: ^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) δ 7,71 (d, $J=8,3$ Hz, 1H), 7,40–7,65 (m, 2H), 6,80 (d, $J=7,5$ Hz, 1H), 2,43 (s, 3H), 1,50 (s, 9H); MS(ES) m/e 153 ($\text{M}+\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8$) $^+$.

b) 2-[(terc.butoxykarbonyl)methylamino]-6-pikolin

K roztoku 2-(terc.butoxykarbonylamino)-6-pikolinu (15,62 g, 75 mmol) a jodmethanu (9,3 ml, 150 mmol) v bezvodém DMSO (75 ml) se při 15 °C (lázeň s chladnou vodou) přidá po částech a během několika minut NaH (60% v minerálním oleji, 3,60 g, 90 mmol). Teplota v reakční směsi vzroste na 35 °C. Když ustane vyvíjení plynu, lázeň s chladnou vodou se odstraní a reakční směs se míchá při teplotě místnosti. Po 0,5 hodině se tmavěžlutá směs vlije na led/ H_2O (300 ml) a extrahuje se Et_2O (3 x 300 ml). Spojené organické vrstvy se postupně promyjí H_2O (2 x 75 ml) a solným roztokem (75 ml). Vysušením (MgSO_4) se získá žlutý olej, který se zpracuje chromatografií na silikagelu (7 % EtOAc/hexany). Titulní sloučenina (13,01 g, 78 %) se získá ve formě nevýrazně žlutého oleje. ^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) δ 7,51 (app t, 1H), 7,37 (d, $J=8,2$ Hz, 1H), 6,86 (d, $J=7,2$ Hz, 1H), 3,38 (s, 3H), 2,49 (s, 3H), 1,50 (s, 9H); MS(ES) m/e 223 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

c) Ethyl-6-[(terc.butoxykarbonyl)methylamino]-2-pyridyl-acetat

Z diisopropylaminu (19,5 ml, 139,14 mmol) a 2,5 M BuLi v hexanech (46,4 ml, 115,95 mmol) v suchém THF (350 ml) se při 0 °C a v atmosféře argonu připraví LDA. Tento roztok se ochladí

na $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ a po kapkách a během 10 minut se k němu přidá roztok 2-[(*tert.*butoxykarbonyl)methylamino]-6-pikolinu (10,31 g, 46,38 mmol) v suchém THF (46 ml). K převedení roztoku se použije další suchý THF (2 ml). Oranžový roztok se míchá 15 minut při $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ a potom se rychle přidá diethylkarbonat (6,2 ml, 51,02 mmol). Červený roztok se míchá 15 minut při $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ a pak se reakce přeruší pomocí z poloviny nasyceného roztoku NH_4Cl (175 ml). Tato směs se ohřeje na $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ a extrahuje se EtOAc (175 ml) a potom CH_2Cl_2 (2 x 100 ml). Spojené organické podíly se promyjí solným roztokem (100 ml), vysuší se (MgSO_4) a zahustí se. Kalný žlutý olej se zpracuje chromatografií na silikagelu (15 % EtOAc /hexany) a získá se tak ve formě světležlutého oleje titulní sloučenina (10,72 g, 79 %). ^1H NMR (250 MHz, CDCl_3) δ 7,51–7,63 (m, 2H), 6,91–7,03 (m, 1H), 4,19 (q, $J=7,1\text{ Hz}$, 2H), 3,77 (s, 2H), 3,38 (s, 3H), 1,27 (t, $J=7,1\text{ Hz}$, 3H), 1,51 (s, 9H); MS(ES) m/e 295 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

d) 6-[(*tert.*butoxykarbonyl)methylamino]-2-pyridylethanol

K míchanému roztoku ethyl-6-[(*tert.*butoxykarbonyl)methylamino]-2-pyridylacetátu (6,97 g, 23,7 mmol) v bezvodém THF (30 ml) se v atmosféře argonu přidá injekční stříkačkou roztok 2 N LiBH_4 v THF (7 ml, 14 mmol). Pak se reakční směs pomalu zahřeje na teplotu zpětného toku (zpočátku je reakce exotermní). Po 16 hodinách se reakční směs ochladí na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a opatrně se zalije vodou (50 ml). Tato směs se pak extrahuje EtOAc (150 ml), organická vrstva se promyje solným roztokem, vysuší se (Na_2SO_4) a zahustí se. Přečištěním rychlou chromatografií na silikagelu (35 % EtOAc /hexan) se získá titulní sloučenina (5,26 g, 88 %) ve formě čirého oleje. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,57 (m, 2H), 6,88 (d, $J=7,2\text{ Hz}$, 1H), 4,01 (t, 2H), 3,39 (s, 3H), 3,00 (t, 2H), 1,53 (s, 9H); MS(ES) m/e 253,2 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

e) 6-(methylamino)-2-pyridylethanol

K 6-[(terc.butoxykarbonyl)methylamino]-2-pyridylethanolu (17,9 g, 71 mmol) se přidá roztok 4 N HCl v dioxanu (200 ml). Reakční směs se míchá při teplotě místnosti 1 hodinu (dochází k mírnému uvolňování plynu), a potom se směs zahustí do sucha. Ve vakuu produkt solidifikuje ve formě hydrochloridové soli. Tento pevný produkt se rozpustí v nasyceném roztoku NaCl, 1,0 N NaOH (75 ml), a roztok se extrahuje Et₂O (2 x 200 ml). Spojené organické vrstvy se promyjí solným roztokem, vysuší se (Na₂SO₄) a zahuštěním se získá ve formě voskovitého pevného produktu titulní sloučenina (9,12 g, 85 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,37 (t, 1H), 6,42 (d, J=7,3 Hz, 1H), 6,27 (d, J=8,3 Hz, 1H), 4,62 (br s, 1H), 3,96 (t, 2H), 2,90 (d, J=5,2 Hz, 3H), 2,84 (t, 2H); MS(ES) m/e 153 (M+H)⁺.

Příprava 3

Příprava ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoatu

a) Ethyl-(±)-3-hydroxy-4-(4-methoxyfenyl)-3-fenylbutanoat

K roztoku bis(trimethylsilyl)lithiumamidu (1,0 M v THF, 40 ml, 40 mmol) v suchém THF (60 ml) v baňce vysušené plamenem se při -78 °C v atmosféře argonu přidá po kapkách a během 5-6 minut bezvodý EtOAc (4,3 ml, 44 mmol). Žlutý roztok se míchá 0,5 hodiny při -78 °C a pak se přidá po kapkách během 12 minut roztok 2-(4-(methoxyfenyl)ethanonu (Chem.Ber.1958, 91, 755-759; 4,53 g, 20 mmol) v suchém THF. K převedení přídatku se použije další podíl THF (2 ml). Po 0,5 hodině se reakce přeruší přídatkem nasyceného roztoku NH₄Cl (120 ml) a směs se nechá ohřát na teplotu místnosti. Pak se reakční směs extrahuje EtOAc, vysuší se (MgSO₄), zahustí se a zpracováním chromatografií na silikagelu (20 % EtOAc/hexany) se získá ve

formě světležlutého oleje titulní sloučenina (6,13 g, 96 %).
TLC R_f (20 % EtOAc/hexany) 0,34; MS(ES) m/e 315,2 (M+H)⁺.

b) Ethyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-fenylbutanoat

K roztoku ethyl-(±)-3-hydroxy-4-(4-methoxyfenyl)-3-fenylbutanoatu (6,13 g, 19,5 mmol) a triethylsilanu (6,2 ml, 39 mmol) v bezvodém CH₂Cl₂ (49 ml) se při 0 °C v atmosféře argonu přidá po kapkách během 3 minut etherat fluoridu boritého (4,8 ml, 39 mmol). Potom se reakční směs míchá přes noc při teplotě místnosti a pak se reakce přeruší pomocí 5% NaHCO₃ (100 ml). Tato směs se intenzivně míchá 10 minut a vrstvy se oddělí. Vodná vrstva se extrahuje CH₂Cl₂ (100 ml), spojené organické vrstvy se vysuší (Na₂SO₄) a zahustí se. Zbytek se znovu zahustí s přidavkem hexanů (k odstranění CH₂Cl₂) a získá se tak žlutý olej. Olej se rozpustí v absolutním EtOH (100 ml) a přidá se 10% Pd/C (775 mg, 1,95 mmol). Tato směs se protřepává v zařízení podle Parra při teplotě místnosti a v atmosféře H₂ (50 psi) 2 hodiny, a potom se zfiltruje přes Celit^R. Filtrát se zahustí a zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (15 % EtOAc/hexany). Titulní sloučenina (5,27 g, 91 %) se získá ve formě bezbarvého oleje. TLC R_f (15 % EtOAc/hexany) 0,40; MS(ES) m/e 299,2 (M+H)⁺.

c) Ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoat

K roztoku ethyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-fenylbutanoatu (2,01 g, 6,74 mmol) a ethanthiolu (2,5 ml, 33,7 mmol) v bezvodém CH₂Cl₂ (67 ml) o teplotě 0 °C a v atmosféře argonu se v jedné dávce přidá bezvodý chlorid hlinitý (4,49 g, 33,7 mmol). Získaný žlutý roztok se ohřeje na teplotu místnosti a míchá se tři hodiny, potom se znovu ochladí na 0 °C a zalije

se chladnou 3 N HCl (67 ml). Tato směs se míchá 5 minut, potom se nechá rozdělit. Vodná vrstva se extrahuje CH₂Cl₂ (2 x 100 ml) a spojené organické podíly se vysuší (Na₂SO₄) a zahustí se. Chromatografií na silikagelu (25 % EtOAc/hexany) se získá ve formě bezbarvého oleje titulní sloučenina (1,84 g, 96 %). TLC R_f (30 % EtOAc/hexany) 0,47; MS(ES) m/e 285,2 (M+H)⁺.

Příprava 4

Příprava 2-[(2-amino-1-ethyl)amino]pyridin-dihydrochloridu

a) 2-[[2-(terc.butoxykarbonyl)amino-1-ethyl]amino]-1-oxopyridin

Směs N-Boc-ethylendiaminu (5,83 g, 36,39 mmol), 2-chlorpyridin-N-oxid-hydrochloridu (7,25 g, 43,67 mmol), NaHCO₃ (15,29 g, 182 mmol) a terc.amylalkoholu se zahřeje na teplotu zpětného toku. Po 47 hodinách se tmavá hnědá směs ochladí, zředí se CH₂Cl₂ (100 ml) a zfiltruje se s pomocí odsávání. Filtrát se zahustí a zbytek se znovu zahustí s přidavkem toluenu. Titulní sloučenina se získá zpracováním chromatografií na silikagelu (10 % MeOH/CH₂Cl₂) ve formě žlutého pevného produktu (8,23 g, 89 %). ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 8,16 (dd, J=6,5, 1,3 Hz, 1H), 7,05-7,30 (m, 2H), 6,68 (br d, J=8,6 Hz, 1H), 6,50-6,65 (m, 1H), 5,70-5,95 (m, 1H), 3,25-3,60 (m, 4H), 1,44 (s, 9H); MS(ES) m/e 254 (M+H)⁺.

b) 2-[[2-(terc.butoxykarbonyl)amino-1-ethyl]amino]pyridin

Směs 2-[[2-(terc.butoxykarbonyl)amino-1-ethyl]amino]-1-oxopyridinu (7,00 g, 27,64 mmol), 10% Pd/C (5,88 g, 5,53 mmol), cyklohexenu (28 ml, 276,4 mmol), a isopropanolu (110 mmol) se zahřeje na teplotu zpětného toku. Po 17 hodinách se reakční směs zfiltruje přes Celite^R a filtrát se zahustí.

Zlutý zbytek se znovu zahustí s přidavkem toluenu a potom se chromatografuje na silikagelu (5 % MeOH/CHCl₃). Titulní sloučenina se získá ve formě žlutého oleje (5,09 g, 78 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,05–8,12 (m, 1H), 7,37–7,46 (m, 1H), 6,53–6,61 (m, 1H), 6,41 (d, J=8,3 Hz, 1H), 5,12 (br s, 1H), 4,86 (br s, 1H), 3,26–3,51 (m, 4H), 1,44 (s, 9H); MS(ES) m/e 238 (M+H)⁺.

c) 2-[(2-amino-1-ethyl)amino]pyridin-dihydrochlorid

4 N HCl/dioxan (54 ml) se vstříkne k roztoku 2-[[2-(terc.butoxykarbonyl)amino-1-ethyl]aminopyridinu (5,09 g, 21,45 mmol) v v bezvodém CH₂Cl₂ (54 ml) při teplotě 0 °C a v atmosféře argonu, a směs se pak míchá při teplotě místnosti. Po 2 hodinách se směs ochladí na 0 °C a zfiltruje se s pomocí odsávání. Pevný podíl se intenzivně promyje bezvodým Et₂O a vysušením ve vysokém vakuu při 40 °C se získá ve formě špinavě bílého, poněkud hygroskopického produktu titulní sloučenina (4,27 g, 95 %). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7,99–8,07 (m, 1H), 7,92–7,98 (m, 1H), 7,19 (d, J=9,1 Hz, 1H), 6,98–7,04 (m, 1H), 3,76 (t, J=6,2 Hz, 2H), 3,27 (t, J=6,2 Hz, 2H, signál je částečně překrytý zbytkovým signálem rozpouštědla); MS(ES) m/e 138 (M+H)⁺.

Příprava 5

Příprava 2-[(3-hydroxy-1-propyl)amino]-4-methylpyridin-N-oxidu

a) 2-chlor-4-methylpyridin

K roztoku 2-amino-4-pikolinu (15,0 g, 139 mmol) v koncentrované HCl (200 ml) se pomalu při 0 °C přidá roztok dusitanu sodného (13,88 g, 200 mmol). Potom se reakční směs nechá ohřát na teplotu místnosti, míchá se 16 hodin a potom se

27.11.00

vlije na led (500 g). Hodnota pH se upraví na 8,0 koncentrovaným NH_4OH a směs se extrahuje etherem (3 x 300 ml). Spojené etherové vrstvy se postupně promyjí H_2O (2 x 200 ml) a solným roztokem (200 ml). Vysušením (MgSO_4) a zahuštěním se získá ve formě nevýrazně žlutého oleje titulní sloučenina (10,3 g, 58 %). MS(ES) m/e 127,8 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

b) 2-chlor-4-methylpyridin-N-oxid-hydrochlorid

Směs 2-chlor-4-methylpyridinu (10,0 g, 78,3 mmol) a 34% kyseliny peroctové (76,05 g, 91,0 mmol) v ledové AcOH (10 ml) se zahřívá 3 hodiny při 70 °C. Pak se reakční směs ochladí, přidá se koncentrovaná HCl (35 ml) a směs se zahustí na rotační vakuové odparce. Titulní sloučenina se získá rekrystalizací z butanolu a následnou triturací s etherem ve formě bílého pevného produktu (7,16 g, 51 %). MS(ES) m/e 143,9 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

c) 2-[(3-hydroxy-1-propyl)amino]-4-methylpyridin-N-oxid

Směs 2-chlor-4-methylpyridin-N-oxid-hydrochloridu (7,16 g, 39 mmol), 3-aminopropanolu (6,01 g, 80 mmol) a NaHCO_3 (16,8 g, 200 mmol) v terc.amylalkoholu (50 ml) se zahřívá 19 hodin při teplotě zpětného toku. Pak se reakční směs zředí CH_2Cl_2 (200 ml), zfiltruje se a filtrát se zahustí na rotační vakuové odparce. Titulní sloučenina se získá rekrystalizací z $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}$ (5,41 g, 75 %) ve formě žlutého pevného produktu. TLC (15 % $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) R_f 0,44; ^1H NMR (400, CDCl_3) δ 7,92 (d, $J=6,7$, 1H), 7,28 (br t, 1H), 6,43 (s, 1H), 6,33 (dd, $J=6,6$, 2,1 Hz, 1H), 3,73 (t, $J=5,7$ Hz, 2H), 3,47 (q, $H=6,3$ Hz, 2H), 2,29 (s, 3H), 1,82–1,88 (m, 2H); MS(ES) m/e 183 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Příprava 6

Příprava 2-[(3-brom-1-propyl)amino]pyridin-N-oxid-hydrobromidu

a) 2-[(3-brom-1-propyl)amino]pyridin-N-oxid-hydrobromid

K roztoku 2-[(3-hydroxy-1-propyl)amino]-4-methylpyridin-N-oxidu (10,0 g, 54,87 mmol) v CH_2Cl_2 (100 ml) se při 0 °C přidá po kapkách během 15-20 minut roztok SOBr_2 (5,0 ml, 64,5 mmol) v CH_2Cl_2 (20 ml). Potom se reakční směs ohřeje na teplotu místnosti, míchá se 2 hodiny a potom se pomalu přidá Et_2O (200 ml). Rozpouštědla se od gumovité sraženiny oddělí dekantací a sraženina se promyje dalším podílem $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_2\text{O}$ (několikrát). Získaný hnědožlutý zbytek ponechaný v chladničce přes noc ztuhne. Tento pevný podíl se oddělí a promyje se Et_2O čímž se ve formě žlutého pevného produktu získá titulní sloučenina (15,07 g). Další podíl titulní sloučeniny (2,05 g) ve formě bílých jehliček se získá zahuštěním spojených organických podílů. Celkový výtěžek titulní sloučeniny je 17,89 g (96 %). MS(ES) m/e 245 a 247 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Příprava 7

Příprava 2-[(5-hydroxy-1-pentyl)amino]pyridin-N-oxidu

a) 2-[(5-hydroxy-1-pentyl)amino]pyridin-N-oxid

Suspenze 2-chlorpyridin-N-oxid-hydrochloridu (1,00 g, 6,03 mmol) a NaHCO_3 (2,53 g, 30,1 mmol) v terc.amylalkoholu (20 ml) se zahřívá 18 hodin při teplotě zpětného toku. Pak se reakční směs ochladí na teplotu místnosti, zředí se CH_2Cl_2 a zfiltruje se. Filtrát se zahustí na světlezelený olej. Radiální chromatografií (10 % $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$, silikagel, deska 6 mm) se získá ve formě čirého oleje titulní sloučenina (0,52 g). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,10 (d, $J=6,5$ Hz, 1H), 7,18 (t, $J=7,3$ Hz, 1H), 6,85 (br s, 1H), 6,50 (m, 2H), 3,65 (t, $J=6,2$

27.11.00

Hz, 2H), 3,23 (m, 2H), 2,20 (br s, 1H), 1,85-1,40 (m, 6H).

Příprava 8

Příprava 2-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]-5-pyridyl-ethanolu

a) 5-brom-2-[(terc.butoxykarbonyl)amino]pyridin

Roztok 2-amino-5-brompyridinu (5,67 g, 32,7 mmol) a di-terc.butyl-dikarbonatu (8,57 g, 38,3 mmol) v CH_2Cl_2 (50 ml) se zahustí na rotační vakuové odparce při 50 °C a nechá se rotovat při 50 °C a pod vakuem přes noc. Po 20 hodinách se chromatografií na silikagelu (5 % MeOH/hexany) získá ve formě bílého pevného produktu titulní sloučenina (6 g, 67 %). MS(ES) m/e 273 (M+H)⁺.

b) 5-brom-2-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]-pyridin

K roztoku 5-brom-2-[(terc.butoxykarbonyl)amino]pyridinu (6 g, 21,9 mmol) v suchém DMF (50 ml) a v atmosféře dusíku se přidá po částech při 0 °C 80% NaH (0,8 g, 26,3 mmol). Reakční směs se míchá 15 minut při 0 °C a potom se nastříkne jodmethan (3 ml, 43,8 mmol). Reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a potom se zahustí ve vakuu. Zbytek se zředí vodou a extrahuje se CH_2Cl_2 . Po vysušení (MgSO_4), zahuštění a zpracování rychlou chromatografií na silikagelu (5 % EtOAc/hexany) se ve formě oleje získá titulní sloučenina (2,2 g, 35 %). MS(ES) m/e 286,9 (M+H)⁺.

c) 2-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]-5-vinyl-pyridin

K roztoku 5-brom-2-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methyl-amino]pyridinu (2,2 g, 7,69 mmol) a vinyltributylstannia (3,4 ml, 11,5 mmol) v toluenu se při teplotě místnosti přidá tetrakis(trifenyfosfin)palladium(0) (346 mg, 0,3 mmol). Tento roztok se se odplyní ve vakuu během 10 minut a pak se zahřeje na teplotu zpětného toku. Po 0,5 hodině se reakční směs ochladí, zahustí se ve vakuu a rychlou chromatografií na silikagelu (5 % EtOAc/hexany) se ve formě bezbarvého oleje získá titulní sloučenina (1,0 g, 65 %). MS(ES) m/e 235 (M+H)⁺. Získá se i nezreagovaný 5-brom-2-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]pyridin (0,3 g).

d) 2-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]-5-pyridyl-ethanol

K roztoku 2-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]-5-vinylpyridinu (1,1 g, 4,7 mmol) v suchém THF (20 ml) se přidá při 0 °C komplex boran-tetrahydrofuran (1,0 M THF, 3 ml, 3 mmol). Reakční směs se pak zahřívá 1 hodinu a potom se zahustí ve vakuu. Surový produkt se rozpustí v THF (5 ml), přidá se NaOAc (770 mg, 9,4 mmol) a potom 30% H₂O₂ (1,56 ml). Pak se reakční směs míchá 1 hodinu při teplotě místnosti načež se částečně zahustí ve vakuu. Zbytek se zpracuje s nasyceným NaCl a směs se extrahuje CH₂Cl₂. Vysušením (MgSO₄), zahuštěním a rychlou chromatografií na silikagelu (EtOAc/hexany 1:1) se ve formě bezbarvého oleje získá titulní sloučenina (230 mg, 21 %). MS(ES) m/e 253 (M+H)⁺.

Příprava 9

Příprava 2-[N-(3-methansulfonyloxy-1-propyl)-N-(terc.butoxykarbonyl)amino]pyridin-N-oxidu

a) 2-[N-(3-hydroxy-1-propyl)-N-(terc.butoxykarbonyl)-

27.11.00

amino]pyridin-N-oxid

Roztok 2-[(3-hydroxy-1-propyl)amino]pyridin-N-oxidu (8,0 g, 47,6 mmol) v terc.BuOH (80 ml) se zpracuje s di-terc.butyl-dikarbonatem (11,4 g, 55,3 mmol). Po 18 hodinách se roztok zahustí a zbytek se trituruje s hexanem. Získaná pevná hmota se vysuší ve vakuu a získá se tak ve formě špinavě bílého produktu titulní sloučenina (12,5 g, 98 %). MS(ES) m/e 269,3 (M+H)⁺.

b) 2-[N-(3-methansulfonyloxy-1-propyl)-N-(terc.butoxy-karbonyl)amino]pyridin-N-oxid

K roztoku 2-[N-(3-hydroxy-1-propyl)-N-(terc.butoxy-karbonyl)amino]pyridin-N-oxidu (0,50 g, 1,86 mmol) a pyridinu (0,23 ml, 2,84 mmol) v CHCl₃ (5 ml, vysušený K₂CO₃) se při 0 °C přidá po kapkách methansulfonylchlorid (0,17 ml, 2,20 mmol). Po TLC stanovení indikujícím ukončení reakce se reakční směs zředí CHCl₃, promyje se ledovou vodou, vysuší se (Na₂SO₄) a zahustí se. Titulní sloučenina se získá chromatografií na silikagelu (10% MeOH/CHCl₃) ve formě bezbarvého oleje. ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 8,25 (dd, J=6,0, 1,9 Hz, 1H), 7,25 (m, 4H), 4,35 (t, J=6,2 Hz, 2H), 3,75 (t, J=6,6 Hz, 2H), 3,00 (s, 3H), 2,00 (m, 2H), 1,40 (s, 9H). Uvedeným chromatografickým přečištěním se získá i nezreagovaný 2-[N-(3-hydroxy-1-propyl)-N-(terc.butoxykarbonyl)amino]pyridin-N-oxid (0,18 g, 36 %).

Příprava 10

Příprava (±)-ethyl-4-(4-karboxyfenyl)-3-fenylbutanoátu

a) Ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-(trifluormethansulfonyloxy)-fenyl]butanoát

K roztoku ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoatu (1,84 g, 6,47 mmol) a 2,6-lutidinu (1,5 ml, 12,9 mmol) v bezvodém CH₂Cl₂ (32 ml) se při -78 °C a v atmosféře argonu rychle po kapkách přidá anhydrid kyseliny trifluormethan-sulfonové (1,4 ml, 8,4 mmol). Po 0,5 hodině se vzniklý žlutý roztok ohřeje na teplotu místnosti a míchá se 1 hodinu. Pak se reakční směs zředí Et₂O (150 ml) a postupně se promyje 1,0 N HCl (15 ml), 5% NaHCO₃ (15 ml) a nasyceným solným roztokem (15 ml). Vysušením (MgSO₄), zahuštěním a chromatografií na silikagelu (15 % EtOAc/hexany) se ve formě téměř bezbarvého oleje získá titulní sloučenina (2,62 g, 97 %). TLC R_f (20 % EtOAc/hexany) 0,55; MS(ES) m/e 417,0 (M+H)⁺.

b) Ethyl-(±)-4-(4-karboxyfenyl)-3-fenylbutanoat

Směs ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-(trifluormethansulfonyloxy)-fenyl]butanoatu (2,62 g, 6,29 mmol), bezvodého KOAc (2,47 g, 25,16 mmol), Pd(OAc)₂ (70,6 mg, 0,31 mmol), dppf (697,4 mg, 1,26 mmol) a bezvodého DMSO (31 ml) se propláchne oxidem uhelnatým (provedou se tři cykly evakuace/zavádění oxidu uhelnatého s následným probubláváním oxidu uhelnatého směsí po dobu 5 minut), a potom se směs zahřeje na 70 °C pod balonem s oxidem uhelnatým. Po 3,5 hodině se reakční směs zředí H₂O (31 ml), ochladí se ledem a okyslí se 1,0 N HCl (25 ml). Po extrakci CH₂Cl₂ (2 × 100 ml), vysušením (MgSO₄), zahuštěním a opětovném zahuštěním s toluenem se získá červenooranžová tekutina. Chromatografií na silikagelu (1 % AcOH ve směsi toluen/EtOAc 7:3) se získá ve formě krémově zbarveného pevného produktu titulní sloučenina. TLC R_f (1 % AcOH ve směsi toluen/EtOAc 7:3) 0,47; MS(ES) m/e 312,2 (M+H)⁺.

Příprava 11

Separace enantiomerů ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenyl-

butanoatu metodou HPLC

a) Ethyl-(S)-(-)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoat a
ethyl-(R)-(+)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoat

Ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoat se rozštěpí na své enantiomery za následujících podmínek: kolona Daicel Chiralcel ADR (21,2 mm x 250 mm), 5 % ethanolu v hexanu jako mobilní fáze, průtok 15 ml/min, detekce při 254 nm, nástřik 40 mg; t_R pro ethyl-(S)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoat = 19,8 min; t_R pro ethyl-(R)-(+)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoat = 23,0 min.

Příprava 12

Příprava methyl-4-(4-hydroxyfenyl)butanoatu

a) Methyl-4-benzyloxyfenylacetat

K suspenzi K_2CO_3 (20,7 g, 150 mmol) v acetonu (50 ml) se přidá methyl-4-hydroxyfenylacetat (5,0 g, 30 mmol) a benzylochlorid (10,4 ml, 90 mmol) a směs se zahřívá při teplotě zpětného toku. Po 24 hodinách se směs ochladí na teplotu místnosti, zfiltruje se a zahustí se. Zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (10 % EtOAc/hexany) a získá se tak ve formě bílého pevného produktu titulní sloučenina (7,7 g, 100 %). 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,40 (m, 5H), 7,21 (d, $J=6,6$ Hz, 2H), 6,95 (d, $J=6,6$ Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 3,70 (s, 3H), 3,59 (s, 2H).

b) 4-benzyloxyfenethylalkohol

K roztoku methyl-4-benzyloxyfenylacetatu (1,5 g, 5,85 mmol) v suchém THF (30 ml) se přidá při 0 °C $LiAlH_4$ (244 mg,

6,44 mmol). Po 2 hodinách se reakce přeruší přidávkem 1,0 N NaOH, který se přidává po kapkách dokud se nevytvoří bílá pevná sůl hliníku. Tato směs se pak zředí EtOAc (100 ml), vysuší se MgSO_4 , zfiltruje se, a zahuštěním se získá titulní sloučenina (1,35 g, kvantitativní výtěžek), která se použije dále bez dalšího čištění. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,40 (m, 5H), 7,15 (d, $J=6,6$ Hz, 2H), 6,90 (d, $J=6,6$ Hz, 2H), 5,05 (s, 2H), 3,82 (t, 2H), 2,81 (t, 2H).

c) 4-benzyloxyfenylacetaldehyd

K roztoku DMSO (0,83 ml, 11,7 mmol) v CH_2Cl_2 (20 ml) se přidá při -78°C oxalylchlorid (0,51 ml, 5,85 mmol). Po 10 minutách se přidá roztok 4-(benzyloxy)fenethylalkoholu (1,35 g, 5,85 mmol) v CH_2Cl_2 (10 ml). Po 30 minutách se přidá Et_3N (2,69 ml, 19,3 mmol) a směs se ohřeje na teplotu místnosti. Po 30 minutách se směs postupně promyje vždy 10 ml H_2O , 10% HCl, a H_2O , vzniklá organická vrstva se pak vysuší MgSO_4 , zfiltruje se a zahustí se. Zbytek se ihned bez přečištění použije v dalším stupni.

d) Methyl-4-(4-benzyloxyfenyl)krotonat

K roztoku 4-benzyloxyfenylacetaldehydu (5,85 mmol) v suchém THF (30 ml) se přidá methyl(trifenylfosforanylid)-acetat (2,4 g, 7,02 mmol). Po 18 hodinách se reakční směs zahustí. Zbytek se vyjme do směsi Et_2O /hexany 1:1 (200 ml) a zfiltruje se. Filtrát se zahustí a zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (10 % EtOAc/hexany) a získá se tak ve formě žlutého oleje titulní sloučenina (780 mg, 47 % vzhledem k (b)). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,35 (m, 5H), 7,05 (m, 2H), 6,90 (m, 3H), 5,80 (d, $J=15$ Hz, 1H), 5,05 (s, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,47 (d, $J=6,0$ Hz, 2H).

e) Methyl-4-(4-hydroxyfenyl)butanoat

K suspenzi 10% Pd/C (113 mg) v absolutním EtOH (15 ml) se přidá methyl-4-(4-benzyloxyfenyl)krotonat (300 mg, 1,06 mmol). Směs se zbaví kyslíku (3 cykly evakuace/zavádění N₂) a pak se zavede H₂ (50 psi). Po 2 hodinách se H₂ odstraní a směs se zfiltruje přes vrstvu CelituR. Filtrát se zahustí a chroamtografií zbytku na silikagelu (30 % EtOAc/hexany) se získá ve formě bezbarvého oleje titulní sloučenina (180 mg, 87 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,05 (m, 2H), 6,90 (m, 2H), 3,68 (s, 3H), 2,69 (t, 2H), 2,30 (t, 2H), 1,90 (m, 2H).

Příprava 13

Příprava methyl-(±)-4-(4-(hydroxyfenyl)-3-vinylbutanoatu

a) Methyl-4-(triisopropylsiloxy)fenylacetat

K roztoku methyl-4-hydroxyfenylacetatu (5,0 g, 30 mmol) a imidazolu (4,08 g, 60 mmol) v suchém DMF (80 ml) se přidá triisopropylchlorid (9,6 ml, 45 mmol). Po 18 hodinách se směs vlije do H₂O (500 ml) a extrahuje se hexany (3 x 300 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO₄, zfiltrují se a zahustí se. Zbytek se podrobí chromatografii na silikagelu (5 % EtOAc/hexany) a získá se tak ve formě bezbarvého oleje titulní sloučenina (9,03 g, 93 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,10 (d, J=6,6 Hz, 2H), 6,80 (d, J=6,6 Hz, 2H), 3,66 (s, 3H), 3,51 (s, 2H), 1,23 (m, 3H), 1,08 (d, J=7,5 Hz, 18H).

b) 4-(triisopropylsiloxy)fenethylalkohol

K roztoku methyl-4-(triisopropylsiloxy)fenylacetatu (9,03

27.11.00

g, 28 mmol) v suchém THF (100 ml, se při 0 °C přidá LiAlH_4 (1,17 g, 30,8 mmol). Po 1 hodině se reakce přeruší přidávkem 1,0 N NaOH přidávaným po kapkách dokud se nevytvoří bílá sraženina soli hliníku. Pak se směs zředí EtOAc (100 ml), vysuší se MgSO_4 , zfiltruje se a zahuštěním se získá titulní sloučenina, která se použije bez dalšího čištění. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,10 (d, $J=6,6$ Hz, 2H), 6,80 (d, $J=6,6$ Hz, 2H), 3,80 (t, 2H), 2,79 (t, 2H), 1,23 (m, 3H), 1,08 (d, $J=7,5$ Hz, 18H).

c) 4-(triisopropylsiloxy)fenylacetaldehyd

K roztoku DMSO (3,83 ml, 54 mmol) v CH_2Cl_2 (100 ml) se při -78 °C přidá oxalylchlorid (2,36 ml, 27 mmol). Po 10 minutách se přidá roztok 4-(triisopropylsiloxy)fenethylalkoholu (8,02 g, 27 mmol) v CH_2Cl_2 (25 ml). Po 1 hodině se přidá Et_3N (12,5 ml, 89,8 mmol) a směs se ohřeje na teplotu místnosti. Za 1,5 hodiny se směs postupně promyje vždy 50 ml H_2O , 10% HCl a H_2O , a potom se získaná organická vrstva vysuší MgSO_4 , zfiltruje se a zahustí se. Zbytek se ihned použije v dalším stupni bez čištění.

d) Methyl-4-[(4-triisopropylsiloxy)fenyl]krotonat

K roztoku 4-(triisopropylsiloxy)fenylacetaldehydu (27 mmol) v suchém benzenu (100 ml) se přidá methyl(trifenylfosforanyliden)acetat (18,1 g, 54 mmol). Po 96 hodinách se směs zahustí. Zbytek se vyjme do Et_2O (500 ml) a zfiltruje se. Filtrát se zahustí a chromatografií zbytku na silikagełu (hexany/ CH_2Cl_2 2:1) se ve formě žlutého oleje získá titulní sloučenina (3,39 g, 36 % vzhledem k (b)). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,09 (m, 1H), 6,99 (d, $J=6,6$ Hz, 2H), 6,79 (d, $J=6,6$ Hz, 2H), 5,78 (d, $J=15$ Hz, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,42 (d, $J=7,1$

27.11.00

Hz, 2H), 1,23 (m, 3H), 1,08 (d, $J=7,5$ Hz, 18H).

e) Methyl-(±)-4-[(4-triisopropylsiloxy)fenyl]-3-vinylbutanoat

K suspenzi komplexu CuBr-DMS (647 mg, 3,0 mmol) v suchém THF (10 ml) se při -78 °C přidá po kapkách vinylmagnesiumbromid (6,0 ml, 6,0 mmol). Po 15 minutách se přidá po kapkách roztok methyl-4-[(4-triisopropylsiloxy)-fenyl]krotonátu (350 mg, 1,0 mmol) v suchém THF (3 ml). Po 1,5 hodině se směs zalije H_2O (10 ml) a extrahuje se EtOAc (3 × 20 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší $MgSO_4$, zfiltrují se a zahustí se. Zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (hexan/ CH_2Cl_2 3:1) a získá se tak ve formě žlutého oleje titulní sloučenina (224 mg, 59 %). 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 6,99 (d, $J=6,6$ Hz, 2H), 6,79 (d, $J=6,6$ Hz, 2H), 5,69 (m, 1H), 4,95 (m, 2H), 3,60 (s, 3H), 2,80 (m, 1H), 2,59 (m, 2H), 2,32 (m, 2H), 1,23 (m, 3H), 1,08 (d, $J=7,5$ Hz, 18H).

f) Methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-vinylbutanoat

K roztoku methyl-(±)-4-[(4-triisopropylsiloxy)fenyl]-3-vinylbutanoátu (224 mg, 0,59 mmol) v suchém THF (5 ml) se přidá roztok TBAF v THF (1,0 M, 0,65 ml, 0,65 mmol). Po 1 hodině se směs zředí H_2O (10 ml) a extrahuje se EtOAc (3 × 20 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší $MgSO_4$, zfiltrují se a zahustí se. Zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (30 % EtOAc/hexan) a získá se tak ve formě žlutého oleje titulní sloučenina (92,5 mg, 71 %). 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,00 (d, $J=6,6$ Hz, 2H), 6,74 (d, $J=6,6$ Hz, 2H), 5,70 (m, 1H), 4,99 (m, 2H), 4,75 (bs, 1H), 3,62 (s, 3H), 2,80 (m, 1H), 2,59 (m, 2H), 2,32 (m, 2H).

Příprava 14

Příprava ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(pyridin-2-yl)-butanoatu

a) 4-benzyloxy-N-methoxy-N-methylfenylacetamid

K suspenzi N,O-dimethylhydroxylamin-hydrochloridu (761 mg, 7,8 mmol) v suchém toluenu (20 ml) se při teplotě místnosti přidá trimethylaluminium (7,8 ml, 7,8 mmol). Po 1 hodině se přidá methyl-4-(benzyloxy)fenylacetat (1,0 g, 3,9 mmol) a směs se zahřívá při teplotě zpětného toku. Po 2 hodinách se směs ochladí na teplotu místnosti a míchá se 18 hodin, potom se reakce přeruší pomalým přidavkem 10% HCl (20 ml) a reakční směs se extrahuje EtOAc (3 x 30 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO₄, zfiltrují se a zahustí se. Zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (75 % EtOAc/hexany) a získá se tak ve formě naoražovělého pevného produktu titulní sloučenina. MS(ES) m/e 286 (M+H)⁺.

b) 2-[4-(benzyloxy)fenyl]-1-(pyridin-2-yl)ethanon

K roztoku 2-brompyridinu (0,08 ml, 0,8 mmol) v suchém THF (2 ml) se při -78 °C přidá terc.BuLi (0,94 ml, 1,6 mmol). Po 10 minutách se přidá roztok 4-benzyloxy-N-methoxy-N-methylfenylacetamidu (115 mg, 0,4 mmol) v suchém THF (2 ml). Tato směs se nechá ohřát tak jak se ohřívá lázeň. Po 18 hodinách se směs zalije nasyceným NH₄Cl (20 ml) a extrahuje se EtOAc (3 x 20 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO₄, zfiltrují se a zahustí se. Zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (15 % EtOAc/hexany) a získá se tak ve formě naoranžovělého pevného produktu titulní sloučenina (80 mg, 66 %). MS(ES) m/e 304 (M+H)⁺.

c) Ethyl-(±)-4-[4-(benzyloxy)fenyl]-3-(pyridin-2-yl)-krotonat

K suspenzi NaH (21 mg, 0,53 mmol) v suchém THF (2 ml) se po kapkách a při teplotě místnosti přidá triethylfosfonoacetat (0,11 ml, 0,53 mmol). Po 10 minutách se po kapkách přidá roztok 2-[4-(benzyloxy)fenyl]-1-(pyridin-2-yl)ethanonu (80 mg, 0,26 mmol) v suchém THF (2 ml). Po 4 hodinách se směs zahustí. Zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (30 % EtOAc/hexany) a získá se tak titulní sloučenina ve formě směsi isomerních olefinů (82 mg, 84 %). MS(ES) m/e 374 (M+H)⁺.

d) Ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(pyridin-2-yl)butanoat

K suspenzi 10% Pd/C (69 mg) ve směsi EtOAc/i-PrOH (10 ml) se přidá ethyl-(±)-4-[4-(benzyloxy)fenyl]-3-(pyridin-2-yl)-krotonat (243 mg, 0,65 mmol). Pak se ze směsi odstraní kyslík (3 cykly evakuace/zavádění N₂) a pak se se zavede H₂ (50 psi). Po 4 hodinách se H₂ odstraní a směs se zfiltruje přes vrstvu CeliteR. Zahuštěním filtrátu se získá ve formě oleje titulní sloučenina (90 mg, 49 %), která se použije bez dalšího čištění. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,55 (d, 1H), 7,48 (t, 1H), 7,08 (m, 1H), 6,95 (m, 3H), 6,80 (m, 3H), 3,98 (q, 2H), 3,55 (m, 1H), 2,90 (m, 2H), 2,62 (m, 2H), 1,09 (t, 3H).

Příprava 15

Příprava methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(oxazol-2-yl)-butanoatu

a) Methyl-3-(benzyloxykarbonyl)-3-butenat

K roztoku methyl-3-karboxy-3-butenátu (20 g, 139 mmol), benzylalkoholu (17,2 mg, 166 mmol), a trifenylfosfinu (43,7 g,

166 mmol) v bezvodém THF (500 ml) se při 0 °C přidá diisopropylazodikarboxylát (32,8 ml, 166 mmol). Směs se nechá ohřát na teplotu místnosti současně s ohřevem lázně. Po 3 hodinách se směs zahustí a zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (10 % EtOAc/hexany). Titulní sloučenina se získá ve formě bezbarvého oleje (29,46 g, 91 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,35 (m, 5H), 6,48 (s, 1H), 5,71 (s, 1H), 5,20 (s, 2H), 3,63 (s, 3H), 3,37 (s, 2H).

b) Methyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-karboxybutanoát

Roztok 4-bromanisolu (3,35 ml, 26,7 mmol), methyl-3-(benzyloxykarbonyl)-3-butenátu (12,5 g, 53,4 mmol), Pd(OAc)₂ (599 mg, 2,67 mmol), P(o-tolyl)₃ (1,63 g, 5,34 mmol) a (i-Pr)₂NEt (9,3 ml, 53,4 mmol) v propionitrilu (100 ml) se zbaví kyslíku (3 cykly evakuace/zavádění N₂) a pak se zahřívá při teplotě zpětného toku. Po 24 hodinách se směs zahustí a zpracováním zbytku chromatografií na silikagelu (15 % EtOAc/hexany) se získá žlutý olej. Tento olej se vyjme do směsi 20 % EtOAc/hexany (100 ml) a roztok se nechá stát při teplotě místnosti. Po 18 hodinách se směs zfiltruje a získá se tak titulní sloučenina ve formě olefinických isomerů. Tento produkt se ihned použije v dalším stupni.

K suspenzi 10% Pd/C (2,8 g) ve směsi EtOAc/i-PrOH 1:1 (100 ml) se přidá výše uvedená směs olefinů. Pak se směs zbaví kyslíku (3 cykly evakuace/plnění N₂) a pak se zavede H₂ (50 psi). Po 4 hodinách se H₂ odstraní a směs se zfiltruje přes vrstvu CeliteR. Zahuštěním filtrátu se získá titulní sloučenina ve formě žlutého oleje (5,81 mg, 86 % z 4-bromanisolu). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,09 (d, J=6,8 Hz, 2H), 6,81 (d, J=6,8 Hz, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,64 (s, 3H), 3,08 (m, 2H), 2,68 (m, 2H), 2,40 (m, 1H).

c) Methyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-[(2,2-dimethoxyethyl)-aminokarbonyl]butanoat

K roztoku methyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-karboxybutanoatu (300 mg, 1,19 mmol) v CH₂Cl₂ (5 ml) se přidá 1,1'-karbonyldiimidazol (289 mg, 1,78 mmol). Po 1 hodině se přidá dimethylacetal aminoacetaldehydu (0,2 ml, 1,78 mmol). Za 72 hodin se reakční směs zahustí. Zpracováním zbytku chromatografií na silikagelu (50 % EtOAc/hexany) se získá ve formě čirého oleje titulní sloučenina (287 mg, 71 %). MS(ES) m/e 340 (M+H)⁺.

d) Methyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-(oxazol-2-yl)-butanoat

K roztoku 4-(4-methoxyfenyl)-3-[(2,2-dimethoxyethyl)-aminokarbonyl]butanoatu (287 mg, 0,85 mmol) v THF (5 ml) se přidá 6,0 N HCl (5 ml). Po 1 hodině se směs extrahuje EtOAc (3 x 10 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO₄, zfiltrují se a zahustí se. Zbytek se vyjme do CH₂Cl₂ (5 ml) a přidá se k roztoku PPh₃ (267 mg, 1,02 mmol), I₂ (259 mg, 1,02 mmol) a Et₃N (0,24 ml, 1,02 mmol) v CH₂Cl₂ (5 ml). Po 18 hodinách se směs zahustí. Zpracováním zbytku chromatografií na silikagelu (50 % EtOAc/hexany) se získá ve formě oleje titulní sloučenina (95 mg, 41 %). MS(ES) m/e 276 (M+H)⁺.

e) Methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(oxazol-2-yl)-butanoat

K roztoku methyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-(oxazol-2-yl)-butanoatu (314 mg, 1,14 mmol) v CH₂Cl₂ (5 ml) se při -20 °C přidá BBr₃ (3,42 ml, 3,42 mmol). Po 1 hodině se reakční směs opatrně zalije 10% HCl v MeOH (10 ml) a roztok se nechá ohřát

na teplotu místnosti. Po 18 hodinách se směs zahustí. Zbytek se vyjme do nasyceného NaHCO_3 (20 ml) a extrahuje se Et_2O (3 x 20 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO_4 , zfiltrují se a zahustí se. Chromatografií zbytku na silikagelu (50 % EtOAc /hexany) se získá ve formě žlutého oleje titulní sloučenina (163 mg, 55 %). MS(ES) m/e 262 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Příprava 16

Příprava ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)-butanoatu

a) 2-[4-(benzyloxy)fenyl]-1-(thiazol-2-yl)ethanonu

K roztoku BuLi (0,98 ml, 2,44 mmol) v suchém Et_2O (5 ml) se přidá po kapkách při -78°C 2-bromthiazol (0,21 ml, 2,34 mmol). Po 20 minutách se přidá po kapkách methyl-4-(benzyloxy)fenylacetat (0,5 g, 1,95 mmol) v suchém Et_2O (5 ml). Po 1 hodině se reakční směs zalije nasyceným NH_4Cl (10 ml), nechá se ohřát na teplotu místnosti a extrahuje se Et_2O (3 x 20 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO_4 , zfiltrují se a zahustí se. Chromatografií zbytku na silikagelu (20 % EtOAc /hexany) se získá ve formě hnědavěžlutého pevného produktu titulní sloučenina (485 mg, 80 %). MS(ES) m/e 310 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

b) ethyl-(±)-4-[4-(benzyloxy)fenyl]-3-(thiazol-2-yl)-krotonat

K suspenzi NaH (111 mg, 2,78 mmol) v suchém THF (5 ml) se po kapkách při teplotě místnosti přidá triethylfosfonoacetat (0,56 ml, 2,78 mmol). Po 15 minutách se přidá po kapkách roztok 2-[4-(benzyloxy)fenyl]-1-(thiazol-2-yl)ethanonu (430 mg, 1,39 mmol) v suchém THF (5 ml). Po 6 hodinách se směs

zalije nasyceným NH_4Cl (10 ml) a extrahuje se EtOAc (3 x 20 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO_4 , zfiltrují se a zahustí se. Chromatografií zbytku na silikagelu (20 % EtOAc/hexany) se získá titulní sloučenina (356 mg, 67 %) ve formě směsi olefinových isomerů. MS(ES) m/e 380 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

c) Ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)-butanoat

K suspenzi 10% Pd/C (100 mg) v absolutním EtOH (5 ml) se přidá ethyl-(±)-4-[4-(benzyloxy)fenyl]-3-(thiazol-2-yl)-krotonat (356 mg, 0,94 mmol). Směs se zbaví kyslíku (3 cykly evakuace/zavádění N_2) a pak se zavede H_2 (50 psi). Po 4 hodinách se H_2 odstraní a směs se zfiltruje přes vrstvu CeliteR. Potom se filtrát zahustí. Reakce se opakuje třikrát. Přečištěním zbytku na silikagelu (35 % EtOAc/hexany) se získá titulní sloučenina ve formě oleje (155 mg, 57 %). MS(ES) m/e 292 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Příprava 17

Příprava ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-methylbutanoatu

a) ethyl-(±)-4-(4-(methoxyfenyl)-3-methylkrotonat

Titulní sloučenina (5,2 g, 74 %) se připraví způsobem popsaným pro přípravu 16(b) s tím rozdílem, že se místo 2-[4-(benzyloxy)fenyl]-1-(thiazol-2-yl)ethanonu použije 4-methoxyfenylaceton. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,08 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 6,85 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 5,66 (úzký m, 1H), 4,14 (q, $J=7,1$ Hz, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,37 (s, 2H), 2,12 (d, $J=1,2$ Hz, 3H), 1,27 (t, $J=7,1$ Hz, 3H).

b) Ethyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-methylbutanoat

27.11.00

Titulní sloučenina se připraví ve formě bezbarvého oleje (5,1 g, 97 %) způsobem popsaným pro přípravu 16(c) s tím rozdílem, že se místo ethyl-(±)-4-[4-(benzyloxy)fenyl]-3-(thiazol-2-yl)krotonatu použije ethyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-methylkrotonat. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,07 (d, J=8,5 Hz, 2H), 6,83 (d, J=8,5 Hz, 2H), 4,11 (q, J=7,1 Hz, 2H), 3,79 (s, 3H), 2,00–2,60 (m, 5H), 1,25 (t, J=7,1 Hz, 3H), 0,93 (d, J=6,3 Hz, 3H).

c) Ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-methylbutanoat

Titulní sloučenina se připraví ve formě žlutého oleje (3,2 g, 70 %) způsobem popsaným pro přípravu 15(e) s tím rozdílem, že místo methyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-(oxazol-2-yl)butanoatu se použije ethyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-methylbutanoat. ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 7,00 (d, 2H), 6,76 (d, 2H), 5,95–6,15 (m, 1H), 4,13 (q, 2H), 2,05–2,60 (m, 5H), 1,25 (t, 3H), 0,93 (d, 3H).

Příprava 18

Příprava methyl-4-(4-methoxyfenyl)krotonatu

a) 4-methoxyfenylacetaldehyd

K suspenzi PCC (2,45 g, 11,37 mmol) a NaOAc (1,85 g, 22,55 mmol) v CH₂Cl₂ (50 ml) při 0 °C a v atmosféře argonu se přidá po kapkách roztok 4-methoxyfenethylalkoholu (1,14 g, 7,49 mmol) v CH₂Cl₂ (30 ml). Po 1 hodině se směs zfiltruje a k filtrátu se přidá Celite[®] a aktivní uhlí. Tato směs se zfiltruje a filtrát se zahustí na rotační vakuové odparce. Zbytek se rozpustí v Et₂O a přidá se MgSO₄ a aktivní uhlí. Filtrací a zahuštěním se získá ve formě bezbarvého oleje

27.11.00

titulní sloučenina (1,1 g, 98 %). Produkt se ihned použije v dalším stupni bez dalšího přečištění.

b) Methyl-4-(4-methoxyfenyl)krotonat

Roztok 4-methoxyfenylacetaldehydu (1,1 g, 7,33 mmol) a methyl-(trifenylfosforanyliden)acetatu (2,99 g, 8,94 mmol) v THF (50 ml) se míchá přes noc při teplotě místnosti a pak se zahustí ve vakuu. Zbytek se rozpustí v Et₂O a získaný roztok se zpracuje s Celite^R a s aktivním uhlím. Filtrací, zahuštěním a chromatografií na silikagelu (5 % EtOAc/hexany) se získá titulní sloučenina (0,5 g, 33 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,00–7,20 (m, 3H), 6,85 (d, J=8,6 Hz, 2H), 5,79 (d, J=15,5 Hz, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,71 (s, 3H), 3,46 (d, J=6,7 Hz, 2H).

c) Methyl-4-(4-hydroxyfenyl)krotonat

K roztoku methyl-4-(4-methoxyfenyl)krotonatu (0,75 g, 3,64 mmol) v CH₂Cl₂ (30 ml) se při 0 °C v atmosféře argonu přidá po kapkách BBr₃ (1,0 M v CH₂Cl₂, 4,0 ml, 4,0 mmol). Reakční směs se míchá 2 hodiny při 0 °C a pak se přidá další podíl BBr₃ (1,0 M v CH₂Cl₂, 1,0 ml, 1,0 mmol). Po jedné hodině se reakce přeruší opatrným a pomalým přidavkem MeOH. Pak se roztok zahustí a zbytek se znovu zahustí s přidavkem MeOH (2 x). Výsledný zbytek se zpracuje rychlou chromatografií na silikagelu (1 % MeOH/CH₂Cl₂) s výtěžkem titulní sloučeniny (0,46 g, 66 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6,95–7,25 (m, 3H), 6,80 (d, J=8,4 Hz, 2H), 5,82 (d, J=15,6 Hz, 1H), 5,08 (s, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,48 (d, J=6,8 Hz, 2H).

Příprava 19

Příprava methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiofen-2-yl)-butanoatu

a) Ethyl-(±)-3-(4-methoxyfenyl)-2-(thiofen-2-yl)-propionat

K roztoku ethyl-2-thiofenacetatu (2,268 g, 13,32 mmol) v suchém THF (10 ml) se při -78 °C a v atmosféře argonu přidá hexamethyldisilazidlithium (1,0 M v THF, 14 ml, 14,0 mmol). Po 1 hodině se přidá 4-methoxybenzylchlorid (2,0 ml, 14,75 mmol). Reakční směs se ponechá ještě 15 minut při -78 °C a pak se nechá ohřát na teplotu místnosti. Po 18 hodinách se reakční směs zředí EtOAc a roztok se promyje 1,0 N HCl (2 x) a potom 1,0 N NaHCO₃ (2 x). Titulní sloučenina se získá po vysušení (MgSO₄), zahuštění, a zpracování rychlou chromatografií na silkagelu (gradientová eluce: 5 % EtOAc/ hexany , potom 10 % EtOAc/hexany a dále 20 % EtOAc/hexany) ve formě čirého bezbarvého oleje (2,71 g, 66 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,16–7,14 (m, 1H), 7,04 (d, J=8,7 Hz, 2H), 7,02–6,87 (m, 2H), 6,76 (d, J=8,7 Hz, 2H), 4,14–4,02 (m, 3H), 3,71 (s, 3H), 3,30 (dd, J=13,6, 8,9 Hz, 1H), 3,04 (dd, J=13,7, 6,7 Hz, 1H), 1,12 (t, J=7,2, 3H).

b) (±)-1-diazo-4-(4-methoxyfenyl)-3-thiofen-2-yl)-2-butanon

K roztoku ethyl-(±)-3-(4-methoxyfenyl)-2-(thiofen-2-yl)-propionatu (2,71 g, 8,84 mmol) v MeOH (10 ml) se přidá 1,0 N NaOH (10 ml, 10 mmol), a vzniklá jasně žlutá směs se dále zředí MeOH a THF tak, aby se rozpustil vysrážený olej. Po 18 hodinách při teplotě místnosti se reakční směs zneutralizuje 1,0 N HCl (10 ml) a těkavé organické složky se odstraní ve vakuu. Zbývá vodná fáze se okyslí 1,0 N HCl a extrahuje se EtOAc. Spojené organické vrstvy se vysuší (MgSO₄), zfiltrují se a zahustí se vakuu. Zbytek se rozpustí v přebytku SOCl₂ a

získaný roztok se zahřívá 1 hodinu při teplotě zpětného toku. Pak se reakční směs zahustí ve vakuu a zbytek se opakovaně zahustí s přidavkem toluenu (2 x). Získaný zbytek se rozpustí v THF a přidá se při teplotě místnosti diazomethan generovaný z Diazaľdu (2,0077 g, 9,4 mmol). Pak se pomocí Diazaľdu (1,4420 g, 6,7 mmol) přidá další diazomethan, a reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Vzniklá oranžová reakční směs se zahustí ve vakuu a zbytek se absorbuje na silikagel. Ten se nanese na suchý sloupec silikagelu. Titulní sloučenina se pak získá ve formě oleje (707,6 mg, 30 %) rychlou chromatografií (gradientová eluce: 5 % EtOAc/hexany, potom 10 % EtOAc/hexany, a pak 20 % EtOAc/hexany). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,25–7,19 (m, 1H), 7,03 (d, $J=8,6$ Hz, 2H), 6,94–6,85 (m, 2H), 6,77 (d, $J=8,7$ Hz, 2H), 5,18 (s, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,41 (dd, $J=13,8, 7,9$ Hz, 1H), 3,00 (dd, $J=13,8, 7,2$ Hz, 1H).

c) Methyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-(thiofen-2-yl)butanoat

K roztoku (±)-1-diazo-4-(4-methoxyfenyl)-3-(thiofen-2-yl)-2-butanonu (707,6 mg, 2,47 mmol) v MeOH (20 ml) se při teplotě místnosti přidá roztok benzoatu stříbrného (744,2 mg, 3,25 mmol) v triethylaminu (3 ml, 21,6 mmol). Po přidavku dojde k uvolňování plynů, a reakční směs se zbarví do černa. Po 30 minutách se reakční směs zahřeje na teplotu zpětného toku. Po 1 hodině zahřívání při teplotě zpětného toku se reakční směs zfiltruje přes Celite[®] a filtrát se zahustí ve vakuu. Zbytek se absorbuje na silikagel a pak se vnese na suchý sloupec silikagelu. Rychlou chromatografií (gradientová eluce: 5 % EtOAc/hexany a potom 10 % EtOAc/hexany) se získá ve formě světležlutého oleje titulní sloučenina (453,4 mg, 48,0 %). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,16–7,14 (m, 1H), 7,04 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 6,91–6,89 (m, 1H), 6,81 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 6,77–6,76

27.11.00

(m, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,74-3,72 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 2,97-2,92 (m, 2H), 2,71-2,65 (m, 2H).

d) Methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiofen-2-yl)-butanoat

K roztoku methyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-(thiofen-2-yl)-butanoatu (453,4 mg, 1,56 mmol) v CH₂Cl₂ (10 ml) se při 0 °C a v atmosféře argonu přidá bromid boritý (1,0 M v CH₂Cl₂, 8 ml, 8 mmol). Po 1 hodině se reakční směs zalije absolutním MeOH a zahustí se ve vakuu. Pak se zbytek znovu zahustí s přidavkem toluenu (několikrát) a vysušením ve vysokém vakuu se získá ve formě oleje titulní sloučenina (449,6 mg, kvantitativní výtěžek). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,30-7,14 (m, 2H), 7,04 (d, J=8,2 Hz, 2H), 6,95-6,89 (m, 1H), 6,74 (d, J=8,4 Hz, 2H), 6,14 (br s, 1H), 3,74-3,71 (m, 1H), 3,62 (s, 3H), 2,95-2,89 (m, 2H), 2,72-2,66 (m, 2H).

Příprava 20

Příprava ethyl-2-[N-benzyl-N-(4-hydroxybenzyl)amino]acetatu

a) Ethyl-2-[N-benzyl-N-(4-methoxybenzyl)amino]acetat

K roztoku 4-methoxybenzylchloridu (1,00 ml, 7,38 mmol) v DMF (14 ml) se při 0 °C přidá ethyl-2-benzylaminoacetat (1,20 ml, 6,40 mmol) a potom NaH (0,38 g, 60% disperze v oleji, 9,50 mmol). Pak se odstraní ledová lázeň a směs se míchá 18 hodin při teplotě místnosti. Pak se reakce přeruší vlitím směsi do nasyceného NaHCO₃ a směs se extrahuje EtOAc. Spojené organické podíly se vysuší Na₂SO₄ a zahuštěním se získá žlutý olej. Titulní sloučenina se získá radiální chromatografií (10 % EtOAc/hexany, silikagel, deska 6 mm) ve formě čirého oleje (0,40 g). MS(ES) m/e 314,1 (M+H)⁺.

b) Ethyl-2-[N-benzyl-N-(4-hydroxybenzyl)amino]acetat

Roztok ethyl-2-[N-benzyl-N-(4-methoxybenzyl)amino]acetatu (0,40 g, 1,27 mmol) v CH_2Cl_2 (2 ml) se přidá po kapkách při 0 °C k roztoku BBr_3 (3,80 ml, 1,0 M v CH_2Cl_2 , 3,80 mmol). Po 1 hodině při 0 °C se reakční směs opatrně zalije MeOH (2 ml). Pak se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku a zbytek se zpracuje azeotropickým odpařením s MeOH (2 x). Titulní sloučenina se získá radiální chromatografií (30 % EtOAc/hexany, silikagel, deska 6 mm) ve formě bílého pevného produktu (0,19 g). MS(ES) m/e 300,1 (M+H)⁺.

Příprava 21

Příprava methyl-2-[N-(4-(hydroxybenzyl)-N-fenylamino]acetatu

a) Methyl-2-[N-(4-methoxybenzyl)-N-fenylamino]acetat

K roztoku methyl-2-(fenylamino)acetat-hydrochloridu (0,19 g, 0,96 mmol) v DMF (3 ml) se přidá 4-methoxybenzylchlorid (0,52 ml, 3,84 mmol) a potom NaH (0,11 g, 60% disperze v oleji, 2,75 mmol). Po 18 hodinách při teplotě místnosti se reakční směs vlije do nasyceného NaHCO_3 a směs se extrahuje EtOAc. Spojené organické extrakty se promyjí 50% solným roztokem, vysuší se Na_2SO_4 , a zahuštěním se získá žlutý olej. Titulní sloučenina se získá radiální chromatografií (20 % EtOAc/hexan, silikagel, deska 6 mm) ve formě čirého oleje (0,13 g). MS(ES) m/e 286,1 (M+H)⁺.

b) Methyl-2-[N-(4-hydroxybenzyl)-N-fenylamino]acetat

Roztok methyl-2-[N-(4-methoxybenzyl)-N-fenylamino]acetatu (0,13 g, 0,47 mmol) v CH_2Cl_2 se přidá při 0 °C po kapkách k

27.11.00

roztoku BBr_3 (1,40 ml, 1,0 M v CH_2Cl_2 , 1,40 mmol). Po 45 minutách při 0 °C se reakce opatrně přeruší přidávkem MeOH (2 ml). Pak se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku a zbytek se zpracuje azeotropickým odpařením s MeOH (2 x). Zbytek se pak rozpustí v nasyceném NaHCO_3 a roztok se extrahuje EtOAc. Spojené organické extrakty se vysuší Na_2SO_4 a odstraněním rozpouštědla za sníženého tlaku se získá světležlutý olej. Titulní sloučenina se získá radiální chromatografií (30 % EtOAc/hexan, silikagel, deska 2 mm) ve formě světležlutého pevného produktu. MS(ES) m/e 272,2 (M+H)⁺.

Příprava 22

Příprava methyl-2-[(4-hydroxy-2-methoxybenzyl)amino]acetátu

a) Methyl-2-[(4-hydroxy-2-methoxybenzyl)amino]acetát

K suspenzi 4-hydroxy-2-methoxybenzaldehydu (2,00 g, 13,1 mmol) a hydrochloridu methylesteru glycinu (6,60 g, 52,6 mmol) v suchém MeOH (100 ml) se přidá molekulové síto 4A (asi 2 g) a NaBH_3CN (0,83 g, 13,2 mmol). Po 18 hodinách při teplotě místnosti se reakční směs zfiltruje přes vrstvu Celite^R a rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku na bílý zbytek. Titulní sloučenina se získá rychlou chromatografií na silikagelu (10 % MeOH/ CHCl_3) ve formě čirého oleje (1,27 g). MS(ES) m/e 226,0 (M+H)⁺.

Příprava 23

Příprava methyl-2-(4-hydroxy-2-fenoxyfenyl)acetátu

a) 2-(4-methoxy-2-fenoxyfenyl)-1-morfolin-4-ylethan-1-thion

4-methoxy-2-fenoxyacetofenon (1,69 g, 6,98 mmol), síra

(0,36 g, 11,2 mmol) a morfolin (0,98 ml, 11,2 mmol) se nechají reagovat způsobem popsaným v práci autorů Harris T.W. a sp. (J.Med.Chem. **1982**, 25(7), 855-858) za vzniku titulní sloučeniny ve formě bílého pevného produktu (1,24 g). MS(ES) m/e 344,0 (M+H)⁺.

b) Kyselina 2-(4-methoxy-2-fenoxyfenyl)octová

K roztoku 2-(4-methoxy-2-fenoxyfenyl)-1-morfolin-4-ylethan-1-thionu (0,35 g, 1,02 mmol) v i-PrOH (15 ml) a H₂O (15 ml) se přidá KOH (0,57 g, 10,2 mmol). Reakční směs se zahřívá 18 hodin při teplotě zpětného toku, potom se ochladí na teplotu místnosti, zředí se H₂O a promyje se Et₂O. Vodná vrstva se okyslí na pH=4 koncentrovanou HCl a extrahuje se CHCl₃. Spojené extrakty se vysuší MgSO₄ a zahuštěním se ve formě bílého pevného produktu (0,22 g) získá titulní sloučenina. Produkt se použije v dalším stupni bez přečištění. MS(ES) m/e 259,0 (M+H)⁺.

c) Methyl-2-(4-methoxy-2-fenoxyfenyl)acetat

K roztoku kyseliny 2-(4-methoxy-2-fenoxyfenyl)octové (0,22 g, 0,85 mmol) v MeOH (10 ml) se přidá koncentrovaná H₂SO₄ (1 kapka). Reakční směs se zahřívá 18 hodin při teplotě zpětného toku a pak se nechá vychladnout na teplotu místnosti. Přebytek MeOH se odstraní za sníženého tlaku a zbylý roztok se vlije do nasyceného NaHCO₃. Vodná vrstva se extrahuje EtOAc a spojené organické extrakty se promyjí solným roztokem a vysuší se Na₂SO₄. Odstraněním rozpouštědla za sníženého tlaku se ve formě světležlutého oleje získá titulní sloučenina (0,22 g). Produkt se použije bez dalšího přečištění. MS(ES) m/e 273,0 (M+H)⁺.

d) Methyl-2-(4-hydroxy-2-fenoxyfenyl)acetat

K roztoku BBr_3 (1,0 M v CH_2Cl_2 , 4 ml, 4 mmol) se po kapkách při 0 °C přidá roztok methyl-2-(4-methoxy-2-fenoxy-fenyl)acetatu (0,22 g, 0,81 mmol) v CH_2Cl_2 (1 ml). Po 20 minutách se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpařuje s MeOH (2 x). Pak se zbytek rozpustí v nasyceném NaHCO_3 a roztok se extrahuje EtOAc. Spojené extrakty se vysuší Na_2SO_4 a zahuštěním se získá ve formě světležlutého oleje titulní sloučenina (0,19 g). Produkt se použije bez dalšího čištění. MS(ES) m/e 259,0 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Příprava 24

Příprava methyl-2-(2-fenoxy-4-hydroxy)fenylbutanoatu

a) 2-(2-fenoxy-4-methoxy)fenylethan-1-ol

K roztoku kyseliny 2-(4-methoxy-2-fenoxyfenyl)octové (0,24 g, 0,93 mmol) v THF (5 ml) se při 0 °C přidá hydrid lithno-hlinitý (0,11 g, 2,79 mmol). Po 1 hodině při 0 °C se reakční směs zředí toluenem (10 ml) a postupně se přidá NaF (0,47 g) a H_2O (0,15 ml). Tato směs se intenzivně míchá 30 minut při 0 °C. Vzniklá sraženina se odfiltruje a promyje se Et_2O . Zahuštěním filtrátu se ve formě čirého oleje získá titulní sloučenina (0,16 g). Produkt se použije bez dalšího čištění. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,30 (m, 3H), 7,08 (t, $J=7,4$ Hz, 1H), 6,95 (d, $J=7,6$ Hz, 2H), 6,66 (dd, $J=8,4$, 2,5 Hz, 1H), 6,45 (d, $J=2,6$ Hz, 1H), 3,82 (q, $J=6,4$ Hz, 2H), 3,73 (s, 3H), 2,85 (t, $J=6,6$ Hz, 2H).

b) 2-(2-fenoxy-4-methoxy)fenylacetaldehyd

K roztoku DMSO (0,09 ml, 1,27 mmol) v CH_2Cl_2 (1,2 ml) se

při $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ přidá oxalylchlorid (0,06 ml, 0,69 mmol). Po 10 minutách se přidá roztok 2-(2-fenoxy-4-methoxy)fenylethan-1-olu (0,16 g, 0,064 mmol) v CH_2Cl_2 (1,2 ml). Reakční směs se pak míchá při $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ další 1 hodinu, potom se přidá Et_3N (0,27 ml, 1,94 mmol) a chladicí lázeň na $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ se odstraní. Po 20 minutách se reakční směs zředí CH_2Cl_2 a postupně se promyje 1,0 N HCl , nasyceným NaHCO_3 a solným roztokem a vysuší se Na_2SO_4 . Pak se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku a ve formě světležlutého oleje se získá titulní sloučenina (0,13 g). Produkt se použije bez dalšího čištění. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 9,71 (t, $J=1,9\text{ Hz}$, 1H), 7,30 (m, 2H), 7,10 (m, 2H), 6,95 (d, $J=7,7\text{ Hz}$, 2H), 6,66 (dd, $J=8,4, 2,5\text{ Hz}$, 1H), 6,45 (d, $J=2,5\text{ Hz}$, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,64 (s, 2H).

c) Methyl-2-(2-fenoxy-4-methoxy)fenylbut-2-enoat

Roztok 2-(2-fenoxy-4-methoxy)fenylacetaldehydu (0,13 g, 0,53 mmol) a methyl(trifenylfosforanyliden)acetátu (0,35 g, 1,05 mmol) v THf (3 ml) se zahřívá 5 hodin při teplotě zpětného toku a pak se nechá vychladnout na teplotu místnosti. Pak se reakční směs vlije do H_2O a směs se extrahuje Et_2O . Organické extrakty se vysuší Na_2SO_4 a rozpouštědlo se odstraní za sníženého tlaku. Titulní sloučenina se získá radiální chromatografií (20 % EtOAc /hexan, silikagel, deska 6 mm) jako směs olefinických stereoisomerů a polohových isomerů (0,12 g). Produkt se použije bez dalšího čištění. MS(ES) m/e 299,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

d) Methyl-2-(2-fenoxy-4-methoxy)fenylbutanoat

Do Parrovy hydrogenační nádoby se vnese methyl-2-(2-fenoxy-4-methoxy)fenylbut-2-enoat (0,12 g, 0,39 mmol), 10% Pd/C (50 mg) a MeOH (50 ml), a směs se protřepává v atmosféře

27.11.00

vodíku o tlaku 50 psi. Po 18 hodinách se katalyzátor odstraní filtrací a filtrát se zahustí za sníženého tlaku. Titulní sloučenina se získá rychlou chromatografií na silikagełu (15 % EtOAc/hexany) ve formě čirého oleje (0,09 g). MS(ES) m/e 300,9 (M+H)⁺.

e) Methyl-2-(2-fenoxy-4-hydroxy)fenylbutanoat

Roztok methyl-2-(2-fenoxy-4-methoxy)fenylbutanoatu (0,09 g, 0,30 mmol) v CH₂Cl₂ (2 ml) se při 0 °C přidá k BBr₃ (1,0 M v CH₂Cl₂, 1,50 ml, 1,50 mmol). Po 1 hodině při 0 °C se reakce přeruší přidávkem MeOH po kapkách (2 ml). Potom se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpařuje s MeOH (2 x). Pak se ke zbytku přidá nasycený NaHCO₃ a vodná vrstva se extrahuje EtOAc. Spojené extrakty se vysuší Na₂SO₄ a zahuštěním se získá ve formě světležlutého oleje (0,08 g) titulní sloučenina. Produkt se použije v dalším stupni bez dalšího přečištění. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,25 (m, 2H), 7,05 (m, 2H), 6,93 (d, J=7,6 Hz, 2H), 6,54 (dd, J=8,2, 2,5 Hz, 1H), 6,35 (d, J=2,5 Hz, 1H), 5,45 (s, 1H), 3,62 (s, 3H), 2,59 (t, J=7,5 Hz, 2H), 2,32 (t, J=7,5 Hz, 2H), 1,90 (m, 2H).

Příprava 25

Příprava 2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl)-1-ethanolu

a) 2-methyl-8-(terc.butoxykarbonyl)-5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin

Směs 2-methyl-1,8-naftyridinu (J.Chem.Soc.(C) 1966, 315; 5,13 g, 35,58 mmol), 10% Pd/C (1,14 g, 1,07 mmol) a absolutního EtOH (70 ml) se zbaví kyslíku třemi cykly

evakuace/zavádění H_2 , a pak se intenzivně míchá při připojení k balonu s H_2 . Po 18,5 hodinách se směs zfiltruje přes Celite^R a filtrační vrstva se postupně promyje absoutním EtOH a EtOAc. Filtrát se pak zahustí do sucha a pak se znovu zahustí po přidavku EtOAc a získá se tak špinavě bílá pevná hmota (5,25 g).

Výše uvedená hmota (5,25 g), di-terc.butyldikarbonat (15,53 g, 71,16 mmol) a CH_2Cl_2 (10 ml) se zahustí na rotační vakuové odparce k odstranění rozpouštědla a olejový zbytek se zahřívá v atmosféře N_2 v olejové lázni o teplotě 55–60 °C. Po 45 hodinách se reakční směs ochladí na teplotu místnosti a zbytek se zpracuje rychlou chromatografií na silikagelu (40 % EtOAc/hexany). Titulní sloučenina se získá ve formě světležlutého pevného produktu (4,90 g, 55 %). 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,27 (d, $J=7,6$ Hz, 1H), 6,81 (d, $J=7,6$ Hz, 1H), 3,69–3,79 (m, 2H), 2,65–2,75 (m, 2H), 2,48 (s, 3H), 1,83–1,98 (m, 2H), 1,52 (s, 9H); MS(ES) m/e 249 ($M+H$)⁺.

b) Ethyl-[8-(terc.butoxykarbonyl)-5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl]acetat

K roztoku diisopropylaminu (7,24 ml, 55,3 mmol) v suchém THF (50 ml) se po kapkách při 0 °C přidá BuLi (2,5 M v hexanech, 22 ml, 55,3 mmol). Po 15 minutách se tento roztok přidá po kapkách k roztoku 2-methyl-8-(terc.butoxykarbonyl)-5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridinu (4,9 g, 19,7 mmol) a diethylkarbonatu (8,86 ml, 73,0 mmol) v suchém THF (50 ml) o teplotě -78 °C. Po 30 minutách se reakční směs zalije nasyceným NH_4Cl (100 ml), ohřeje se na teplotu místnosti a extrahuje se EtOAc (3 x 200 ml). Spojené organické extrakty se vysuší $MgSO_4$, zfiltrují se a zahustí se za sníženého tlaku. Chromatografií zbytku na silikagelu (40 % EtOAc/hexany) se

27.11.00

získá ve formě světležlutého oleje titulní sloučenina (5,72 g, 91 %). MS(ES) m/e 321 (M+H)⁺.

c) 2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl)-1-ethanol

K roztoku ethyl-[8-(terc.butoxykarbonyl)-5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl]acetátu (5,72 g, 17,85 mmol) v suchém THF (80 ml) se při teplotě místnosti přidá LiBH₄ (2,0 M v THF, 10,7 ml, 21,42 mmol) a výsledná směs se zahřívá při teplotě zpětného toku. Po 18 hodinách se směs ochladí na 0 °C a opatně se zalije H₂O (100 ml). Po 10 minutách se směs extrahuje EtOAc (3 × 100 ml). Spojené organické extrakty se vysuší MgSO₄, zfiltrují se a zahustí se za sníženého tlaku.

Výše uvedený zbytek (4,9 g), se rozpustí v CH₂Cl₂ (10 ml). K tomuto roztoku se přidá najednou při teplotě místnosti 4 N HCl v dioxanu (20 ml). Po 4 se směs zahustí za sníženého tlaku. Zbytek se vyjme do směsi 1,0 N NaOH a nasyceného NaCl v poměru 1:1 (100 ml) a extrahuje se CH₂Cl₂ (3 × 100 ml). Spojené organické extrakty se vysuší MgSO₄, zfiltrují se a zahustí se za sníženého tlaku. Zpracováním zbytku chromatografií na silikagelu (10 % MeOH ve směsi EtOAc/CHCl₃ 1:1) se získá ve formě žlutého pevného produktu titulní sloučenina (2,09 g, 66 %). MS(ES) m/e 179 (M+H)⁺.

Příprava 26

Separace enantiomerů methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)butanoátu metodou HPLC

a) Methyl-(S)-(-)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)-butanoát a methyl-(R)-(+)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)-butanoát

Methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)butanoat se štěpí na svoje enantiomery za následujících podmínek: kolona: Daicel Chiralcel OJR (21,2 x 250 mm), mobilní fáze: 20 % ethanolu v hexanu, průtoková rychlost 12 ml/min, detekce UV 320 nm, nástřik 25 mg; t_R pro methyl-(S)-(-)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)butanoat = 14,5 min; t_R pro methyl-(R)-(+)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)butanoat = 17,2 min.

Příprava 27

Separace enantiomerů ethyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-fenylbutanoatu metodou HPLC

a) Ethyl-(-)-4-(4-methoxyfenyl)-3-fenylbutanoat a ethyl-(+)-4-(4-methoxyfenyl)-3-fenylbutanoat

Ethyl-(±)-4-(4-methoxy)-3-fenylbutanoat se štěpí na svoje enantiomery za následujících podmínek: kolona: Daicel Chiralcel OJR (21,2 x 250 mm), mobilní fáze: 15 % ethanolu v hexanu, průtoková rychlost 15 ml/min, detekce UV 254 nm, nástřik 100 mg; t_R pro ethyl-(-)-4-(4-methoxyfenyl)-3-fenylbutanoat = 9,0 min; t_R pro ethyl-(+)-4-(4-methoxyfenyl)-3-fenylbutanoat = 12,2 min.

Příprava 28

Příprava methyl-(±)-3-(furan-2-yl)-4-(4-hydroxyfenyl)-butanoatu

a) Methyl-3-(furan-2-yl)akrylat

K roztoku kyseliny 3-(2-furanyl)akrylové (5,0 g, 36,2 mmol) v MeOH (30 ml) se přidá H_2SO_4 (0,5 ml, 9,39 mmol). Reakční směs se pak zahřívá 22 hodin při teplotě zpětného toku

27.11.00

a potom se zahustí na rotační vakuové odparce. Zbytek se zředí H₂O (100 ml) a extrahuje se etherem (2 x 70 ml). Organické vrstvy se spojí a promyjí se postupně nasyceným NaHCO₃ (30 ml) a H₂O (30 ml). Vysušením (Na₂SO₄) a zahuštěním na rotační vakuové odparce se získá ve formě světlehnědého oleje titulní sloučenina (4,86 g, 88 %). TLC R_f (10 % EtOAc/hexany) 0,50; MS(ES) m/e 479,0 (3M+Na)⁺

b) Methyl-(±)-3-furan-2-yl)-4-(4-methoxyfenyl)butanoat

Ke směsi CuI (2,51 g, 13,16 mmol) v THF (35 ml) se při teplotě místnosti v atmosféře argonu pomalu přidá TMEDA (2,18 ml, 14,47 mmol). Po 10 minutách při teplotě místnosti se reakční směs ochladí na -78 °C a pomalu se přidá 4-methoxybenzylmagnesiumchlorid v THF (0,5 M, 26,32 ml, 13,16 mmol). Reakční směs se pak míchá 15 minut, potom nástríkem přidá roztok TMSCl (4,17 ml, 32,89 mmol) a methyl-3-(furan-2-yl)akrylatu (1,0 g, 6,58 mmol) v THF (20 ml) a teplota se zvýší na -30 °C. Po 18 hodinách se reakční směs zalije nasyceným NH₄Cl/NH₄OH (30 ml) a směs se míchá při teplotě místnosti. Potom se přidá H₂O (20 ml) a směs se extrahuje etherem (2 x 70 ml). Spojené organické vrstvy se promyjí H₂O (2 x 50 ml) a vysuší se (Na₂SO₄). Zahuštěním a chromatografií na silikagelu (8 % EtOAc/hexany) se získá ve formě oleje titulní sloučenina (0,85 g, 93 %). TLC R_f (8 % EtOAc/hexany) 0,38; MS(ES) m/e 297 (M+Na)⁺.

c) Methyl-(±)-3-(furan-2-yl)-4-(4-hydroxyfenyl)butanoat

Roztok methyl-(±)-3-(furan-2-yl)-4-(4-methoxyfenyl)-butanoatu (0,82 g, 2,99 mmol) v CH₂Cl₂ (10 ml) se přidá po kapkách k roztoku BBr₃ v CH₂Cl₂ (1,0 M, 11,97 ml, 11,97 mmol) při 0 °C a v atmosféře argonu. Po 30 minutách se reakční směs

zalije methanolem (5 ml). Roztok se pak míchá 10 minut a potom se zahustí na rotační vakuové odparce. Zbytek se rozdělí mezi EtOAc (50 ml) a 5% NaHCO₃ (30 ml). Vrstvy se oddělí a organická vrstva se promyje H₂O (20 ml) a vysuší se (Na₂SO₄). Zahuštěním a chromatografií na silikagelu (40 % EtOAc/hexany) se získá ve formě nazelenalého světležlutého zbytku titulní sloučenina (0,12 g, 15 %). TLC R_f (50 % EtOAc/hexany) 0,36; MS(ES) m/e 542,8 (2M+Na)⁺.

Příprava 29

Příprava (±)-3-[1-(dimethylaminosulfonyl)imidazol-2-yl]-4-(4-hydroxyfenyl)butanoatu

a) 1-(dimethylaminosulfonyl)imidazol

K roztoku imidazolu (1,63 g, 24 mmol) v CH₂Cl₂ (100 ml) se přidá při teplotě místnosti Et₃N (3,55 ml, 24 mmol) a potom dimethylaminosulfonylchlorid (2,15 ml, 20 mmol). Po 24 hodinách se směs zahustí. Zbytek se vyjme do EtOAc (200 ml) a zfiltruje se přes vrstvu silikagelu. Filtrát se zahustí a ve formě bílé pevné hmoty se tak získá titulní sloučenina (2,89 g, 82 %). MS(ES) m/e 176 (M+H)⁺.

b) 2-(4-benzyloxyfenyl)-1-[1-(dimethylaminosulfonyl)imidazol-2-yl]ethanon

Titulní sloučenina se připraví způsobem popsáním pro přípravu 16(a) s tím rozdílem, že místo 2-bromthiazolu se použije použije 1-(dimethylaminosulfonyl)imidazol (410 mg, 2,34 mmol) a získá se po chromatografii na silikagelu (35 % EtOAc/hexany) ve formě bílého pevného produktu (364 mg, 47 %). MS(ES) m/e 400 (M+H)⁺.

27.11.00

c) Ethyl-(±)-4-(4-benzyloxyfenyl)-3-[1-(dimethylamino-sulfonyl)imidazol-2-yl]krotonat

Titulní sloučenina se připraví způsobem popsáním pro přípravu 16(b) s tím rozdílem, že se místo 2-[4-(benzyloxy)-fenyl]-1-(thiazol-2-yl)ethanonu se použije 2-(4-benzyloxy-fenyl)-1-[1-(dimethylaminosulfonyl)imidazol-2-yl]ethanon (564 mg, 1,41 mmol) a získá se po chromatografii na silikagelu (35 % EtOAc/hexany) ve formě oranžového oleje (589 mg směsí olefinových isomerů, 89 %). MS(ES) m/e 470 (M+H)⁺.

d) Ethyl-(±)-3-[1-(dimethylaminosulfonyl)imidazol-2-yl]-4-(4-hydroxyfenyl)butanoat

Titulní sloučenina se připraví ve formě bílého pevného produktu (436 mg, 91 %) způsobem popsáním pro přípravu 16(c) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-4-[4-(benzyloxy)fenyl]-3-(thiazol-2-yl]krotonatu se použije ethyl-(±)-4-(4-benzyloxy-fenyl)-3-[1-(dimethylaminosulfonyl)imidazol-2-yl]krotonat (589 mg, 1,25 mmol). MS(ES) m/e 382 (M+H)⁺.

Příprava 30

Příprava ethyl-(±)-3-(benzothiazol-2-yl)-4-(4-hydroxyfenyl)-butanoatu

a) 1-(benzothiazol-2-yl)-2-(4-benzyloxyfenyl)ethanon

Titulní sloučenina se připraví způsobem popsáním pro přípravu 16(a) s tím rozdílem, že místo 2-bromthiazolu se použije benzothiazol (0,26 ml, 2,34 mmol) a získá se po tritraci s hexany ve formě světležlutého pevného produktu (570 mg, 81 %). MS(ES) m/e 360 (M+H)⁺.

b) Ethyl-(±)-3-(benzothiazol-2-yl)-4-(4-benzyloxyfenyl)-krotonat

Titulní sloučenina se připraví ve formě směsi olefinových isomerů způsobem popsaným pro přípravu 16(b) s tím rozdílem, že místo 2-[4-(benzyloxy)fenyl]-1-(thiazol-2-yl)ethanonu se použije 1-(benzothiazol-2-yl)-2-(4-benzyloxyfenyl)ethanon (570 mg, 1,59 mmol). Surový produkt se použije bez dalšího čištění.

c) Ethyl-(±)-3-(benzothiazol-2-yl)-4-(4-benzyloxyfenyl)-butanoat

Ethyl-(±)-3-(benzothiazol-2-yl)-4-(4-benzyloxyfenyl)-krotonat (1,59 mmol, surový produkt) se hydrogenuje (50 psi H₂) s použitím 10% Pd/C (1,00 g) v EtOH/EtOAc 1:1 (20 ml) po dobu 5 hodin. Získaná směs se zfiltruje přes vrstvu Celite^R a filtrát se zahustí. Surový zbytek se použije bez dalšího čištění.

d) Ethyl-(±)-3-(benzothiazol-2-yl)-4-(4-hydroxyfenyl)-butanoat

K roztoku ethyl-(±)-3-(benzothiazol-2-yl)-4-(4-benzyloxyfenyl)butanoatu (1,59 mmol, surový produkt) v EtSH (1,95 ml) se při teplotě místnosti přidá BF₃.OEt₂ (1,95 ml). Po 48 hodinách se přidá další BF₃.OEt₂ (1,95 ml). Po dalších 18 hodinách se směs ochladí na 0 °C a opatrně se zalije nasyceným NaHCO₃. Vzniklá směs se extrahuje CH₂Cl₂ (3 × 25 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO₄ a zahustí se. Zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (30 % EtOAc/hexany) a získá se tak ve formě pěny titulní sloučenina (391 mg, 72 % vztažených na 3 stupně). MS(ES) m/e 342 (M+H)⁺.

Příprava 31

Příprava ethyl-(±)-3-(4-methylthiazol-2-yl)-4-(4-hydrofeny)-butanoatu

a) 2-(4-benzyloxyfeny)-1-(4-methylthiazol-2-yl)-ethanon

Titulní sloučenina se připraví způsobem popsaným pro přípravu 16(a) s tím rozdílem, že místo 2-bromthiazolu se použije 4-methylthiazol (0,21 ml, 2,34 mmol) a získá se po chromatografii na silikagelu (15 % EtOAc/hexany) ve formě světležlutého pevného produktu (303 mg, 48 %). MS(ES) m/e 324 (M+H)⁺.

b) Ethyl-(±)-3-(4-methylthiazol-2-yl)-4-(4-benzyl-oxyfeny)krotonat

Titulní sloučenina se připraví ve formě směsi olefinových isomerů způsobem popsaným pro přípravu 16(b) s tím rozdílem, že místo 2-[4-(benzyloxy)feny]-1-(thiazol-2-yl)ethanonu se použije 2-(4-benzyloxyfeny)-1-(4-methylthiazol-2-yl)ethanon (300 mg, 0,93 mmol). Surový produkt se použije bez dalšího čištění.

c) Ethyl-(±)-3-(4-methylthiazol-2-yl)-4-(4-benzyloxy-feny)butanoat

Ethyl-(±)-3-(4-methylthiazol-2-yl)-4-(4-benzyloxyfeny)-krotonat (0,93 mmol, surový produkt) se rozpustí v MeOH (10 ml) a při teplotě místnosti se přidá hořčák v pilínách (113 mg, 4,65 mmol). Po 18 hodinách se směs vlije do 10% HCl (75 ml) a extrahuje se CH₂Cl₂ (3 x 50 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO₄ a zahustí se. Zbytek se použije v.

27. 11. 00

následujícím stupni bez dalšího čištění.

d) Ethyl-(±)-3-(4-methylthiazol-2-yl)-4-(4-hydroxyfenyl)-butanoat

K roztoku ethyl-(±)-3-(4-methylthiazol-2-yl)-4-(4-benzyloxyfenyl)butanoatu (0,93 mmol, surový produkt) v EtSH (10 ml) se přidá při teplotě místnosti $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (2,29 ml). Po 24 hodinách se přidá další podíl $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (1,00 ml). Po 72 hodinách se směs ochladí na 0 °C a opatrně se zalije nasyceným NaHCO_3 . Získaná směs se extrahuje CH_2Cl_2 (3 x 25 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO_4 a zahustí se. Chromatografií zbytku na silikagelu (30 % EtOAc/hexany) se získá ve formě bílé pevné hmoty titulní sloučenina (216 mg, 80 % vzhledem ke 3 stupňům zpracování). MS(ES) m/e 292 (M+H)⁺.

Příprava 32

Příprava methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-[4-(benzyloxy-karbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]butanoatu

a) 4-brom-1-(triisopropylsilyloxy)benzen

K roztoku 4-bromfenolu (2,00 g, 11,56 mmol) v suchém DMF (20 ml) se při teplotě místnosti přidá imidazol (1,57 g, 23,12 mmol) a potom triisopropylsilylchlorid (3,71 ml, 17,34 mmol). Po 4 hodinách se směs zředí H_2O (50 ml) a extrahuje se hexany (3 x 75 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO_4 a a zahuštěním se ve formě čirého oleje získá titulní sloučenina (4,00 g, 100 %), která se dále použije bez čištění. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,29 (d, J=6 Hz, 2H), 6,71 (d, J=6 Hz, 2H), 1,22 (m, 3H), 1,09 (m, 18H).

b) Methyl-(±)-3-karboxy-4-[4-(triisopropylsilyloxy)-

27.11.00

fenyl]butanoat

Titulní sloučenina se připraví ve formě čirého oleje (2,24 g, 85 % vztažených na dva stupně) způsobem popsáním pro přípravu 15(b) s tím rozdílem, že místo 4-bromanisolu se použije 4-brom-1-(triisopropylsilyloxy)benzen (2,19 g, 6,66 mmol). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,01 (d, $J=6$ Hz, 2H), 6,80 (d, $J=6$ Hz, 2H), 3,62 (s, 3H), 3,05 (m, 2H), 2,65 (m, 1H), 2,40 (m, 2H), 1,21 (m, 3H), 1,09 (m, 18H).

c) Benzylester ($\pm$)-N-[2-[4-(triisopropylsilyloxy)-benzyl]-3-(karbomethoxy)propionyl]serinu

K roztoku methyl-($\pm$)-3-karboxy-4-[4-(triisopropylsilyloxy)fenyl]butanoatu (1,00 g, 2,53 mmol) v suchém DMF (10 ml) se při teplotě místnosti přidá benzylester hydrochloridu serinu (704 mg, 3,04 mmol), HOBt (411 mg, 3,04 mmol), Et_3N (1,06 ml, 7,60 mmol) a EDC (583 mg, 3,04 mmol). Po 18 hodinách se směs zahustí. Chromatografií zbytku na silikagelu (80 % EtOAc /hexany) se ve formě světležlutého oleje získá titulní sloučenina (834 mg, 58 %). MS(ES m/e 572 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$).

d) Methyl-($\pm$)-3-[4-(benzyloxykarbonyl)-1,3-oxazolin-2-yl]-4-[4-(triisopropylsilyloxy)fenyl]butanoat

K roztoku benzylesteru ($\pm$)-N-[2-[4-(triisopropylsilyloxy)benzyl]-3-(karbomethoxy)propionyl]serinu (834 mg, 1,46 mmol) v suchém THF (10 ml) se přidá Burgessovo činidlo (417 mg, 1,75 mmol) a směs se zahřeje na teplotu zpětného toku. Po 2 hodinách se směs ochladí na teplotu místnosti a zahustí se. Zpracováním zbytku chromatografií na silikagelu (35 % EtOAc /hexany) se získá ve formě čirého oleje titulní sloučenina (633 mg, 78 %). MS(ES) 554 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

e) Methyl-(±)-3-[4-(benzyloxykarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-(triisopropylsilyloxy)fenyl]butanoat

K roztoku methyl-(±)-3-[4-(benzyloxykarbonyl)-1,3-oxazolin-2-yl]-4-[4-(triisopropylsilyloxy)fenyl]butanoatu (633 mg, 1,14 mmol) v CH₂Cl₂ (6 ml) se při 0 °C přidá DBU (0,19 ml, 1,25 mmol) a potom bromtrichlormethan (0,12 ml, 1,25 mmol). Směs se pak nechá ohřát na teplotu místnosti současně s ohřevem lázně. Po 18 hodinách se směs zahustí. Titulní sloučenina se získá ve formě čirého oleje (427 mg, 68 %) chromatografií zbytku na silikagelu (20 % EtOAc/hexany). MS(ES) m/e 552 (M+H)⁺.

f) Methyl-(±)-3-[4-(benzyloxykarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-(4-hydroxyfenyl)butanoat

K roztoku methyl-(±)-3-[4-(benzyloxykarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-(triisopropylsilyloxy)fenyl]butanoatu (427 mg, 0,77 mmol) v suchém THF (5 ml) se při 0 °C přidá roztok TBAF v THF (1,0 M, 1,16 ml, 1,16 mmol). Po 2 hodinách se směs zředí nasyceným NH₄Cl (10 ml) a extrahuje se CH₂Cl₂ (3 x 15 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO₄ a zahustí se. Chromatografií zbytku na silikagelu (40 % EtOAc/hexany) se získá ve formě špinavě bílé pěny titulní sloučenina (268 mg, 88 %). MS(ES) m/e 396 (M+H)⁺.

Příprava 33

Příprava methyl-(±)-3-[4-karboxy-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu

a) Methyl-(±)-3-[4-(benzyloxykarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-

butanoat

K roztoku methyl-(±)-3-[4-(benzyloxykarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-(4-hydroxyfenyl)butanoatu (268 mg, 0,68 mmol), 2-[(6-methylamino)pyridin-2-yl]ethanolu (207 mg, 1,36 mmol), a trifenylfosfinu (357 mg, 1,36 mmol) v bezvodém THF (4 ml) se při 0 °C přidá diisopropylazodikarboxylat (0,27 ml, 1,36 mmol). Pak se směs nechá ohřát na teplotu místnosti současně s ohřevem chladicí lázně. Po 48 hodinách se směs zahustí a zpracováním chromatografií na silikagelu (50 % EtOAc/toluen) získá ve formě čirého oleje titulní sloučenina (284 mg, 79 %). MS(ES) m/e 530 (M+H)⁺.

b) Methyl-(±)-3-[4-karboxy-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat

Směs methyl-(±)-3-[4-(benzyloxykarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu (234 mg, 0,44 mmol) a 10% Pd/C (100 mg) v EtOH (5 ml) se zbaví kyslíku (3 x vakuum/N₂) a potom se intenzivně míchá v atmosféře H₂ (přetlak z balonu). Po 4 hodinách se směs zfiltruje přes vrstvu Celitu^R a zahuštěním se ve formě bílé pěny získá titulní sloučenina (165 mg, 85 %). MS(ES) m/e 440 (M+H)⁺.

Příprava 34

Příprava methyl-(±)-3-(4-hydroxybenzyl)pent-4-inoat

a) Methyl-(±)-3-formyl-4-(4-methoxyfenyl)butanoat

K roztoku methyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-karboxybutanoatu (přípraveného způsobem popsáním pro přípravu 15, 0,45 g, 1,80 mmol) v CH₂Cl₂ (10 ml) se přidá oxalylchlorid

(0,24 ml, 2,75 mmol) a DMF (1 kapka). Za 1,5 hodiny se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s toluenem (2 x). Surový chlorid kyseliny se rozpustí v acetonu (2 ml) a získaný roztok se přidá po kapkách k rychle promíchané suspenzi $(\text{Ph}_3\text{P})_2\text{CuBH}_4$ (1,14 g, 1,89 mmol) a Ph_3P (0,99 g, 3,78 mmol) v acetonu (4 ml). Po 1 hodině při teplotě místnosti se reakční směs zfiltruje přes Celite^R a filtrační vrstva se promyje EtOAc. Spojené organické filtráty se zahustí na žlutý zbytek. Titulní sloučenina se získá ve formě čirého oleje (0,25 g) radiální chromatografií na silikagelu (deska 6 mm, 20 % EtOAc/hexan). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,79 (s, 1H), 7,11 (d, $J=8,6$ Hz, 2H), 6,84 (d, $J=8,6$ Hz, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,65 (s, 3H), 3,10 (m, 2H), 2,70 (m, 2H), 2,38 (dd, $J=16,8$, 5,1 Hz, 1H).

b) Methyl-(±)-3-(4-methoxybenzyl)pent-4-inoat

K roztoku methyl-(±)-3-formyl-4-(4-methoxyfenyl)-butanoatu (0,14 g, 0,61 mmol) v suchém MeOH (5 ml) se přidá K_2CO_3 (0,17 g, 1,21 mmol) a potom po kapkách roztok 1-diazo-2-oxopropylfosfonátu (0,13 g, 0,67 mmol) v MeOH (5 ml). Po 18 hodinách při teplotě místnosti se reakční směs vlije do nasyceného NaHCO_3 a extrahuje se Et_2O . Spojené organické extrakty se promyjí solným roztokem a vysuší se MgSO_4 . Pak se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku za výtěžku čirého oleje. Titulní sloučenina se získá ve formě čirého oleje (0,06 g) radiální chromatografií na silikagelu (deska 2 mm, 20 % EtOAc/hexany). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,23 (d, $J=8,4$ Hz, 2H), 6,92 (d, $J=8,4$ Hz, 2H), 3,87 (s, 3H), 3,77 (s, 3H), 3,20 (m, 1H), 2,85 (m, 2H), 2,56 (d, 6,7 Hz, 2 H), 2,17 (d, $J=2,0$ Hz, 1H).

c) Methyl-(±)-3-(4-hydroxybenzyl)pent-4-inoat

K roztoku BBr_3 v CH_2Cl_2 (1,0 M, 0,85 ml, 0,85 mmol) se při 0 °C přidá roztok methyl-(±)-3-(4-methoxybenzyl)pent-4-inoatu (66 mg, 0,28 mmol) v CH_2Cl_2 (0,60 ml). Po 3 hodinách při 0 °C se reakce opatrně přeruší přidávkem MeOH (1 ml). Potom se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku a zbytek znovu azeotropicky odpařuje s MeOH (2 x). Pak se ke zbytku přidá nasycený NaHCO_3 a vodná vrstva se extrahuje EtOAc. Spojené organické extrakty se promyjí solným roztokem a vysuší se Na_2SO_4 . Odstraněním rozpouštědla za sníženého tlaku se získá čirý film. Titulní sloučenina se získá ve formě čirého filmu (25 mg) radiální chromatografií na silikagelu (deska 2 mm, 20 % EtOAc/hexany). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,15 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 6,83 (d, $J=8,5$ Hz, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,69 (s, 3H), 3,10 (m, 1H), 2,75 (m, 2H), 2,45 (m, 2H), 2,11 (d, $J=2,2$ Hz, 1H).

Příprava 35

Příprava methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(fenylethyl)-butanoatu

a) Kyselina (±)-2-(4-methoxybenzyl)-4-fenylbutanová

Do reakční baňky se vnese diisopropylamin (1,0 mmol, 7,5 mmol), NaH (60% v minerálním oleji, 0,33 g, 8,5 mmol) a THF (40 mmol). Směs se promíchává a přidá se k ní během 5 minut roztok kyseliny fenylmásečné (1,23 g, 7,5 mmol) v THF (10 mmol). Směs zahřívá 10 minut při teplotě zpětného toku, kdy ustane uvolňování vodíku. Pak se reakční směs ochladí na 10 °C a přidá se roztok BuLi (2,5 M v hexanech, 3,0 mmol, 7,7 mmol). Po 15 minutách se teplota zvýší na 15 minut na 30 °C. Zakalený roztok se ochladí na 0 °C a během 10 minut se přidá 4-methoxybenzylchlorid (1,2 g, 7,5 mmol). Po 20 minutách při

uvedené teplotě se směs začne míchat při teplotě místnosti přes noc. Pak se reakční směs udržuje při teplotě 15 °C nebo pod touto teplotou přičemž se přidá H₂O (50 ml). Pak se směs částečně zahustí ve vakuu, zředí se vodou a extrahuje se etherem (2 x 50 ml). Vodná vrstva se pak okyselí 6 N HCl na Kongo-červeň a extrahuje se Et₂O (3 x 30 ml). Spojené extrakty se vysuší bezvodým MgSO₄, zfiltrují se a zahuštěním se ve formě žlutého oleje získá titulní sloučenina (1,6 g, 56 %). TLC R_f (1 % MeOH/CH₂Cl₂) 0,37.

b) (±)-1-diazo-4-(4-methoxyfenyl)-3-(2-fenylethyl)-2-butanon

Roztok kyseliny (±)-2-(4-methoxybenzyl)-4-fenylbutanové (1,5 g, 5,26 mmol) v CH₂Cl₂ (30 ml) se zpracuje s oxalylchloridem (0,92 ml, 10,5 mmol). Reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a pak se zahustí ve vakuu. Zbytek se rozpustí v Et₂O, přidá se přebytek diazomethanu (generovaného reakcí 1-methyl-3-nitro-1-nitroguanidinu a NaOH). Reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti a potom se zahuštěním ve vakuu získá ve formě žlutého oleje (1,5 g, 94 %) titulní sloučenina. MS(ES) m/e 309 (M+H)⁺.

c) Methyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-(2-fenylethyl)-butanoat

K roztoku (±)-1-diazo-4-(4-methoxyfenyl)-3-(fenylethyl)-2-butanonu (0,3 g, 0,97 mmol) v MeOH (20 ml) se při teplotě místnosti přidá roztok benzoanu stříbrného (0,9 g, 3,9 mmol) v Et₃N (8 ml, 55,6 ml). Dojde k uvolňování plynu a směs se zbarví černě. Po 30 minutách se reakční směs zahřeje na teplotu zpětného toku. Po 1 hodině zahřívání při teplotě zpětného toku se reakční směs ochladí na teplotu místnosti,

zfiltruje se přes Celite^R a filtrát se zahustí ve vakuu. Zbytek se nabsorbuje na silikagel a nanese se na sloupec suchého silikagelu. Titulní sloučenina se získá ve formě světležlutého oleje (0,1 g, 57 %) rychlou chromatografií (5 % EtOAc/hexany). TLC R_f (5 % EtOAc/hexany) 0,63.

d) Methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(fenylethyl)-butanoat

K roztoku methyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-(2-fenylethyl)-butanoatu (1,0 g, 3,21 mmol) v CH₂Cl₂ (10 ml) se při 0 °C v atmosféře argonu přidá bromid boritý (1,0 M v CH₂Cl₂). Po jedné hodině se reakční směs zalije absolutním MeOH a zahustí se ve vakuu. Zbytek znovu zahustí po přidavku toluenu (několikrát) a následným vysušením ve vysokém vakuu se získá ve formě oleje titulní sloučenina (0,7 g, 73 %). TLC R_f (15 % EtOAc/hexany) 0,26.

Příprava 36

Příprava methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-benzylbutanoatu

a) Kyselina (±)-2-(4-methoxybenzyl)-3-fenylpropionová

Titulní sloučenina se připraví ve formě žlutého oleje (60 %) způsobem popsáním pro přípravu 35(a) s tím rozdílem, že místo kyseliny fenylmásečné se použije kyselina fenylpropionová. TLC R_f (1 % MeOH/CH₂Cl₂) 0,38.

b) (±)-1-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-benzyl-2-butanon

Titulní sloučenina se připraví ve formě žlutého oleje (100 %) způsobem popsáním pro přípravu 35(b) s tím rozdílem, že místo (±)-2-(4-methoxybenzyl)-4-fenylbutanové kyseliny se

27.11.00

použije kyselina $(\pm)$ -2-(4-methoxybenzyl)-3-fenylpropionová.
MS(ES) m/e 289 (M+H)⁺.

c) Methyl- $(\pm)$ -4-(4-methoxyfenyl)-3-benzylbutanoat

Titulní sloučenina se připraví ve formě světležluté pěny (80 %) způsobem popsaným pro přípravu 35(c) s tím rozdílem, že místo $(\pm)$ -1-diazo-4-(4-methoxyfenyl)-3-(fenylethyl)-2-butanonu se použije $(\pm)$ -1-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-benzyl-2-butanon. TLC R_f (5 % EtOAc/hexany) 0,33.

d) Methyl- $(\pm)$ -4-(4-hydroxyfenyl)-3-benzylbutanoat

Titulní sloučenina (24 %) se připraví způsobem popsaným pro přípravu 35(d) s tím rozdílem, že místo methyl- $(\pm)$ -4-(4-methoxyfenyl)-3-(2-fenylethyl)butanoatu se použije methyl- $(\pm)$ -4-(4-methoxyfenyl)-3-benzylbenzoat. TLC R_f (20 % EtOAc/hexany) 0,33.

Příprava 37

Příprava methyl- $(\pm)$ -4-(4-hydroxyfenyl)-3-cyklopropylbutanoatu

a) Kyselina $(\pm)$ -2-(4-methoxybenzyl)-2-cyklopropyloctová

Titulní sloučenina se připraví ve formě žlutého oleje (60 %) způsobem popsaným pro přípravu 35(a) s tím rozdílem, že místo kyseliny fenylmáselné se použije kyselina cyklopropyloctová. TLC R_f (10 % MeOH/CH₂Cl₂) 0,42.

b) $(\pm)$ -1-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-cyklopropyl-2-butanon

Titulní sloučenina se připraví ve formě žlutého oleje (100 %) způsobem popsaným pro přípravu 35(b) s tím rozdílem,

27.11.00

že místo kyseliny ($\pm$)-2-(4-methoxybenzyl)-4-fenylbutanové se použije kyselina ($\pm$)-2-(4-methoxybenzyl)-2-cyklopropyloctová. MS(ES) m/e 245 (M+H)⁺.

c) Methyl-($\pm$)-4-(4-methoxyfenyl)-3-cyklopropylbutanoat

Titulní sloučenina se připraví ve formě slabě žlutého filmu (60 %) způsobem popsaným pro přípravu 35(c) s tím rozdílem, že místo ($\pm$)-1-diazo-4-(4-methoxyfenyl)-3-(fenylethyl)-2-butanonu se použije ($\pm$)-1-diazo-3-(4-methoxyfenyl)-3-cyklopropyl-2-butanon. TLC R_f (10 % EtOAc/hexany) 0,21.

d) Methyl-($\pm$)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-cyklopropylbutanoat

Titulní sloučenina se připraví ve formě slabě žlutého filmu (20 %) způsobem popsaným pro přípravu 35(d) s tím rozdílem, že místo methyl-($\pm$)-4-(4-methoxyfenyl)-3-(2-fenylethyl)butanoatu se použije methyl-($\pm$)-4-(4-methoxyfenyl)-3-cyklopropylbutanoat. TLC R_f (10 % EtOAc/hexany) 0,11.

Příprava 38

Příprava ethyl-4-(4-hydroxyfenyl)-3-methyl-3-butenolat

a) Ethyl-4-(4-methoxyfenyl)-3-methyl-3-butenolat

K suspenzi NaH (60% v minerálním oleji, 2,1 g, 54 mmol) v toluenu (40 ml) se přidá triethylfosfonoacetat (11,1 g, 49,4 mmol) v toluenu (50 ml). reakční směs se míchá 20 minut při teplotě místnosti a pak se přidá po kapkách roztok 4-methoxyfenylacetonu (7,4 g, 44,9 mmol) v toluenu (40 ml). Reakční směs se pak zahřívá 5 hodin při teplotě zpětného toku a potom se zahustí. Titulní sloučenina se získá ve formě bezbarvého oleje (1,0 g) rychlou chromatografií na silikagelu

(5 % EtOAc/hexany). TLC R_f (5 % EtOAc/hexany) 0,23.

b) Ethyl-4-(4-hydroxyfenyl)-3-methylbutenoat

Titulní sloučenina se připraví ve formě bezbarvého oleje (34 %) způsobem popsaným pro přípravu 35(d) s tím rozdílem, že místo methyl-(±)-4-(4-methoxyfenyl)-3-(2-fenylethyl)butanoatu se použije ethyl-4-(4-methoxyfenyl)-3-methyl-3-butenat. TLC R_f (10 % EtOAc/hexany) 0,13.

Následující příklady a sloučeniny v nich uvedené znázorňují způsoby přípravy biologicky aktivních sloučenin podle vynálezu z meziproduktů popsaných ve výše uvedených "Přípravách".

Příklad 1

Příprava kyseliny (±)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanové

a) Ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-[3-(1-oxopyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoat

K roztoku ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoatu (426,5 mg, 1,5 mmol), 2-[(3-hydroxy-1-propyl)amino]pyridin-N-oxidu (378,5 mg, 2,25 mmol) a trifenylfosfinu (590,2 mg, 2,25 mmol) v bezvodém DMF (22,5 ml) se při 0 °C v atmosféře argonu přidá během 45 sekund diisopropylazodicarboxylat (0,44 ml, 2,25 mmol). Žlutý roztok se udržuje 10 minut při 0 °C a pak se ohřeje na teplotu místnosti. Po 23 hodinách se reakční směs zahustí a zbytek se pak znovu zahustí s přidavkem xylenu (2 x). Titulní sloučenina se získá chromatografií na silikagelu (gradientová eluce: EtOAc a potom 5 % MeOH/CHCl₃) ve formě žlutého oleje 445,7 mg, 68 %). TLC R_f (5 % MeOH,

27.11.00

CHCl₃) 0,41; ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 8,11 (dd, J=6,5, 1,3 Hz, 1H), 7,05-7,35 (m, 5H), 6,85-7,05 (m, 1H), 6,94 (d, J=8,6 Hz, 2H), 6,76 (d, J=8,6 Hz, 2H), 6,62 (dd, J=8,5, 1,5 Hz, 1H), 6,48-6,59 (m, 1H), 3,90-4,10 (m, 4H), 3,50 (q, J=6,5 Hz, 2H), 3,25-3,45 (m, 1H), 2,85 (d, J=7,4 Hz, 2H), 2,50-2,72 (m, 2H), 2,05-2,22 (m, 2H), 1,11 (t, J=7,1 Hz, 3H); MS(ES) m/e 435,1 (M+H)⁺.

b) Ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoat

Směs ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-[3-(1-oxopyridin-2-yl)-amino-1-propyloxy]fenyl]butanoatu (445,7 mg, 1,03 mmol), cyklohexenu (1 ml, 10 mmol), 10% Pd/C (110 mg, 0,10 mmol) a isopropanolu (10 ml) se zahřívá v atmosféře argonu při teplotě zpětného toku. Po 3 hodinách se přidá další podíl Pd/C (110 mg). Tato směs se zahřívá při teplotě zpětného toku dalších 20,5 hodiny a pak se za horka zfiltruje přes CeliteR. Filtrační vrstva se promyje horkým MeOH/CHCl₃ a spojené filtráty se zahustí. Zbytek se pak znvou zahustí s toluenem a zpracováním chromatografií na silikagelu (5 % MeOH/CHCl₃) se získá ve formě bezbarvého oleje titulní sloučenina 332,5 mg, 77 %). TLC R_f (5 % MeOH/CHCl₃) 0,43; ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 8,02-8,12 (m, 1H), 7,32-7,45 (m, 1H), 7,06-7,32 (m, 5H), 6,94 (d, J=8,6 Hz, 2H), 6,75 (d, J=8,6 Hz, 2H), 6,50-6,60 (m, 1H), 6,39 (d, J=8,4 Hz, 1H), 4,65-4,82 (m, 1H), 3,88-4,10 (m, 4H), 3,48 (q, J=6,4 Hz, 2H), 3,28-3,45 (m, 1H), 2,84 (d, J=7,4 Hz, 2H), 2,50-2,62 (m, 2H), 2,00-2,15 (m, 2H), 1,10 (t, J=7,1 Hz, 3H); MS(ES) m/e 419,1 (M+H)⁺.

c) Kyselina (±)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanová

Směs ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoatu (332,5 mg, 0,79 mmol), 1,0 N LiOH (1,2 ml, 1,2 mmol), THF (4 ml) a H₂O (2,8 ml) se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti a pak se zahřívá v olejové lázni teploty 45-50 °C. Po 17,5 hodinách se vzniklý homogenní, téměř bezbarvý roztok ochladí na teplotu místnosti a extrahuje se EtO (2 x 8 ml). Vrstvy tvořené Et₂O se odstraní. Vodná vrstva se míchá za mírného zahřívání ve vakuu k odstranění zbytkových organických rozpouštědel a pak se zfiltruje. Získaný vodný roztok se míchá při teplotě místnosti, přičemž se pH roztoku opatrně upraví pomocí 1,0 N HCl na 5,5-6,0. Tato směs se míchá 0,5 hodiny, pevné podíly se oddělí filtrací s pomocí odsávání a promyjí se dostatečným množstvím H₂O. Vysušením ve vysokém vakuu při 60 °C se ve formě sklovité pevné hmoty získá titulní sloučenina (232,3 mg, 74 %). HPLC (Hamilton PRP-1R, 35 % CH₃CN/H₂O s obsahem 0,1 % TFA) K' = 2,4; ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ 7,75-7,95 (m, 1H), 7,48 (app t, 1H), 7,07-7,27 (m, 5H), 6,90 (d, J=8,5 Hz, 2H), 6,72 (d, J=8,5 Hz, 2H), 6,50-6,70 (m, 2H), 4,01 (t, J=6,0 Hz, 2H), 3,44 (t, J=6,7 Hz, 2H), 3,20-3,40 (m, 1H, překrytý zbytkovým signálem rozpouštědla), 2,87 (dd, J=13,6, 6,6 Hz, 1H), 2,79 (dd, J=13,6, 8,1 Hz, 1H), 2,48-2,70 (m, 2H), 1,98-2,11 (m, 2H); MS(ES) m/e 391,0 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₄H₂₆N₂O₃·0,33 H₂O: C, 72,72; H, 6,78; N, 7,07. Nalezeno: C, 72,68; H, 6,69; N, 6,96.

Příklad 2

Příprava kyseliny (±)-3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)-pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat

K roztoku ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoatu

(427 mg, 1,5 mmol), 6-(methylamino)-2-pyridylethanolu (343 mg, 2,25 mmol) a trifenylfosfinu (590 mg, 2,25 mmol) v bezvodém THF (22,5 ml) se při 0 °C v atmosféře N₂ během 2 minut přidá diisopropylazodikarboxylat (0,44 ml, 2,25 mmol). Žlutý roztok se udržuje 10 minut při 0 °C a pak se ohřeje na teplotu místnosti. Po 24 hodinách se reakční směs zahustí a zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (Et₂O/hexany 4:1). Titulní sloučenina se získá ve formě bezbarvého oleje (479,5 mg, 76 %). TLC R_f (Et₂O/hexany 4:1) 0,50; ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 7,38 (app t, 1H), 7,07–7,30 (m, 5H), 6,93 (d, J=8,6 Hz, 2H), 6,76 (d, J=8,6 Hz, 2H), 6,54 (d, J=7,3 Hz, 1H), 6,24 (d, J=8,3 Hz, 1H), 4,42–4,58 (m, 1H), 4,26 (t, J=7,0 Hz, 2H), 3,98 (q, J=7,1 Hz, 2H), 3,25–3,42 (m, 1H), 3,05 (t, J=7,0 Hz, 2H), 2,89 (d, J=5,3 Hz, 3H), 2,74–2,92 (m, 2H), 2,50–2,72 (m, 2H), 1,10 (t, J=7,1 Hz, 3H); MS(ES) m/e 419,1 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová

K chladnému roztoku (15 °C) ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu (479,5 mg, 1,15 mmol) v dioxanu (4,6 ml) se po kapkách přidá 1,0 N NaOH (1,15 ml, 1,15 mmol). Získaná směs se míchá 2,5 hodiny při teplotě místnosti a pak se zahřívá v olejové lázni vyhřáté na 40 °C. Po 24 hodinách se reakční směs ochladí na teplotu místnosti, míchá se 3 dny, potom se zředí H₂O (3,4 ml) a extrahuje se Et₂O (3 × 5 ml). Potom se vrstvy Et₂O odstraní. Protože dochází ke vzniku pevné sraženiny, pro dosažení homogenního roztoku se přidá 1,0 N NaOH (1,0 ml), dioxan (5 ml) a Et₂O (10 ml). Hodnota pH se upraví pomocí 1,0 N HCl na 5,5–6,0 a organická rozpouštědla se odstraní na rotační vakuové odparce. Vodný roztok se oddělí dekantací od gumovité sraženiny, a sraženina se důkladně vysuší ve vakuu. Zbytek se

27.11.00

rekrytalizuje z CH₃CN a pevná hmota se suší ve vakuu několik dní při 60 °C a získá se tak titulní sloučenina (331,0 mg, 74 %) ve formě bílé krystalické pevné hmoty. HPLC (Hamilton PRP-1R, 35 % CH₃CN/H₂O s obsahem 0,1 % TFA) K' = 2,9; ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 7,05–7,40 (m, 6H), 6,95 (d, J=8,4 Hz, 2H), 6,76 (d, J=8,4 Hz, 2H), 6,42 (d, J=7,1 Hz, 1H), 6,30–6,50 (m, 1H), 6,26 (d, J=8,3 Hz, 1H), 4,21 (t, J=6,7 Hz, 2H), 3,12–3,30 (m, 1H), 2,92 (t, J=6,7 Hz, 2H), 2,60–2,90 (m, 2H), 2,73 (d, J=4,8 Hz, 3H), 2,40–2,60 (m, 2H, signál částečně překrytý zbytkovým signálem rozpouštědla); MS(ES) m/e 391,2 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₄H₂₆N₂O₃: C, 73,82; H, 6,71; N, 7,17. Nalezeno: C, 73,43; H, 6,72; N, 7,40.

Příklad 3

Příprava kyseliny (±)-3-fenyl-4-[4-[[3-(pyridin-2-yl)-amino-1-ethylamino]karbonyl]fenyl]butanové

a) Ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-[[2-(pyridin-2-yl)amino-1-ethylamino]karbonyl]fenyl]butanoat

K suspenzi ethyl-(±)-(4-karboxyfenyl)-3-fenylbutanoatu (312 mg, 1,0 mmol), 2-[(2-amino-1-ethyl)amino]pyridin-dihydrochloridu (252 mg, 1,2 mmol) a HOBt (162 mg, 1,2 mmol) v CH₃CN (5 ml) se přidá (i-Pr)₂NEt (0,87 ml, 5,0 mmol) a potom EDC (230 mg, 1,2 mmol). Po 18 hodinách se směs zahustí. Titulní sloučenina se získá ve formě nahnědlé pěny (380 mg, 88 %) po chromatografii na silikagelu (5 % MeOH ve směsi CHCl₃/EtOAc 1:1). MS(ES) m/e 432 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-3-fenyl-4-[4-[[2-(pyridin-2-yl)amino-1-ethylamino]karbonyl]fenyl]butanová

K roztoku ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-[[2-(pyridin-2-yl)amino-

-1-ethylamino]karbonyl]fenyl]butanoatu (380 mg, 0,88 mmol) ve směsi THF/H₂O 1:1 (0,5 ml) se přidá 1,0 N LiOH (1,3 ml, 1,3 mmol). Po 24 hodinách se směs zahustí odstraněním THF. Získaný vodný roztok se ochladí na 0 °C a okyselí se pomocí 10% HCl na pH 6. Sraženina se oddělí filtrací a vysušením ve vakuu se získá ve formě bílého pevného produktu (213 mg, 60 %) titulní sloučenina. MS(ES) m/e 404 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₄H₂₅N₃O₃·0,25 H₂O: C, 70,66; H, 6,30; N, 10,30. Nalezeno: C, 70,92; H, 6,44; N, 10,14.

Příklad 4

Příprava kyseliny (±)-3-fenyl-3-[4-[4-(pyridin-2-yl)amino-1-butyl]fenylamino]propanové

a) 1-brom-4-(nitrofenyl)butan

K roztoku 4-(4-nitrofenyl)-1-butanolu (1,0 g, 5,12 mmol) v suchém THF (10 ml) se přidá PPh₃ (1,61 g, 6,14 mmol) a CBr₄ (2,04 g, 6,14 mmol). Po 4 hodinách se směs zahustí. Titulní sloučenina se získá chromatografií zbytku na sílikagelu (10 % EtOAc/hexany) ve formě žlutého oleje (1,22 g, 92 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,18 (d, J=6,5 Hz, 2H), 7,36 (d, J=6,5 Hz, 2H), 3,48 (t, 2H), 2,80 (t, 2H), 1,9 (m, 4H).

b) 1-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-(pyridin-2-yl)amino]-4-(4-nitrofenyl)butan

K suspenzi NaH (170 mg, 4,25 mmol) v suchém DMF (10 ml) se přidá při 0 °C 2-(terc.butoxykarbonylamino)pyridin (750 mg, 3,86 mmol). Po 5 minutách se směs ohřeje na teplotu místnosti. Po 15 minutách se směs ochladí na 0 °C a přidá se 1-brom-4-(4-nitrofenyl)butanu (1,22 g, 4,73 mmol) v suchém DMF (5 ml). Tato směs se nechá ohřát na teplotu místnosti současně s

27.11.00

oteplouváním lázně. Po 18 hodinách se směs zahustí. Zbytek se vyjme do H₂O (50 ml) a extrahuje se EtOAc (3 x 50 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO₄, zfiltrují se a zahustí se. Chromatografií na silikagelu (15 % EtOAc/hexany) se ve formě světležlutého oleje získá titulní sloučenina (1,25 g, 87 %). MS(ES) m/e 372 (M+H)⁺.

c) 1-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-(pyridin-2-yl)amino]-4-(4-aminofenyl)butan

K suspenzi 10% Pd/C (358 mg) v absolutním EtOH (15 ml) se přidá 1-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-(pyridin-2-yl)amino]-4-(nitrofenyl)butan (1,25 g, 3,37 mmol). Tato směs se zbaví kyslíku (3 cykly evakuace/zavádění N₂) a pak se zavede H₂ (50 psi). Po 2 hodinách v atmosféře H₂ se H₂ odstraní a směs se zfiltruje přes vrstvu CeliteR. Filtrát se pak zahustí a získá se tak titulní sloučenina ve formě žlutého oleje (1,14 g, 99 %), která se použije bez dalšího čištění. MS(ES) m/e 342 (M+H)⁺.

d) Terc.butyl-(±)-3-fenyl-3-[4-[4-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-(pyridin-2-yl)amino]-1-butyl]fenylamino]propanoat

K suspenzi MgSO₄ (7,0 g) v CH₂Cl₂ (20 ml) se přidá 1-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-(pyridin-2-yl)amino]-4-(4-aminofenyl)butan (560 mg, 1,64 mmol) a potom benzaldehyd (0,2 ml, 1,97 mmol). Po 18 hodinách se směs zfiltruje a filtrát se zahustí. Zbytek se vyjme do suchého THF (10 ml) a ochladí se na -78 °C. K této směsi se přidá po kapkách BF₃.OEt₂ (0,4 ml, 3,28 mmol). Po 15 minutách se přidá Reformatskyho činidlo připravené z kovového zinku a terc.butylacetatu v THF (Tetrahedron **1984**, 40, 2781; 818 mg, 2,46 mmol). Tato směs se pak nechá během 5 hodin ohřát na teplotu místnosti tak jak se

ohřívá chladicí lázeň. Směs se pak zředí H₂O (20 ml) a extrahuje se EtOAc (3 x 20 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO₄, zfiltrují se a zahustí se. Titulní sloučenina se získá zpracováním zbytku chromatografií na silikagelu (15 % EtOAc/hexany) (350 mg, nečistý produkt). MS(ES) m/e 546 (M+H)⁺.

e) Kyselina (±)-3-fenyl-[4-[4-(pyridin-2-yl)amino-1-butyl]fenylamino]propanová

Terc.butyl-(±)-3-fenyl-3-[4-[4-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-(pyridin-2-yl)amino]-1-butyl]fenylamino]propanoat (350 mg, nečistý produkt) se rozpustí v TFA /CH₂Cl₂ 1:1 (10 ml). Po 2 hodinách se směs zahustí. Zbytek se pak rozpustí v 1,0 M NaOH (10 ml) a extrahuje se EtOAc (2 x 10 ml). Vodná vrstva se okyselí na pH 6 pomocí 10% HCl. Pevný podíl se oddělí filtrací a sušením ve vakuu při 50 °C po dobu 18 hodin se získá ve formě špinavě bílého prášku titulní sloučenina (74 mg, 12 %). MS(ES) m/e 390 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₄H₂₇N₃O₂.0,50 H₂O: C, 72,34; H, 7,08; N, 10,54. Nalezeno: C, 72,29; H, 6,92; N, 10,37.

Příklad 5

Příprava kyseliny 4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Methyl-4-[4-[2[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]-fenyl]butanoat

27.11.00

K roztoku methyl-4-(4-hydroxyfenyl)butanoatu (180 mg, 0,93 mmol), 6-(methylamino)-2-pyridylethanolu (212 mg, 1,4 mmol) a trifenyfosfinu (367 mg, 1,4 mmol) v bezvodém THF (10 ml) se při 0 °C přidá diisopropylazodikarboxylát (0,3 ml, 1,4 mmol). Tato směs se pak nechá ohřát na teplotu místnosti současně s tím, jak se ohřívá chladicí lázeň. Po 24 hodinách se směs zahustí a zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (Et₂O). Titulní sloučenina se získá ve formě světležlutého oleje (160 mg, 52 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,39 (t, 1H), 7,05 (d, J=6,6 Hz, 2H), 6,82 (d, J=6,6 Hz, 2H), 6,52 (d, J=8 Hz, 1H), 6,13 (d, J=8,0 Hz, 1H), 4,51 (br s, 1H), 4,28 (t, 2H), 3,72 (t, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,06 (t, 2H), 2,89 (d, J=6,0 Hz, 3H), 2,55 (t, 2H), 2,30 (t, 2H), 1,88 (m, 2H).

b) Kyselina 4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová

K roztoku methyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu (160 mg, 0,49 mmol) v THF/H₂O 1:1 (1,5 ml) se přidá 1,0 N LiOH (0,58 ml, 0,58 mmol). Po 5 hodinách se směs zahustí a odstraní se tak THF. Získaný vodný roztok se ochladí na 0 °C a okyselí se pomocí 10% HCl na pH 6. Titulní sloučenina (94 mg, 61 %) se odfiltruje a suší se 18 hodin při 50 °C. MS(ES) m/e 315 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₁₈H₂₂N₂O₃: C, 68,77; H, 7,05; N, 8,91. Nalezeno: C, 68,75; H, 7,06; N, 8,74.

Příklad 6

Příprava kyseliny (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-vinylbutanové

a) Methyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-vinylbutanoat

K roztoku methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-vinylbutanoatu (92,5 mg, 0,42 mmol), 6-(methylamino)-2-pyridylethanolu (128 mg, 0,84 mmol) a trifenylfosfinu (220 mg, 0,84 mmol) v bezvodém THF (2 ml) se při 0 °C přidá diisopropylazodi-karboxylat (0,17 ml, 0,84 mmol). Tato směs se pak nechá ohřát na teplotu místnosti současně s tím, jak se ohřívá chladicí lázeň. Po 24 hodinách se směs zahustí a zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (Et₂O/hexany 3:1). Titulní sloučenina se získá ve formě světležlutého oleje (100 mg, 67 %). MS(ES) m/e 355 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-vinylbutanová

K roztoku methyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-vinylbutanoatu (100 mg, 0,28 mmol) ve směsi THF/H₂O 1:1 (1,5 ml) se přidá 1,0 N LiOH (0,34 ml, 0,34 mmol). Po 18 hodinách se směs okyslí na pH 6 pomocí 10 % HCl a směs se extrahuje EtOAc (3 × 10 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO₄, zfiltrují se a zahustí se. Lyofilizací zbytku z HOAc (10 ml) se ve formě žlutého oleje získá titulní sloučenina (50 mg, 52 %). MS(ES) m/e 341 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₀H₂₄N₂O₃·2,75 CH₃CO₂H: C, 60,58; H, 6,98; N, 5,54. Nalezeno: C, 60,55; H, 6,91; N, 5,47.

Příklad 7

Příprava kyseliny (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(pyridin-2-yl)butanové

a) Ethyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(pyridin-2-yl)butanoat

27.11.00

K roztoku ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(pyridin-2-yl)-butanoatu (90 mg, 0,31 mmol), 6-(methylamino)-2-pyridyl-ethanolu (95 mg, 0,62 mmol) a trifenylfosfinu (163 mg, 0,62 mmol) v bezvodém THF (2 ml) se při 0 °C přidá diisopropylazodikarboxylat (0,12 ml, 0,62 mmol). Tato směs se pak nechá ohřát na teplotu místnosti současně s tím, jak se ohřívá chladicí lázeň. Po 24 hodinách se směs zahustí a zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (10 % hexany/Et₂O). Titulní sloučenina se získá ve formě bezbarvého oleje (71 mg, 55 %). MS(ES) m/e 420 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(pyridin-2-yl)butanová

K roztoku ethyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(pyridin-2-yl)butanoatu (71 mg, 0,17 mmol) ve směsi THF/H₂O 1:1 (2 ml) se přidá 1,0 N LiOH (0,34 ml, 0,34 mmol). Po 18 hodinách se směs okyselí na pH 6 pomocí 10 % HCl a směs se extrahuje CHCl₃ (3 x 10 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO₄, zfiltrují se a zahustí se. Zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (10 % MeOH/CHCl₃) a získá se tak titulní sloučenina ve formě nažloutlé pěny. MS(ES) m/e 392 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₃H₂₅N₃O₃·0,75 H₂O: C, 68,21; H, 6,60; N, 10,38. Nalezeno: C, 68,50; H, 6,39; N, 10,24.

Příklad 8

Příprava kyseliny (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(oxazol-2-yl)butanové

a) Methyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(oxazol-2-yl)butanoat

27.11.00

K roztoku methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(oxazol-2-yl)-butanoatu (163 mg, 0,62 mmol), 6-(methylamino)-2-pyridyl-ethanolu (190 mg, 1,24 mmol) a trifenylfosfinu (325 mg, 1,24 mmol) v bezvodém THF (4 ml) se při 0 °C přidá diisopropylazodikarboxylat (0,24 ml, 1,24 mmol). Tato směs se pak nechá ohřát na teplotu místnosti současně s tím, jak se ohřívá chladicí lázeň. Po 24 hodinách se směs zahustí a zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (50 % EtOAc/CHCl₃). Titulní sloučenina se získá ve formě naoranžovělého oleje (167 mg, 68 %). MS(ES) m/e 396 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(oxazol-2-yl)butanová

K roztoku methyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(oxazol-2-yl)butanoatu (167 mg, 0,42 mmol) ve směsi THF/H₂O 1:1 (4 ml) se přidá 1,0 N LiOH (0,63 ml, 0,63 mmol). Po 18 hodinách se směs promyje Et₂O (2 × 2 ml). Vodná vrstva se zahustí k odstranění zbytkových THF/Et₂O a pak se okyselí na pH 6 pomocí 10% HCl. Titulní sloučenina (114 mg, 71 %) se odfiltruje ve formě bílého pevného produktu, a suší se ve vakuu 18 hodin při 50 °C. MS(ES) m/e 382 (M+H)⁺.
Analýza: vypočteno pro C₂₁H₂₃N₃O₄·0,50 H₂O: C, 64,60; H, 6,20; N, 10,76. Nalezeno: C, 64,33; H, 6,12; N, 10,38.

Příklad 9

Příprava kyseliny (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanové

a) Ethyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanoat

K roztoku ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)-

butanoatu (155 mg, 0,53 mmol), 6-(methylamino)-2-pyridyl-ethanolu (163 mg, 1,06 mmol) a trifenylfosfinu (278 mg, 1,06 mmol) v bezvodém THF (5 ml) se při 0 °C přidá diisopropylazodikarboxylát (0,21 ml, 1,06 mmol). Tato směs se pak nechá ohřát na teplotu místnosti současně s tím, jak se ohřívá chladicí lázeň. Po 24 hodinách se směs zahustí a zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (50 % EtOAc/CHCl₃). Frakce obsahující produkt se zahustí a znovu se chromatografují na silikagelu (60 % EtOAc/hexany). Frakce z druhé chromatografie obsahující požadovaný produkt se dále přečistí preparativní TLC (60 % EtOAc/hexany). Titulní sloučenina (106 mg, 47 %) se získá ve formě oleje. MS(ES) m/e 426 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanová

K roztoku ethyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanoatu (106 mg, 0,25 mmol) ve směsi THF/H₂O 1:1 (5 ml) se přidá 1,0 N LiOH (0,37 ml, 0,37 mmol). Po 18 hodinách se směs extrahuje Et₂O (2 x 5 ml), a vrstvy Et₂O se odstraní. Vodná vrstva se zahustí k odstranění zbytkových organických rozpouštědel a pak se okyslí na pH 6 pomocí 10% HCl. Ke směsi se k rozpuštění všech pevných podílů přidá CH₃CN (0,5 ml). Roztok se pak přečistí s C-18-fází/eluční chromatografií (H₂O a potom 20 % CH₃CN/H₂O). Frakce obsahující požadovaný produkt se lyofilizují a získá se tak titulní sloučenina (53 mg, 53 %) ve formě bílého prášku. MS(ES) m/e 398 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₁H₂₃N₃O₃S: C, 63,46; H, 5,83; N, 10,57. Nalezeno: C, 63,17; H, 6,00; N, 10,37.

Příklad 10

27.11.00

Příprava kyseliny (±)-3-methyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanové

a) Ethyl-(±)-3-methyl-4-[4-[3--(1-oxopyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoat

K roztoku ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-methylbutanoatu (220 mg, 1,0 mmol), 2-[(3-hydroxy-1-propyl)amino]pyridin-N-oxidu (252 mg, 1,5 mmol) a trifenylfosfinu (390 mg, 1,5 mmol) v bezvodém DMF (22,5 ml) se při 0 °C v atmosféře argonu přidá během 45 sekund diisopropylazodikarboxylat (0,3 ml, 1,5 mmol). Získaný žlutý roztok se udržuje 10 minut při 0 °C a pak se ohřeje na teplotu místnosti. Za 24 hodin se reakční směs zahustí a zbytek se znovu zahustí po přidavku xylenu (2 x). Titulní sloučenina (200 mg, 54 %) se získá ve formě žlutého oleje po chromatografii na silikagelu (1 % MeOH/CH₂Cl₂). MS(ES) m/e 373 (M+H)⁺.

b) Ethyl-(±)-3-methyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoat

Směs ethyl-(±)-3-methyl-4-[4-[3-(1-oxopyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoatu (200 mg, 0,54 mmol), cyklohexenu (0,6 ml, 0,54 mmol), 10% Pd/C (55 mg, 0,05 mmol) a isopropanolu (10 ml) se zahřeje na teplotu zpětného toku v atmosféře argonu. Směs se zahřívá při teplotě zpětného toku dalších 20,5 hodiny a pak se za horka zfiltruje přes CeliteR. Filtrační vrstva se pak promyje horkým MeOH/CHCl₃ 1:1 a filtrát se zahustí. Zbytek se znovu zahustí s přidavkem toluenu a pak se zpracuje chromatografií na silikagelu (1 % MeOH/CH₂Cl₂) s výtěžkem titulní sloučeniny (150 mg, 78 %) ve formě bezbarvého oleje. MS(ES) m/e 357 (M+H)⁺.

27.11.00

c) Kyselina ($\pm$)-3-methyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanová

Směs ethyl-($\pm$)-3-methyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoatu (150 mg, 0,42 mmol), 1,0 N LiOH (1,2 ml, 1,2 mmol), THF (4 ml) a H₂O (2,8 ml) se míchá 4 hodiny při teplotě místnosti a potom se zahřívá na olejové lázni o teplotě 45–50 °C. Za 17,5 hodiny se získaný homogenní, téměř bezbarvý roztok ochladí na teplotu místnosti a extrahuje se Et₂O (2 × 8 ml). Vrstvy Et₂O se pak odstraní. Vodná vrstva se pak míchá za mírného ohřevu ve vakuu aby se odstranily zbytková organická rozpouštědla, a potom se zfiltruje. Získaný vodný roztok se pak míchá při teplotě místnosti, přičemž se hodnota pH pomalu a opatrně upraví na 5,5–6,0 pomocí 1,0 N HCl. Získaná směs se pak míchá hodiny, pevné podíly se oddělí filtrací s pomocí odsávání a promyje se dostatečným množstvím H₂O. Titulní sloučenina se získá vysušením ve vysokém vakuu při 60 °C (90 mg, 65 %) ve formě sklovité pevné hmoty. MS(ES m/e 328 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₁₉H₂₄N₂O₃·0,25 H₂O: C, 68,54; H, 7,13; N, 8,35. Nalezeno: C, 68,55; H, 7,42; N, 8,41.

Příklad 11

Příprava kyseliny ($\pm$)-3-methyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)-pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Ethyl-($\pm$)-3-methyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat

K roztoku ethyl-($\pm$)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-methylbutanoatu (378 mg, 2,25 mmol), 6-(methylamino)-2-pyridyl-ethanolu (343 mg, 2,25 mmol) a trifenylofosfinu (590 mg, 2,25 mmol) v bezvodém THF (22,5 ml) se při 0 °C, v atmosféře

27.11.00

argonu a během 2 minut přidá diisopropylazodikarboxylat (0,44 ml, 2,25 mmol). Získaný žlutý roztok se udržuje 10 minut při 0 °C a pak se ohřeje na teplotu místnosti. Po 24 hodinách se reakční směs zahustí a zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (EtOAc/hexany, 6:4). Titulní sloučenina (200 mg, 76 %) se získá ve formě bezbarvého oleje. MS(ES) m/e 357 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-3-methyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová

K chladnému roztoku (15 °C ethyl-(±)-3-methyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu (160 mg, 0,449 mmol) v THF (3 ml) v THF (3 ml) se přidá po kapkách 1,0 N NaOH (1 ml, 0,898 mmol) a směs se míchá 24 hodin při teplotě místnosti. Získaný roztok se pak zahustí ve vakuu a zbytek se rozpustí v H₂O (5 ml). Hodnota pH se upraví na 7 pomocí 1,0 N HCl a od gumovité sraženiny se oddělí dekantací supernatant. Titulní sloučenina se získá důkladným sušením sraženiny po několik dnů při 60 °C ve formě bílé pevné hmoty (120 mg, 82 %). MS(ES) m/e 328 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₁₉H₂₄N₂O₃: C, 69,49; H, 7,37; N, 8,53. Načteno: C, 69,03; H, 7,27; N, 8,40.

Příklad 12

Příprava kyseliny (±)-3-methyl-4-[4-[2-[2-(methylamino)-pyridin-5-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Ethyl-(±)-3-methyl-4-[4-[2-[2-(methylamino)pyridin-5-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat

K roztoku ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-methylbutanoatu (133 mg, 0,6 mmol), 2-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]-5-pyridylethanolu (230 mg, 0,913 mmol) a trifenyfosfinu

27.11.00

(239 mg, 0,913 mmol) v bezvodém THF (5 ml) se při 0 °C v atmosféře N₂ přidá během 2 minut diisopropylazodikarboxylat (0,18 ml, 0,913 mmol). Získaný žlutý roztok se udržuje 10 minut při 0 °C a pak se ohřeje na teplotu místnosti. Za 24 hodin se reakční směs zahustí a zbytek se zpracuje chromatografií na silikagelu (1 % MeOH/CH₂Cl₂). Titulní sloučenina (200 mg, 73 %) se získá ve formě bezbarvého oleje. MS(ES) m/e 456 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-3-methyl-4-[4-[2-(methylamino)pyridin-5-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová

Ethyl-(±)-3-methyl-4-[4-[2-[2-(methylamino)pyridin-5-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat (200 mg, 0,44 mmol) se suspenduje v 1,0 M HCl/dioxan (5 ml). Po 2 hodinách se reakční směs zahustí ve vakuu a zbytek se znovu zahustí s přidavkem toluenu (3 x 10 ml). Získaný zbytek se vyjme do 5% roztoku Na₂CO₃ a extrahuje se CH₂Cl₂. Extrakty se vysuší MgSO₄, zfiltrují se a zahuštěním se získá olej (50 mg). Olej se vyjme do THF (3 ml), přidá se 1,0 N LiOH (0,28 ml, 0,28 mmol) a směs se míchá 24 hodin při teplotě místnosti. Získaný roztok se zahustí ve vakuu a zbytek se rozpustí v H₂O (5 ml). Hodnota pH se upraví na 7 pomocí 1,0 N HCl a supernatant se oddělí od gumovité sraženiny dekantací. Intenzivním sušením ve vakuu při 60 °C po několik dní se ve formě bílé tuhé pěny získá titulní sloučenina (5 mg). MS(ES) m/e 328 (M+H)⁺.

Příklad 13

Příprava kyseliny (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiofen-2-yl)butanové

a) Methyl-(±)-4-[4-[2-[6-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiofen-2-yl)-

27.11.00

butanoat

Roztok methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiofen-2-yl)-butanoatu (245,1 mg, 0,89 mmol) a PPh₃ (237,6 mg, 0,91 mmol) v CH₂Cl₂ se pomalu přidá k roztoku 6-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]-2-pyridylethanolu (244,1 mg, 0,97 mmol) a DEAD (0,14 ml, 0,89 mmol) v CH₂Cl₂ při teplotě 0 °C. Pak se reakční směs ohřeje na teplotu místnosti současně s tím, jak se ohřívá chladicí lázeň. Po 24 hodinách se reakční směs zahustí ve vakuu a chromatografií na silikagelu (gradientová eluce: 10 % EtOAc/hexany, potom 20 % EtOAc/hexany) se získá titulní sloučenina (122,1 mg, 26,9 %). MS(ES) m/e 510,9 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiofen-2-yl)butanová

Methyl-(±)-4-[4-[2-[6-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiofen-2-yl)butanoat (122,1 mg, 0,24 mmol) se míchá 2,5 hodiny při teplotě místnosti s 4 N HCl/dioxan, potom se reakční směs zahustí a zbytek se znovu zahustí s přidavkem toluenu (2 x). Protože uvedeným způsobem nedojde k úplnému odstranění skupiny Boc, zbytek se znovu zpracuje za uvedených podmínek reakce. Po 1,5 hodině se reakční směs zahustí a zbytek se znovu zahustí po přidavku toluenu. Získaný zbytek se rozpustí v dioxanu (3 ml) a v THF (3 ml) a přidá se 1,0 N NaOH (2 ml, 2,0 mmol). Reakční směs se míchá 24 hodin při teplotě místnosti a pak se zahustí. Protože reakční směs stále ještě obsahuje ester, zbytek se znovu zpracuje za stejných reakčních podmínek. Po dalších 20 hodinách při teplotě místnosti se reakční směs zneutralizuje 1,0 N HCl a zahustí se. Protože stále ještě je ve směsi obsažen ester, zbytek se ještě jednou zpracuje s použitím výše uvedené reakce, tentokrát s ohřevem na 60 °C. Po

27.11.00

18 hodinách se reakční směs zneutralizuje 1,0 N HCl a zahustí se ve vakuu. Pevný zbytek se znovu zahustí s přídavkem toluenu (2 x) a pak se vyjme do 0,1% TFA/H₂O. Bílá sraženina se oddělí a promyje se dalším podílem 0,1% TFA/H₂O. Vysušením ve vakuu se získá ve formě bílého prášku titulní sloučenina (92,5 mg, 83 %). MS(ES) m/e 397,1 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₂H₂₄N₂O₃S.0,5 TFA.0,5 H₂O: C, 59,73; H, 5,56; N, 6,06. Nalezeno: C, 59,62; H, 5,40; N, 6,14.

Příklad 14

Příprava kyseliny 2-[N-benzyl-N-[4-[2-[6-(methylamino)-pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]amino]octové

a) Ethyl-2-[N-benzyl-N-[4-[2-[6-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]amino]acetát

Roztok 6-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]-2-pyridylethanolu (0,17 g, 0,69 mmol) a diethylazodikarboxylátu (0,11 ml, 0,70 mmol) v CH₂Cl₂ (1,5 ml) se přidá po kapkách při 0 °C k roztoku ethyl-2-[N-benzyl-N-(4-hydroxybenzyl)amino]-acetátu (0,14 g, 0,46 mmol) a Ph₃P (0,18 g, 0,69 mmol) v CH₂Cl₂ (1,5 ml). Pak se ledová lázeň odstraní a reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti. Po 24 hodinách se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku. Titulní sloučenina (0,14 g) se získá ve formě čirého oleje radiální chromatografií (20 % EtOAc/hexan, silikagel, deska 6 mm). MS(ES) m/e 534,1 (M+H)⁺.

b) Kyselina 2-[N-benzyl-N-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]amino]octová

Ethyl-2-[N-benzyl-N-[4-[2-[6-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]amino]acetát (0,14

27.11.00

g, 0,27 mmol) se rozpustí v 4 N HCl/dioxanu (5 ml). Reakční směs se míchá 5,5 hodiny při teplotě místnosti a pak se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku. Zbytek se suspenduje v 1,0 N NaOH (2 ml) a MeOH (2 ml). Reakční směs se pak míchá 18 hodin při teplotě místnosti a potom se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku. Zbytek se rozpustí v H₂O a roztok se pomocí 1,0 HCl okyselí na pH = 5. Pak se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku. Titulní sloučenina (0,40 g) se získá ve formě bílého prášku přečištěním preparativní HPLC (kolona Hamilton PRP-1, 20 % CH₃CN/H₂O s obsahem 0,1 % TFA). MS(ES) m/e 406,0 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₄H₂₇N₃O₃.2,5 TFA.1,5 H₂O: C, 48,54; H, 4,56; N, 5,86. Načteno: C, 48,69; H, 4,24; N, 5,78.

Příklad 15

Příprava kyseliny 2-[N-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]-N-fenyl]amino]octové

a) Methyl-2-[N-[4-[2-[6-[N'-(terc.butoxykarbonyl)-N'-methylamino]pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]-N-fenyl]amino]-acetát

Titulní sloučenina se připraví způsobem popsaným v příkladu 14(a) s tím rozdílem, že místo ethyl-2-[N-benzyl-N-(4-hydroxybenzyl)amino]acetátu se použije methyl-2-[N-(4-hydroxybenzyl)-N-fenylamino]acetát (39 mg, 0,14 mmol) a získá se po radiální chromatografii (20 % EtOAc/hexan, silikagel, deska 2 mm) ve formě čirého filmu (8 mg). MS(ES) m/e 506,0 (M+H)⁺.

b) Kyselina 2-[N-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]-N-fenyl]amino]octová

27.11.00

K methyl-2-[N-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]-N-fenyl]amino]acetatu (8 mg, 0,16 mmol) se přidá roztok 4 N HCl v dioxanu (5 ml). Reakční směs se míchá 5,5 hodiny při teplotě místnosti a odstraněním rozpouštědla za sníženého tlaku se získá čirý film. Ten se rozpustí v 1,0 N NaOH (2 ml) a MeOH (2 ml). Reakční směs se pak míchá 18 hodin při teplotě místnosti a pak se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku. Titulní sloučenina (1,5 mg se získá ve formě hygroskopického tmavého pevného produktu rychlou chromatografií na koloně C-18 Bond Elut^R (stupňová gradientová eluce: H₂O s obsahem 0,1 % TFA, potom 20 % CH₃CN/H₂O s obsahem 0,1 % TFA a pak 50 % CH₃CN/H₂O s obsahem 0,1 % TFA). MS(ES) m/e 392,0 (M+H)⁺.

Příklad 16

Příprava kyseliny 2-[N-[2-methoxy-4-[2-[6-(methylamino)-pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]amino]octové

a) Kyselina methyl-2-[N-[2-methoxy-4-[2-[6-[N'-(terc.-butoxykarbonyl)-N'-methylamino]pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]-amino]octové

Titulní sloučenina se připraví způsobem popsaným v příkladu 14(a) s tím rozdílem, že místo ethyl-2-[N-benzyl-N-(4-hydroxybenzyl)amino]acetatu se použije methyl-2-[(4-hydroxy-2-methoxybenzyl)amino]acetat (0,48 g, 2,14 mmol) a titulní sloučenina (0,14 g) se získá rychlou chromatografií na silikagelu (40 % EtOAc/hexan) a následnou radiální chromatografií (5 % MeOH/CHCl₃, silikagel, deska 6 mm). MS(ES) m/e 506,0 (M+H)⁺.

b) Methyl-2-[N-[2-methoxy-4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]amino]acetat

Ke kyselině methyl-2-[N-[2-methoxy-4-[2-[6-[N'-(terc.-butoxykarbonyl)-N'-methylamino]pyridin-2-yl]-1-ethoxy]amino]-octové (0,14 g, 0,30 mmol) se přidá roztok 4 N HCl v dioxanu (15 ml). Reakční směs se míchá 2 hodiny při teplotě místnosti a potom se odpařením rozpouštědla za sníženého tlaku získá čirý zbytek. Zbytek se rozpustí v nasyceném NaHCO₃ a roztok se extrahuje 10 % MeOH/EtOAc. Spojené organické extrakty se promyjí solným roztokem, vysuší se Na₂SO₄ a zahuštěním se získá světležlutý olej. Titulní sloučenina (0,11 g) se získá ve formě čirého oleje rychlou chromatografií na silikagelu (5 % MeOH/CHCl₃). MS(ES) m/e 350,4 (M+H)⁺.

c) Kyselina 2-[N-[2-methoxy-4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]amino]octová

K roztoku methyl-2-[N-[2-methoxy-4-[2-[6-(methylamino)-pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]amino]acetátu (0,11 g, 0,30 mmol) v MeOH (3 ml) se přidá 1,0 N NaOH (3 ml). Reakční směs se míchá 15 minut při teplotě místnosti a pak se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku. Zbytek se rozpustí v H₂O a okyselí se koncentrovanou HCl na pH = 3. Odstraněním rozpouštědla se získá bílý zbytek. Titulní sloučenina (0,11 g) se získá ve formě velmi hygroskopického bílého pevného produktu rychlou chromatografií na koloně Waters Sep-Pak^R C-18 (stupňový gradient: H₂O, potom 15 % CH₃CN/H₂O). MS(ES) m/e 346,4 (M+H)⁺. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 7,70 (m, 1H), 7,40 (d, J=8,3 Hz, 1H), 6,80-6,55 (m, 4H), 4,35 (m, 2H), 4,05 (s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,67 (s, 2H), 3,15 (m, 2H), 2,95 (s, 3H).

Příklad 17

Příprava kyseliny 2-fenoxy-4-[5-(pyridin-2-yl)amino-1-pentyloxy]fenyloctové

a) Methyl-2-fenoxy-4-[5-(1-oxopyridin-2-yl)amino-1-pentyloxy]fenylacetat

Titulní sloučenina se připraví způsobem popsáním v příkladu 14(a) s tím rozdílem, že místo ethyl-2-[N-benzyl-N-(4-hydroxybenzyl)amino]acetatu se použije methyl-2-(4-hydroxy-2-fenoxyfenyl)acetat (0,19 g, 0,74 mmol) a titulní sloučenina (0,35 g) se získá ve formě světležlutého oleje po radiální chromatografii (50 % EtOAc/hexan, sílikagel, deska 6 mm). MS(ES) m/e 506,0 (M+H)⁺.

b) Methyl-2-fenoxy-4-[5-pyridin-2-yl)amino-1-pentyloxy]-fenylacetat

K roztoku methyl-2-fenoxy-4-[5-(1-oxopyridin-2-yl)amino-1-pentyloxy]fenylacetatu (0,35 g, 0,81 mmol) a cyklohexenu (0,81 ml, 8,00 mmol) v EtOH (4 ml) se přidá 10% Pd/C (10 mg). Po 18 hodinách zahřívání při teplotě zpětného toku se reakční směs nechá vychladnout na teplotu místnosti a katalyzátor se odstraní filtrací. Pak se za sníženého tlaku odstraní rozpouštědlo a získá se čirý olej. Titulní sloučenina (0,23 g) se získá ve formě čirého oleje radiální chromatografií (5 % a ž 10 % MeOH/CHCl₃, sílikagel, deska 6 mm). MS(ES m/e 421,1 (M+H)⁺.

c) Kyselina 2-fenoxy-4-[5-(pyridin-2-yl)amino-1-pentyloxy]fenyloctová

K roztoku methyl-2-fenoxy-4-[5-pyridin-2-yl)amino-1-pentyloxy]fenylacetatu (0,23 g, 0,55 mmol) v MeOH (2,5 ml) se přidá 1,0 N NaOH (2,5 ml). Reakční směs se nechá 18 hodin při teplotě místnosti a potom se rozpouštědlo odstraní za

sníženého tlaku. Zbytek se rozpustí v H₂O a roztok se okyselí koncentrovanou HCl na pH = 4. Vodná vrstva se extrahuje EtOAc a spojené organické extrakty se vysuší Na₂SO₄. Rozpouštědlo se odstraní a získá se tak světležlutý olej. Titulní sloučenina (81 mg) se získá rychlou chromatografií na silikagelu (10 % MeOH/CHCl₃). MS(ES) m/e 407,0 (M+H)⁺. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,78 (d, J=4,1 Hz, 1H), 7,50 (dt, J=8,7, 1,6 Hz, 1H), 7,20 (m, 3H), 6,95 (m, 3H), 6,50 (m, 4H), 3,77 (t, J=6,4 Hz, 2H), 3,59 (s, 2H), 3,13 (t, J=6,6 Hz, 2H), 1,80–1,50 (m, 6H).

Příklad 18

Příprava kyseliny 4-[4-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]-2-fenoxyfenyl]butanové

a) Methyl-4-[4-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]-2-fenoxyfenyl]butanoat

Roztok 2-[(6-methylamino)-2-pyridinyl]ethanolu (0,07 g, 0,43 mmol) a diethylazodikarboxylátu (0,07 ml, 0,44 mmol) v CH₂Cl₂ (3 ml) se přidá po kapkách při 0 °C k roztoku Ph₃P (0,11 g, 0,43 mmol) a kyseliny 2-fenoxy-4-[5-(pyridin-2-yl)-amino-1-pentyloxy]fenyloctové (0,08 g, 0,29 mmol) v CH₂Cl₂ (3 ml). Pak se odstraní chladicí lázeň a reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti. Po 18 hodinách se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku a přečištěním zbytku radiální chromatografií (30 % až 50 % EtOAc/hexany, silikagel, deska 6 mm) se získá ve formě oleje titulní sloučenina (0,14 g). MS(ES) m/e 420,9 (M+H)⁺.

b) Kyselina 4-[4-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]-2-fenoxyfenyl]butanová

Roztok methyl-4-[4-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-

-ethoxy]2-fenoxyfenyl]butanoatu (0,1 g, 0,34 mmol) a 0,1 N NaOH (2 ml) v MeOH (2 ml) a THF (v množství dostatečném pro tvorbu homogenního roztoku) se míchá při teplotě místnosti. Po 18 hodinách se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku. Zbytek se suspenduje v H₂O a směs se okyselí na pH = 3 koncentrovanou HCl. Vodná fáze se extrahuje EtOAc a spojené extrakty se vysuší Na₂SO₄. Pak se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku a získá se zbytek ve formě bílé pěny. Titulní sloučenina (0,07 g) se získá ve formě bílé pěny rychlou chromatografií na silikagelu (EtOAc až 10 % MeOH/EtOAc). MS(ES) m/e 406,9 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₄H₂₆N₂O₄·0,75 H₂O: C, 68,64; H, 6,60; N, 6,67. Nalezeno: C, 68,33; H, 6,09; N, 6,54.

Příklad 19

Příprava kyseliny (R)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanové

a) Ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-[3-(1-oxopyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoat

K roztoku ethyl-(R)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoatu (0,39 g, 1,4 mmol), 2-[(3-hydroxy-1-propyl)amino]pyridin-N-oxidu (0,35 g, 1,5 mmol) a trifenylfosfinu (0,54 g, 2 mmol) v bezvodém DMF (20 ml) se při 0 °C v atmosféře argonu přidá během 45 sekund diisopropylazodikarboxylat (0,40 ml, 2 mmol). Získaný žlutý roztok se udržuje 10 minut při 0 °C a pak se ohřeje na teplotu místnosti. Za 23 hodin se reakční směs zahustí. Titulní sloučenina (0,30 g, 51 %) se získá ve formě žlutého oleje po chromatografii na silikagelu (gradientová eluce 1 % - 4 % MeOH/CHCl₃). MS(ES) m/e 434,9 (M+H)⁺.

b) Ethyl-(R)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-

-propyloxy]fenyl]butanoat

Směs ethyl-(R)-3-fenyl-4-[4-[3-(1-oxopyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoatu (0,30 g, 0,69 mmol), cyklohexenu (1 ml, 10 mmol), 10% Pd/C (93 mg, 0,09 mol) a isopropanolu (5 ml) se zahřívá v atmosféře argonu při teplotě zpětného toku. Po 3 hodinách se přidá další podíl Pd/C (110 mg). Směs se zahřívá při teplotě zpětného toku dalších 20,5 hodiny a pak se zahorka zfiltruje přes Celite^R. Filtrační vrstva se promyje horkým EtOAc, a zahuštěním spojených filtrátů se získá ve formě světležlutého oleje titulní sloučenina (0,25 g, 87 %). MS(ES) m/e 419,1 (M+H)⁺.

c) Kyselina (R)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanová

Směs ethyl-(R)-3-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoatu (0,25 g, 0,6 mmol) a monohydratu hydroxidu lithného (32 mg, 0,76 mmol) v THf (5 ml) a H₂O (3 ml) se míchá 18 hodin při teplotě místnosti, potom se směs zahustí a zbytek se rozpustí v H₂O. Získaný vodný roztok se míchá při teplotě místnosti, přičemž se pH pomalu a opatrně upraví na hodnotu 5,5-6,0 pomocí 1% N HCl. Tato směs se míchá 0,5 hodiny, pevné podíly se odfiltrují s pomocí odsávání a promyjí se dostatečným množstvím H₂O. Vysušením ve vysokém vakuu při 60 °C se získá ve formě sklovité pevné hmoty titulní sloučenina (100 mg, 43 %). MS(ES) m/e 390,7 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₄H₂₆N₂O₃·0,25 H₂O: C, 73,82; H, 6,71; N, 7,17. Nalezeno: C, 72,98; H, 6,76; N, 7,09.

Příklad 20

Příprava kyseliny (S)-3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat

K roztoku ethyl-(S)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoatu (0,19 g, 0,66 mmol), 6-(methylamino)-2-pyridylethanolu (0,12 g, 0,80 mmol) a trifenylfosfinu (0,20 g, 0,80 mmol) v bezvodém DMF (5 ml) se při 0 °C v atmosféře N₂ přidá během 2 minut diisopropylazodikarboxylat (0,16 ml, 0,80 mmol). Získaný žlutý roztok se udržuje 10 minut při 0 °C a pak se ohřeje na teplotu místnosti. Za 24 hodin se reakční směs zahustí a titulní sloučenina (0,26 g, 93 %) se získá ve formě bezbarvého oleje po chromatografii na silikagelu (gradientová eluce 10 % - 30 % EtOAc/hexany). MS(ES) m/e 419,0 (M+H)⁺.

b) Kyselina (S)-3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová

K roztoku ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)-pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu (0,25 g, 0,62 mmol) v THF (5 ml) se přidá monohydrat hydroxidu lithného (29 mg, 0,69 mmol) v H₂O (2 ml). Získaná směs se míchá 18 hodin při teplotě místnosti a pak se zahustí. Zbytek se rozpustí v H₂O a a pH se upraví pomocí 1,0 N HCl na 5,5-6,0. Od gumovité sraženiny se dekantací oddělí vodný roztok, sraženina se suší několik dní ve vakuu při 60 °C a ve formě bílého pevného produktu se tak získá titulní sloučenina (0,10g, 41 %). MS(ES) m/e 391,0 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₄H₂₆N₂O₃: C, 73,82; H, 6,71; N, 7,17. Nalezeno: C, 73,62; H, 6,80; N, 6,98.

Příklad 21

Příprava kyseliny (S)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanové

27.11.00

a) Ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[3-(1-oxopyridin-2-yl)Boc-amino-1-propyloxy]fenyl]butanoat

K roztoku ethyl-(S)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoatu (0,60 g, 2 mmol) v bezvodém DMSO (6 ml) se při 23 °C a v atmosféře argonu přidá hydrid sodný (80% v minerálním oleji, 66 mg, 2,2 mmol). Jakmile se směs zhomogenizuje, přidá se 2-[N-(3-methansulfonyloxy-1-propyl)-N-(terc.butoxykarbonyl)-amino]pyridin-N-oxid (0,35 g, 2 mmol). Získaný roztok se míchá 5 dní při teplotě místnosti a pak se rozdělí mezi EtOAc a H₂O. Potom se organická fáze rozdělí promyje dvakrát H₂O a jednou solným rpztpkem, vysuší se (MgSO₄) a zahustí se. Titulní sloučenina (0,30 g, výtěžnost 55 % vzhled k výchozí složce) se získá ve formě žlutého oleje po chromatografii na silikagelu (gradientová eluce: 0,5 % a 4 = MeOH/CHCl₃). MS(ES) m/e 535,0 (M+H)⁺. Získá se rovněž nezreagovaný ethyl-(S)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoat.

b) Ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[3-(1-oxopyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoat

Roztok ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[3-(1-oxopyridin-2-yl)Boc-amino-1-propyloxy]fenyl]butanoatu (0,30 g, 0,56 mmol), CH₂Cl₂ (5 ml) a TFA (5 ml) se míchá 1 hodinu při 0 °C a pak se směs nechá ohřát na teplotu místnosti. Za další 2 hodiny se roztok zahustí a získá se tak titulní sloučenina (0,15 g) ve formě světležlutého oleje. MS(ES) m/e 435,2 (M+H)⁺.

c) Ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoat

Směs ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[3-(1-oxopyridin-2-yl)amino-

27.11.00

-1-propyloxy]fenyl]butanoatu (0,15 g, 0,35 mmol), cyklohexenu (0,5 ml, 5 mmol), 10% Pd/C (80 mg, 0,075 mmol) a isopropanolu (5 ml) se zahřívá v atmosféře argonu při teplotě zpětného toku. Za 20,5 hodiny se směs za horka zfiltruje přes Celite[®]. Filtrační vrstva se promyje horkým EtOAc, spojené filtráty se zahustí a získá se tak ve formě světležlutého oleje titulní sloučenina (0,1 g, 43 %). MS(ES m/e 419,2 (M+H)⁺.

d) Kyselina (S)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanová

Směs ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoatu (0,10 g, 0,24 mmol) a monohydrát hydroxidu lithného (12 mg, 0,29 mmol) v THf (5 ml) a H₂O (2 ml) se míchá 18 hodin při teplotě místnosti a pak se zahustí. Zbytek se rozpustí v H₂O a získaný vodný roztok se míchá při teplotě místnosti přičemž se pH pomalu a opatrně upraví pomocí 1,0 N HCl na 5,5-6,0. Tato směs se míchá 0,5 hodiny a pak se roztok od pevných podílů oddělí dekantací. Vysušením ve vysokém vakuu při 60 °C se ve formě sklovitého pevného produktu získá titulní sloučenina (40 mg, 43 %). MS(ES) m/e 390,7 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₄H₂₆N₂O₃·1,7 HCl: C, 63,72; H, 6,17; N, 6,19. Nalezeno: C, 63,56; H, 6,22; N, 6,10.

Příklad 22

Příprava kyseliny (±)-3-(4-bromfenyl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Ethyl-(±)-3-(4-bromfenyl)-4-[4-[2-[6-[N-(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat

K roztoku ethyl-(±)-3-(4-bromfenyl)-4-(4-hydroxyfenyl)-butanoatu (0,30 g, 0,82 mmol), 6-[N-(terc.butoxykarbonyl)-

27.11.00

-N-methylamino]-2-pyridylethanolu (0,31 g, 1,24 mmol) a trifenylfosfinu (0,32 g, 1,24 mmol) v bezvodém CH₂Cl₂ (10 ml) se při 0 °C v atmosféře argonu pomalu přidá diisopropylazodikarboxylat (0,24 ml, 1,24 mmol). Získaný žlutý roztok se udržuje 10 minut při 0 °C a pak se ohřeje na teplotu místnosti. Po 39 hodinách se reakční směs zahustí a chromatografií zbytku na silikagelu (20 % EtOAc/hexany) se ve formě čirého oleje získá titulní sloučenina (0,32 g, 65 %). TLC R_f (20 % EtOAc/hexany) 0,44; MS(ES) m/e 349,1 (M+Na)⁺, 674,9 (2M+Na)⁺.

b) Ethyl-(±)-3-(4-bromfenyl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)-pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat

Roztok ethyl-(±)-3-(4-bromfenyl)-4-[4-[2-[6-[N-terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu (0,32 g, 0,53 mmol) v 4 N HCl v dioxanu (15 ml) se míchá 1,5 hodiny při teplotě místnosti. Zahuštěním a opětovným zahuštěním z CH₂Cl₂ a hexanů se získá ve formě bílého sirupu titulní sloučenina, která se použije v dalším postupu bez dalšího čištění.

c) Kyselina (±)-3-(4-bromfenyl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)-pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová

K roztoku ethyl-(±)-3-(4-bromfenyl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu (0,26 g, 0,48 mmol) v dioxanu a H₂O (5,0 ml) se po kapkách přidá 1,0 N NaOH (1,44 ml, 1,44 mmol). Získaná směs se míchá 3 hodiny při 50 °C a potom se zahustí. Zbytek se zředí H₂O (5 ml) a roztok se zneutralizuje 1,0 N HCl. Vysrážený pevný produkt se oddělí a vysušením se získá titulní sloučenina (0,20 g, 81 %) ve formě bílé krystalické hmoty. HPLC (Hamilton PRP-1R, gradientová

27.11.00

eluce během 20 minut: 10 % -80 % CH₃CN/H₂ s obsahem 0,1 % TFA)
 K' = 13,28; Analýza: vypočteno pro C₂₄H₂₅N₂O₃Br.1,5 HCl.0,25
 H₂O: C, 54,54; H, 5,15; N, 5,30. Nalezeno: C, 54,49; H, 4,97;
 N, 5,10.

Příklad 23

Příprava kyseliny (±)-3-(4-isopropylfenyl)-4-[4-[2-[6-(methyl-
 amino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Methyl-(±)-3-(4-isopropylfenyl)-4-[4-[2-[6-(methyl-
 amino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat

Titulní sloučenina se připraví způsobem popsáným v
 příkladu 22(a) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-3-(4-brom-
 fenyl)-4-(4-hydroxyfenyl)butanoatu se použije methyl-(±)-4-
 -(4-hydroxyfenyl)-3-(4-isopropylfenyl)butanoat a místo 6-[N-
 -(terc.butoxykarbonyl)-N-methylamino]-2-pyridylethanolu se
 použije 6-(methylamino)-2-pyridylethanol, a získá se po
 zpracování chromatografií na silikagelu (30 % EtOAc/hexany).
 MS(ES) m/e 447,0 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-3-(4-isopropylfenyl)-4-[4-[2-[6-methyl-
 amino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová

Titulní sloučenina se připraví způsobem popsáným
 v příkladu 22(c) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-3-(4-
 -bromfenyl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]-
 fenyl]butanoatu použije methyl-(±)-3-(4-isopropylfenyl)-4-[4-
 -[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat.
 HPLC (Hamilton PRP-1R, gradientová eluce během 20 minut: 10 %
 -80 % CH₃CN/H₂O s obsahem 0,1 % TFA) K' = 14,19; MS(ES) m/e
 435,5 (M+H)⁺.

27.1.00

Příklad 24

Příprava kyseliny ($\pm$)-3-(4-isopropylfenyl)-4-[4-[3-(4-methylpyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanové

a) Methyl-($\pm$)-3-(4-isopropylfenyl)-4-[4-[3-(4-methyl-1-oxopyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoat

K roztoku 2-[(3-brom-1-propyl)amino]pyridin-N-oxidu (0,37 g, 1,13 mmol) a methyl-($\pm$)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(4-isopropylfenyl)butanoatu (0,32 g, 1,02 mmol) v bezvodém CH₃CN (15 ml) se přidá NaOH (0,14 g, 3,37 mmol). Reakční směs se míchá 20 hodin při teplotě místnosti v atmosféře argonu, potom se zfiltruje a zahustí se na rotační vakuvé odparce. Titulní sloučenina (0,31 g, 64 %) se získá ve formě čirého oleje chromatografií na silikagelu (5 % MeOH/CH₂Cl₂). MS(ES) m/e 477,1 (M+H)⁺.

b) Methyl-($\pm$)-3-(4-isopropylfenyl)-4-[4-[3-(4-methylpyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoat

Směs methyl-($\pm$)-3-(4-isopropylfenyl)-4-[4-[3-(4-methyl-1-oxopyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoat (0,31 g, 0,65 mmol), 10% Pd/C (0,31 g, 0,29 mmol), cyklohexen (0,66 ml, 6,51 mmol), a isopropanol (15 ml) se zahřívá 16 hodin při teplotě zpětného toku a pak se katalyzátor odfiltruje přes CeliteR. Titulní sloučenina (0,25 g, 83 %) se získá ve formě světležlutého oleje zahuštěním a chromatografií na silikagelu (5 % MeOH/CH₂Cl₂). MS(ES) m/e 460,9 (M+H)⁺.

c) Kyselina ($\pm$)-3-(4-isopropylfenyl)-4-[4-[3-(4-methylpyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanová

Titulní sloučenina se připraví způsobem podle příkladu

27.11.00

22(c) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-3-(4-bromfenyl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu se použije methyl-(±)-3-(4-isopropylfenyl)-4-[4-[3-(4-methylpyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoat. HPLC (Hamilton PRP-1^R, gradientová eluce během 20 minut: 10 %-80 % CH₃CN/H₂O s obsahem 0,1 % TFA) K' = 14,57; MS(ES) m/e 447,5 (M+H)⁺.

Příklad 25

Příprava kyseliny 4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]but-3-enové

a) Methyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]krotonat

Titulní sloučenina (0,46 g, 2,39 mmol) se připraví způsobem podle příkladu 5(a) s tím rozdílem, že místo methyl-4-(4-hydroxyfenyl)butanoatu se použije methyl-4-(4-hydroxyfenyl)krotonat. MS(ES m/e 327 (M+H)⁺.

b) Kyselina 4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]but-3-enová

K roztoku methyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]krotonatu (0,3 g, 0,92 mmol) v MeOH (5 ml) se přidá 1,0 N NaOH (1,8 ml, 1,8 mmol). Reakční směs se míchá přes noc a pak se zahustí ve vakuu. Titulní sloučenina (0,09 g, 31 %) se získá ve formě žluté pevné hmoty rychlou chromatografií na silikagelu (gradientová eluce: CH₂Cl₂, potom 1 % MeOH/CH₂Cl₂ a potom 1 % MeOH/CH₂Cl₂ s obsahem 0,5 % HCO₂H). MS(ES) m/e 313 (M+H)⁺; ¹H NMR (360 MHz, DMSO-d₆) δ 7,85 (app t, 1H), 7,33 (d, J=8,7 Hz, 2H), 6,84-6,96 (m, 4H), 6,81 (d, J=7,2 Hz, 1H), 6,40 (d, J=16,0 Hz, 1H), 6,08-6,18 (m, 1H), 4,22-4,35 (m, 2H), 3,09-3,29 (m, 4H), 2,96 (s, 3H).

27.11.00

Analýza: vypočteno pro $C_{18}H_{20}N_2O_3 \cdot 1,0 HCO_2H$: C, 63,68; H, 6,19; N, 7,82. Nalezeno: C, 63,84; H, 6,42; N, 7,98.

Příklad 27

Příprava kyseliny (S)-3-fenyl-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl)-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl)-1-ethoxy]fenyl]butanoat

K roztoku ethyl-(S)-3-fenyl-4-(hydroxyfenyl)butanoatu (178 mg, 0,63 mmol), 2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl)ethanolu (223 mg, 1,25 mmol) a trifenylofosfinu (328 mg, 1,25 mmol) v bezvodém THF (5 ml) se při 0 °C přidá diisopropylazodikarboxylat (0,25 ml, 1,25 mmol). Směs se pak nechá ohřát na teplotu místnosti současně s ohřevem chladicí lázně. Po 18 hodinách se reakční směs zahustí a zpracováním zbytku chromatografií na silikagelu (Et_2O /hexany, 4,5:1) se ve formě čirého oleje získá titulní sloučenina (197 mg, 71 %). MS(ES) m/e 445 (M+H)⁺.

b) Kyselina (S)-3-fenyl-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl)-1-ethoxy]fenyl]butanová

K roztoku ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl)-1-ethoxy]fenyl]butanoatu (197 mg, 0,44 mmol) v THF/H_2O 1:1 (2 ml) se přidá 1 N LiOH (0,66 ml, 0,66 mmol). Za 18 hodin se směs zahřeje na 50 °C. Po 18 hodinách se směs ochladí na teplotu místnosti a promyje se Et_2O (2 x 5 ml). Vodná vrstva se zahustí aby se odstranily zbytkové THF/Et_2O a pak se směs okyselí na pH 6 s použitím 10% HCl. Tuhý podíl se oddělí filtrací a zahuštěním ve vakuu při 50 °C se získá ve formě bílého prášku titulní sloučenina (136 mg, 74

27.11.00

%). MS(ES) m/e 417 (M+H)⁺. Analýza: Vypočteno pro C₂₆H₂₈N₂O₃.0,5 H₂O: C, 73,39; H, 6,87; N, 6,58. Nalezeno: C, 73,14; H, 6,64; N, 6,26.

Příklad 28

Příprava kyseliny (±)-3-[1-(dimethylaminosulfonyl)imidazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-butanové

a) Ethyl-(±)-3-[1-(dimethylaminosulfonyl)imidazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-butanoat

Titulní sloučenina (411 mg, 70 %) se připraví ve formě světleoranžového oleje způsobem podle příkladu 9(a) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)butanoatu se použije ethyl-(±)-3-[1-(dimethylaminosulfonyl)imidazol-2-yl]-4-(4-(hydroxyfenyl)butanoat (436 mg, 1,14 mmol). MS(ES) m/e 516 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-3-[1-(dimethylaminosulfonyl)imidazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-butanová

Titulní sloučenina (70 mg, 37 %) se připraví ve formě bílého pevného produktu způsobem podle příkladu 9(b) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanoatu se použije ethyl-(±)-3-[1-(dimethylaminosulfonyl)imidazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-butanoat (200 mg, 0,39 mmol). MS(ES) m/e 488 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₃H₂₉N₅O₅S.0,5 H₂O.HCl: C, 51,83; H, 5,86; N, 13,14. Nalezeno: C, 51,88; H, 5,69; N, 12,75.

27.11.00

Příklad 29

Příprava kyseliny (±)-3-(imidazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Kyselina (±)-3-(imidazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová

Ethyl-(±)-3-[1-(dimethylaminosulfonyl)imidazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-butanoat (200 mg, 0,39 mmol) se rozpustí v 2,0 M HCl (10 ml) a získaný roztok se zahřeje na teplotu zpětného toku. za 6 hodin se směs ochladí na teplotu místnosti a pH se upraví na 6 s použitím 1,0 N NaOH. Vzniklý roztok se zahustí na asi 2 ml a zpracuje se chromatografií na s C-18 navázaným/eluční koloně (H₂O a potom 20 % CH₃CN/H₂O). Frakce obsahující požadovaný produkt se spojí a lyofilizací se ve formě bílého prášku získá titulní sloučenina (80 mg, 54 %). MS(ES) m/e 381 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₁H₂₄N₄O₃·0,85 HCl: C, 61,31; H, 6,09; N, 13,62. Nalezeno: C, 61,26; H, 6,09; N, 13,62.

Příklad 30

Příprava kyseliny (S)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanové

a) Ethyl-(S)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanoat

Titulní sloučenina se připraví způsobem podle příkladu 9(a) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)butanoatu se použije ethyl-(S)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)butanoat (200 mg, 0,69 mmol), kde titulní sloučenina (262 mg, 89 %) se získá ve formě světla

27.11.00

oranžového oleje po chromatografii na silikagelu (35 % THF ve směsi toluen/hexany 1:1). MS(ES) m/e 426 (M+H)⁺.

b) Kyselina (S)-4-[4-[2-[6-methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanová

Titulní sloučenina (112 mg, 45 %) se připraví ve formě bílého pevného produktu způsobem podle příkladu 9(b) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanoatu se použije ethyl-(S)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanoat (262 mg, 0,62 mmol). MS(ES) m/e 398 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₁H₂₃N₃O₃.0,75 H₂O: C, 61,37; H, 6,01; N, 10,22. Načteno: C, 61,51; H, 5,89; N, 10,18.

Příklad 31

Příprava kyseliny (R)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanové

a) Ethyl-(R)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanoat

Titulní sloučenina se připraví způsobem podle příkladu 9(a) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)butanoatu se použije ethyl-(R)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)butanoat (200 mg, 0,69 mmol), kde titulní sloučenina (265 mg, 90 %) se získá ve formě světle-oranžového oleje po chromatografii na silikagelu (35 % THF ve směsi toluen/hexany 1:1). MS(ES) m/e 426 (M+H)⁺.

b) Kyselina (R)-4-[4-[2-[6-methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanová

27.11.00

Titulní sloučenina (98 mg, 40 %) se připraví ve formě bílého pevného produktu způsobem podle příkladu 9(b) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanoatu se použije ethyl-(R)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanoat (262 mg, 0,62 mmol). MS(ES) m/e 398 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₁H₂₃N₃O₃·0,5 H₂O: C, 62,05; H, 5,95; N, 10,34. Nalezeno: C, 62,25; H, 5,80; N, 10,37.

Příklad 32

Příprava kyseliny (±)-3-(benzothiazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Ethyl-(±)-3-(benzothiazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat

Titulní sloučenina se připraví způsobem podle příkladu 9(a) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)butanoatu se použije ethyl-(±)-3-(benzothiazol-2-yl)-4-(4-hydroxyfenyl)butanoat, přičemž titulní sloučenina (220 mg, 78 %) se získá po chromatografii na silikagelu (60 % EtOAc/hexany) ve formě čirého oleje. MS(ES) m/e 476 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-3-(benzothiazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová

Titulní sloučenina (125 mg, 61 %) se připraví ve formě bílého pevného produktu způsobem podle příkladu 9(b) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanoatu se použije ethyl-(±)-3-(benzothiazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methyl-

27.11.00

amino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat (220 mg, 0,46 mmol). MS(ES) m/e 448 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₅H₂₅N₃O₃S.0,75 H₂O: C, 65,13; H, 5,79; N, 9,11. Nalezeno: C, 65,22; H, 5,49; N, 8,92.

Příklad 33

Příprava kyseliny (S)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl)-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)-butanové

a) Ethyl-(S)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl)-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanoat

Titulní sloučenina se připraví způsobem podle příkladu 27(a) s tím rozdílem, že místo (S)-3-fenyl-4-(hydroxyfenyl)-butanoatu se použije ethyl-(S)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(thiazol-2-yl)butanoat (200 mg, 0,69 mmol), přičemž titulní sloučenina se získá ve formě čirého oleje po chromatografii na silikagelu (40 % THF ve směsi CHCl₃/hexany 1:1). MS(ES) m/e 452 (M+H)⁺.

b) Kyselina (S)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl)-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanová

Ethyl-(S)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl)-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanoat (371 mg, s obsahem nečistot) se rozpustí v THF/H₂O 1:1 (5 ml). K tomuto roztoku se přidá 1,0 N LiOH (1,04 ml, 1,04 mmol) a směs se zahřeje na 50 °C. Po 18 hodinách se směs ochladí na teplotu místnosti a promyje se Et₂O (2 x 5 ml). Vodná vrstva se zahustí ve vakuu aby se odstranila zbylá organická rozpouštědla a pak se okyslí pomocí 10% HCl na pH 6. Pevné podíly se odfiltrují a vysušením ve vakuu při 50 °C se ve formě bílého prášku získá titulní sloučenina (106 mg, 36 %

vzhledem k oběma stupňům). MS(ES) m/e 424 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₃H₂₅N₃O₃S.0,33 HCl: C, 63,42; H, 5,86, N 9,65. Nalezeno: C, 63,19; H, 5,61; N, 9,45.

Příklad 34

Příprava kyseliny (±)-3-(4-methylthiazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Ethyl-(±)-3-(4-methylthiazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat

Titulní sloučenina se připraví způsobem podle příkladu 9(a) s tím rozdílem, že se místo ethyl-(±)-4-(4-hydroxy-fenyl)-3-(thiazol-2-yl)butanoatu použije ethyl-(±)-3-(4-methylthiazol-2-yl)-4-(4-hydroxyfenyl)butanoat (216 mg, 0,74 mmol), přičemž titulní sloučenina (395 mg, nečistý produkt) se získá ve formě čirého oleje po chromatografii na silikagelu (50 % EtOAc/hexany). MS(ES) m/e 426 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-3-(4-methylthiazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová

Ethyl-(±)-3-(4-methylthiazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat s obsahem nečistot (395 mg) se rozpustí v THF/H₂O 1:1 (5 ml). K tomuto roztoku se přidá 1,0 N LiOH (1,04 ml, 1,04 mmol) a směs se zahřeje na 50 °C. Po 18 hodinách se směs ochladí na teplotu místnosti a promyje se Et₂O (2 x 5 ml). Vodná vrstva se zahustí ve vakuu aby se odstranila zbylá organická rozpouštědla a pak se okyslí pomocí 10% HCl na pH 6. Pevné podíly se odfiltrují a vysušením ve vakuu při 50 °C se ve formě světležlutého prášku získá titulní sloučenina (88 mg, 29 % vzhledem k oběma stupňům). MS(ES) m/e 412 (M+H)⁺.

27.11.00

Analýza: vypočteno pro $C_{22}H_{25}N_3O_3S \cdot 0,25 HCl$: C, 62,82; H, 6,05; N 9,99. Nalezeno: C, 62,94; H, 5,95; N, 9,95.

Příklad 35

Příprava kyseliny $(\pm)$ -3-[4-karboxy-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Kyselina $(\pm)$ -3-[4-karboxy-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová

K roztoku methyl- $(\pm)$ -3-[4-(benzyloxykarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoátu (50 mg, 0,09 mmol) v THF/H₂O (1 ml) se při teplotě místnosti přidá 1,0 N LiOH (0,28 ml, 0,28 mmol). Po 72 hodinách se směs okyslí s použitím 10% HCl na pH 6 a pak se zahustí do sucha. Zbytek se přečistí HPLC na reverzní fázi (gradientová eluce: 10–80 % CH₃CN/H₂O s obsahem 0,1 % TFA). Frakce obsahující požadovaný produkt se spojí a zahuštěním se zbaví CH₃CN. Získaný vodný roztok se zpracuje lyofilizací a získá se tak ve formě bílé pevné hmoty požadovaná sloučenina (36 mg, 94 %). MS(ES) m/e 426 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro $C_{22}H_{23}N_3O_6 \cdot 1,7 TFA$: C, 49,26; H, 4,02; N, 6,79. Nalezeno: C, 49,30; H, 4,24; N, 6,97.

Příklad 36

Příprava kyseliny $(\pm)$ -3-[4-(aminokarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Methyl- $(\pm)$ -3-[4-(aminokarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat

K roztoku methyl- $(\pm)$ -3-[4-karboxy-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoátu

(82 mg, 0,19 mmol) v suchém DMF (2 ml) se při teplotě místnosti přidá NH₄Cl (30 mg, 0,56 mmol), HOBt (30 mg, 0,22 mmol), Et₃N (0,08 ml, 0,56 mmol), a EDC (42 mg, 0,22 mmol). Za 22 hodin se směs zahustí. Zbytek se vyjme do H₂O (10 ml) a extrahuje se CH₂Cl₂ (3 x 30 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO₄ a zahuštěním se získá ve formě světležlutého oleje titulní sloučenina (46 mg, 55 %). MS(ES) 439 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-3-[4-(aminokarbonyl)oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová

Surový produkt se připraví způsobem podle příkladu 35(a) s tím rozdílem, že se místo methyl-(±)-3-[4-(benzyloxy-karbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu použije methyl-(±)-3-[4-amino-karbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat (46 mg, 0,1 mmol). Surový produkt se přečistí HPLC na reverzní fázi (gradientová eluce: 15-50 % CH₃CN/H₂O s obsahem 0,1 % TFA). Frakce obsahující požadovaný produkt se spojí a zahuštěním se zbaví CH₃CN. Získaný vodný roztok se zpracuje lyofilizací a získá se tak ve formě bílé pevné hmoty požadovaná titulní sloučenina (19 mg, 45 %). MS(ES) m/e 425 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₂H₂₄N₄O₅.2,5 TFA.1,0 H₂O: C, 44,58; H, 3,95; N, 7,70. Nalezeno: C, 44,24; H, 3,60; N, 7,83.

Příklad 37

Příprava kyseliny (±)-3-[4-(dimethylaminokarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-butanové

a) Methyl-(±)-3-[4-(dimethylaminokarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-

butanoat

K roztoku methyl-(±)-3-[4-karboxy-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu (82 mg, 0,19 mmol) v suchém DMF (2 ml) se při teplotě místnosti přidá hydrochlorid dimethylaminu (46 mg, 0,56 mmol), HOBt (30 mg, 0,22 mmol), Et₃N (0,08 ml, 0,56 mmol), a EDC (42 mg, 0,22 mmol). Za 18 hodin se směs zahustí. Zbytek se vyjme do H₂O (10 ml) a extrahuje se CH₂Cl₂ (3 x 30 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší MgSO₄ a zahuštěním se získá ve formě světležlutého oleje titulní sloučenina (79 mg, 89 %). MS(ES) 439 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-3-[4-(dimethylaminokarbonyl)oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová

Surový produkt se připraví způsobem podle příkladu 35(a) s tím rozdílem, že se místo methyl-(±)-3-[4-(benzyloxy-karbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu použije methyl-(±)-3-[4-(dimethylaminokarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat (79 mg, 0,17 mmol). Surový produkt se přečistí HPLC na reverzní fázi (gradientová eluce: 10-80 % CH₃CN/H₂O s obsahem 0,1 % TFA). Frakce obsahující požadovaný produkt se spojí a zahuštěním se zbaví CH₃CN. Získaný vodný roztok se zpracuje lyofilizací a získá se tak ve formě bílé pevné hmoty požadovaná titulní sloučenina (48 mg, 62 %). MS(ES) m/e 453 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₄H₂₈N₄O₅·1,8 TFA: C, 50,44; H, 4,57; N, 8,52. Nalezeno: C, 50,19; H, 4,79; N, 8,88.

Příklad 38

Příprava kyseliny (S)-3-fenyl-4-[4-[3-(3,4,5,6-tetrahydro-

27.11.00

pyrimidin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanové

a) Ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[3-(terc.butoxykarbonyl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoat

Roztok 3-N-(terc.butoxykarbonyl)amino-1-propanolu (499 mg, 2,85 mmol) a diisopropylazodikarboxylatu (0,561 ml, 2,85 mmol) v bezvodém CH₂Cl₂ (14 ml) se přidá po kapkách během 10 minut k roztoku ethyl-(S)fenyl-4-(4-hydroxyfenyl)butanoatu (323 mg, 1,14 mmol) a trifenylfosfinu (747 mg, 2,85 mmol) v bezvodém CH₂Cl₂ (5,7 ml) při teplotě 0 °C a v atmosféře argonu. Žlutý roztok se udržuje 10 minut při 0 °C a pak se ohřeje na teplotu místnosti. Za 23 hodin se reakční směs zahustí na rotační vakuové odparce a zbytek se zpracuje rychlou chromatografií na silikagelu (15 % EtOAc/hexany), a získá se ve formě bílé pevné hmoty titulní sloučenina (378 mg, 75 %). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,28-7,10 (m, 5H), 6,95-6,90 (d, 2H), 6,76-6,72 (d, 2H), 6,84-4,70 (br s, 1H), 4,01-3,94 (dd, 4H), 3,38-3,27 (m, 3H), 2,85-2,83 (d, 2H), 2,63-2,58 (t, 2H), 1,96-1,92 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,12-1,08 (t, 3H).

b) Ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-(3-amino-1-propyloxy)fenyl]-butanoat

K roztoku ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[3-(terc.butoxykarbonyl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoatu (377 mg, 0,85 mmol) se při teplotě místnosti přidá po kapkách 4 N HCl v dioxanu (4,25 ml, 17 mmol) a získaná směs se míchá 2 hodiny. Potom se rozpouští dlo odstranění na rotační vakuové odparce a tritací zbytku s etherem se získá ve formě bílé pevné hmoty titulní sloučenina. MS(ES) m/e 341,9 (M+H)⁺.

c) Ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyrimidin-2-yl)amino-1-

27.11.00

-propyloxy]fenyl]butanoat

Směs ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-(3-amino-1-propyloxy)fenyl]-butanoat (0,85 mmol, surový produkt), 2-brompyrimidinu (177 mg, 1,11 mmol) a NaHCO_3 (357 mg, 4,25 mmol) v EtOH (+é ml) se zahřívá 22 hodin při teplotě zpětného toku. Pak se směs ochladí na teplotu místnosti a soli se odfiltrují. Filtrační koláč se promyje EtOH. Spojený filtrát a promývací roztok se zahustí na rotační vakuové odparce a přečištěním zbytku rychlou chromatografií na silikagelu (25 % EtOAc/hexany) se získá titulní sloučenina (289 mg, 80 % ve dvou stupních). MS(ES) m/e 419,9 (M+H)⁺.

d) Ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[3-(3,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-yl)amino-1-propyloxy)fenyl]butanoat

Směs ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyrimidin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanoatu (286 mg, 0,68 mmol), ledové HOAc (10 ml), koncentrované HCl (0,113 ml, 1,36 mmol) a 10% Pd/C (72 mg, 0,068 mmol) se protřepává v atmosféře H_2 při teplotě místnosti v zařízení podle Parra. Za 4 hodiny se reakční směs zfiltruje a zahuštěním se získá titulní sloučenina (240 mg, 83 %). MS(ES) m/e 423,8 (M+H)⁺.

e) Kyselina (S)-3-fenyl-4-[4-[3-(3,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanová

Směs ethyl-(S)-3-fenyl-4-[4-[3-(3,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-yl)amino-1-propyloxy)fenyl]butanoatu (240 mg, 0,56 mmol), 1,0 N NaOH (1,15 ml, 1,12 mmol), THF (4 ml), a EtOH (4 ml) se míchá v olejové lázni o teplotě 35 °C. Za 18 hodin se směs ochladí na teplotu místnosti a promyje se Et₂O (2 × 5 ml). Et₂O promývací podíly se odstraní. Zbylá vodná vrstva se

27.11.00

mírně zahustí na rotační vakuové odparce aby se odstranila zbylá organická rozpouštědla, potom se zfiltruje a filtrát se okyselí na pH 5 30% TFA. Titulní sloučenina (80 mg) se získá ve formě bílého prášku preparativní HPLC (Hamilton PRP-1R, 250 × 21,5 mm, 35 % CH₃CN/H₂O s obsahem 0,1 % TFA) a následnou lyofilizací.. MS(ES) 359,9 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₃H₂₉N₃O₃.TFA: C, 58,93; H, 5,93; N, 8,25. Nalezeno: C, 58,63; H, 5,59; N, 7,99.

Příklad 39

Příprava kyseliny (±)-3-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-ethoxy]benzyl]pent-4-inové

a) Methyl-(±)-3-[4-[2-[6-[N-(terc.butoxykarbonyl)methylamino]pyridin-2-yl]ethoxy]benzyl]pent-4-inoat

K roztoku methyl-(±)-3-(4-hydroxybenzyl)pent-4-inoatu (25 mg, 0,12 mmol), (6-[(terc.butoxykarbonyl)methylamino]-2-pyridylethanolu (43 mg, 0,17 mmol), Ph₃P (45 mg, 0,17 mmol) v CH₂Cl₂ (5 ml) se při 0 °C přidá po kapkách DEAD (0,03 ml, 0,19 mmol). Reakční směs se pak nechá ohřát na teplotu místnosti. Po 2 dnech se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku. Titulní sloučenina (30 mg) se získá ve formě čirého oleje radiální chromatografií na silikagelu (2 mm deska, 20 % EtOAc/hexan. MS(ES) m/e 453,1 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-3-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-ethoxy]benzyl]pent-4-inová

K methyl-(±)-3-[4-[2-[6-[N-(terc.butoxykarbonyl)methylamino]pyridin-2-yl]ethoxy]benzyl]pent-4-inoatu (30 mg, 0,06 mmol) se přidá roztok 4 N HCl/dioxan (1 ml). Za 8 hodin se rozpouštědlo odstraní za sníženého tlaku a získá se

27.11.00

světležlutý zbytek.

Roztok výše uvedeného zbytku, 1,0 N NaOH (0,5 ml), MeOH (0,5 ml) a THF (1 kapka) se míchá 18 hodin při teplotě místnosti a potom se zahustí do sucha za sníženého tlaku. Zbytek se rozpustí v H₂O (3 ml) a pH se upraví pomocí 1,0 N HCl na 6. Vodná vrstva se extrahuje směsí 10 % MeOH/CHCl₃. Spojené organické extrakty se vysuší Na₂SO₄ a rozpouštědlo se odstraní. Lyofilizací zbytku se získá ve formě bílého prášku titulní sloučenina (21 mg). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,57 (m, 1H), 7,12 (d, J=8,5 Hz, 2H), 6,76 (d, J=8,5 Hz, 2H), 6,55 (d, J=7,2 Hz, 1H), 6,40 (d, J=8,8 Hz, 1H), 4,2 (m, 2H), 3,70 (m, 2H), 3,15 (m, 2H), 2,88 (s, 3H), 2,80 (m, 1H), 2,70 (m, 1H), 2,50 (m, 2H), 2,01 (d, J=2,3 Hz, 1H); MS(ES) m/e 339,2 (M+H)⁺.

Příklad 40

Příprava kyseliny (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(2-fenylethyl)butanové

a) Methyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(2-fenylethyl)butanoat

Titulní sloučenina se připraví způsobem podle příkladu 2(a) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoátu se použije methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-(fenylethyl)butanoat, přičemž titulní sloučenina (59 %) se získá po chromatografii na silikagelu (20 % EtOAc/hexany) ve formě čirého filmu. MS(ES) m/e 433 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(2-fenylethyl)butanové

Titulní sloučenina (70 %) se připraví ve formě bílé pěny

27.11.00

způsobem podle příkladu 2(b) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu se použije methyl-(±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(2-(fenylethyl)-butanoat. MS(ES) m/e 419 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₆H₃₀N₂O₃·1,1 H₂O: C, 71,24; H, 7,40; N, 6,39. Nalezeno: C, 71,29; H, 7,19; N 6,33.

Příklad 41

Příprava kyseliny (±)-3-benzyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanové

a) Methyl-(±)-3-benzyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat

Titulní sloučenina se připraví způsobem podle příkladu 2(a) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoatu se použije methyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-benzylbutanoat, přičemž titulní sloučenina (47 %) se získá po chromatografii na silikagelu (20 % EtOAc/hexany) ve formě čirého filmu. MS(ES) m/e 419 (M+H)⁺.

b) Kyselina (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(2-benzyl)butanové

Titulní sloučenina (70 %) se připraví ve formě světležluté pěny způsobem podle příkladu 2(b) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu se použije methyl-(±)-3-benzyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoat. MS(ES) m/e 405 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₂₅H₂₈N₂O₃·1,0 HCl·0,45 H₂O: C, 66,87; H, 6,71; N, 6,24. Nalezeno: C, 66,68; H, 6,62; N 6,64.

27.11.00

Příklad 42

Příprava kyseliny ($\pm$)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(2-cyklopropyl)butanové

a) Methyl-($\pm$)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(2-cyklopropyl)butanoat

Titulní sloučenina se připraví způsobem podle příkladu 2(a) s tím rozdílem, že místo ethyl-($\pm$)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoatu se použije methyl-($\pm$)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-cyklopropylbutanoat, přičemž titulní sloučenina (64 %) se získá po chromatografii na silikagelu (20 % EtOAc/hexany) ve formě čirého filmu. MS(ES) m/e 369 (M+H)⁺.

b) Kyselina ($\pm$)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(2-cyklopropyl)butanová

Titulní sloučenina (9 mg) se připraví ve formě světležluté pěny způsobem podle příkladu 2(b) s tím rozdílem, že místo ethyl-($\pm$)-3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoatu se použije methyl-($\pm$)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(2-cyklopropyl)butanoat. MS(ES) m/e 355 (M+H)⁺.

Příklad 43

Příprava kyseliny 3-methyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-butenové

a) Methyl-3-methyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butenoat

Titulní sloučenina se připraví způsobem podle příkladu

2(a) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-4-(4-hydroxyfenyl)-3-fenylbutanoátu se použije ethyl-4-(4-hydroxyfenyl)-3-methyl-3-butenóat, přičemž titulní sloučenina (96 %) se získá po chromatografii na silikagelu (20 % EtOAc/hexany) ve formě čirého filmu. MS(ES) m/e 355 (M+H)⁺.

b) Kyselina 3-methyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-butenová

Titulní sloučenina (30 mg %) se připraví ve formě žluté pěny způsobem podle příkladu 2(b) s tím rozdílem, že místo ethyl-(±)-3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanoátu se použije methyl-3-methyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butenóat. MS(ES) m/e 327 (M+H)⁺. Analýza: vypočteno pro C₁₉H₂₂N₂O₃.0,60 HCl.0,55 H₂O: C, 63,71; H, 6,67; N, 7,82. Nalezeno: C, 63,41; H, 6,78; N 8,14.

Příklad 44

Kompozice pro parenterální dávkovou jednotku

Přípravek obsahující 20 mg sloučeniny podle příkladu 1 ve formě suchého sterilního prášku se připraví následujícím způsobem: 20 mg uvedené sloučeniny se rozpustí v 15 ml destilované vody. Roztok se zfiltruje za sterilních podmínek do 25 ml ampule pro multipodání a lyofilizuje se. Získaný prášek se pak rekonstituuje přídatkem 20 ml 5% dextrosy ve vodě (D5W) pro intravenózní nebo intramuskulární injekční podání. Podaná dávka je tak určena objemem injekce. Přídatkem odměřeného množství této dávkové kompozice k dalšímu podílu D5W pro injekci je možné připravit následné ředění, nebo je možné přidat odměřenou dávku do dalšího prostředku pro dávkování a podávání jako je lahev nebo vak pro kapací infúzi

nebo jiný injekčně/infúzní systém.

Příklad 45

Kompozice pro orální dávkovou jednotku

Tobolka pro orální podání se připraví smísením a rozemletím 50 mg sloučeniny podle příkladu 1 se 75 mg laktosy a s 5 mg stearanu hořečnatého. Získaný prášek se pak prosítuje a naplní se do tvrdé želatinoé tobolky.

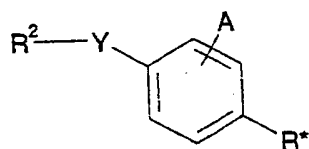
Kompozice pro orální dávkovou jednotku

Tableta pro orální podání se připraví smísením a granulováním 20 mg sacharosy, 150 mg dihydratu síranu vápenatého a 50 mg sloučeniny podle příkladu 1 s 10% roztokem želatiny. Mokrý granule se prosítují, vysuší se a smísí se s 10 mg škrobu, 5 mg talku a 3 mg kyseliny stearové; potom se směs slisuje do formy tablety.

Výše uvedený popis plně popisuje předložený vynález a jeho použití. Vynález však není omezený výše uvedenými jednotlivými provedeními, ale zahrnuje i všechny modifikace v rozsahu následujících připojených patentových nároků. Odkazy na různé časopisy, patenty a další publikace citované v tomto popise zahrnují stav v oboru a jsou do tohoto popisu zahrnuty v plném rozsahu odkazem.

P A T E N T O V É N A R O K Y

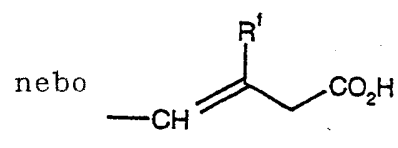
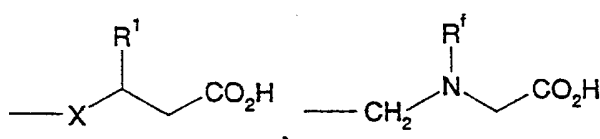
1. Sloučenina obecného vzorce (I):



(I)

kde

R* znamená



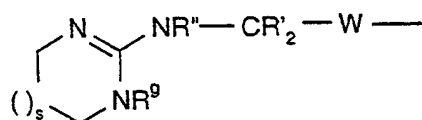
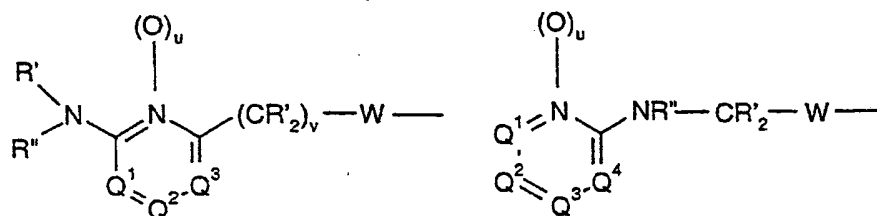
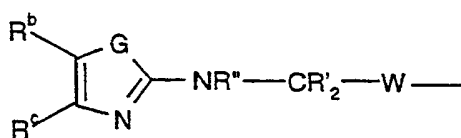
X znamená CR'R', NR', O nebo S;

Y znamená CR'R', NR', O nebo S;

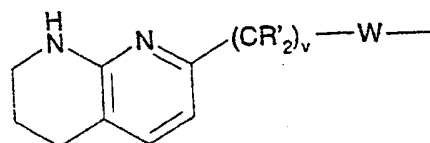
A znamená skupinu ze skupiny zahrnující zahrnující H, halogen, -OR_s, -SR_s, -CN, -NR_sR^k, -NO₂, -CF₃, -S(O)_rCF₃, -CO₂R_s, -COR_s, -CONR_s₂C₁₋₆alkyl, -C₀₋₆alkyl-Ar, -C₀₋₆alkyl-Het, -C₀₋₆alkyl-C₃₋₆cykloalkyl, -S(O)_kR_s, a CH₂N(R^f)₂;

R¹ znamená skupinu ze skupiny zahrnující -C₀₋₆alkyl-Het, -C₀₋₆alkyl-Ar, -C₁₋₆alkyl, -H, -CN, -CH=CH₂, -C≡CH a -S(O)_kR_s;

27.11.00

 R^2 znamená

nebo

 W znamená $-(\text{CHR}^{\varepsilon})_a\text{---}U\text{---}(\text{CHR}^{\varepsilon})_b\text{---}$;

U nemá žádný význam nebo znamená CO , $\text{CR}^{\varepsilon}_2$, $\text{C}(=\text{CR}^{\varepsilon}_2)$, $\text{S}(\text{O})_k$, O , NR^{ε} , $\text{CR}^{\varepsilon}\text{OR}^{\varepsilon}$, $\text{CR}^{\varepsilon}(\text{OR}^k)\text{CR}^{\varepsilon}_2$, $\text{CR}^{\varepsilon}_2\text{CR}^{\varepsilon}(\text{OR}^k)$, $\text{C}(\text{O})\text{CR}^{\varepsilon}_2$, $\text{CR}^{\varepsilon}_2\text{C}(\text{O})$, CONR^i , NR^iCO , $\text{OC}(\text{O})$, $\text{C}(\text{O})\text{O}$, $\text{C}(\text{S})\text{O}$, $\text{OC}(\text{S})$, $\text{C}(\text{S})\text{NR}^{\varepsilon}$, $\text{NR}^{\varepsilon}\text{C}(\text{S})$, $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{\varepsilon}$, $\text{NR}^{\varepsilon}\text{S}(\text{O})_2\text{N}=\text{N}$, $\text{NR}^{\varepsilon}\text{NR}^{\varepsilon}$, $\text{NR}^{\varepsilon}\text{CR}^{\varepsilon}_2$, $\text{CR}^{\varepsilon}_2\text{NR}^{\varepsilon}$, $\text{CR}^{\varepsilon}_2\text{O}$, $\text{OCR}^{\varepsilon}_2$, $\text{C}\equiv\text{C}$, $\text{CR}^{\varepsilon}=\text{CR}^{\varepsilon}$, Ar a Het ;

 G znamená NR^e , S nebo O ;

R^{ε} znamená skupinu ze skupiny zahrnující H , $\text{C}_1\text{--}6\text{alkyl}$, $\text{Het--C}_0\text{--}6\text{alkyl}$, $\text{C}_3\text{--}7\text{cykloalkyl--C}_0\text{--}6\text{alkyl}$, a $\text{Ar--C}_0\text{--}6\text{alkyl}$;

 R^k znamená R^{ε} , $-\text{C}(\text{O})R^{\varepsilon}$, nebo $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^f$; R^i znamená skupinu ze skupiny zahrnující H , $\text{C}_1\text{--}6\text{alkyl}$,

27.11.00

Het-C₀-6alkyl, C₃-7cykloalkyl-C₀-6alkyl, Ar-C₀-6alkyl, a C₁-6alkyl substituovaný jednou až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CN, NR^s₂, OR^s, SR^s, CO₂R^s a CON(R^s)₂;

R^f znamená H, C₁-6alkylovou nebo Ar-C₀-6alkylovou skupinu;

R^e znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-6alkyl, Ar-C₀-6alkyl, Het-C₀-6alkyl, C₃-7cykloalkyl-C₀-6alkyl, a (CH₂)_kCO₂R^s;

R^b a R^c nezávisle znamenají skupinu zvolenou ze skupiny zahrnující H, C₁-6alkyl, Ar-C₀-6alkyl, Het-C₀-6alkyl a C₃-6cykloalkyl-C₀-6alkyl, halogen, CF₃, OR^f, S(O)_kR^f, COR^f, NO₂, N(R^f)₂, CO(NR^f)₂, CH₂N(R^f)₂, nebo R^b a R^c vzájemně spojené tvoří pětičlenný nebo šestičlenný aromatický nebo nearomatický, karbocyklický nebo heterocyklický kruh, případně substituovaný až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CF₃, C₁-4alkyl, OR^f, S(O)_kR^f, COR^f, CO₂R^f, OH, NO₂, N(R^f)₂, CO(NR^f)₂ a CH₂N(R^f)₂; nebo methylenedioxykupinu;

Q¹, Q², Q³ a Q⁴ nezávisle znamenají N nebo C-R^y s výhradou, že nejvýše jeden ze skupiny zahrnující Q¹, Q², Q³, a Q⁴ znamená N;

R' znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-6alkyl, Ar-C₀-6alkyl, a C₃-6cykloalkyl-C₀-6alkyl;

R'' znamená R', -C(O)R' nebo C(O)OR';

R^y znamená H, halogen, -OR^s, -SR^s, -CN, -NR^sR^k, -NO₂,

27.11.00

$-\text{CF}_3$, $-\text{CF}_3\text{S}(\text{O})_r-$, $-\text{CO}_2\text{R}^s$, $-\text{COR}^s$ nebo $-\text{CONR}^s_2$, nebo C_{1-6} alkylovou skupinu případně substituovanou halogenem, $-\text{OR}^s$, $-\text{SR}^s$, $-\text{CN}$, $-\text{NR}^s\text{R}^{''}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CF}_3$, $\text{R}'\text{S}(\text{O})_r-$, $-\text{CO}_2\text{R}^s$, $-\text{COR}^s$ nebo $-\text{CONR}^s_2$;

a znamená 0, 1 nebo 2;

b znamená 0, 1 nebo 2;

k znamená 0, 1 nebo 2

r znamená 0, 1 nebo 2;

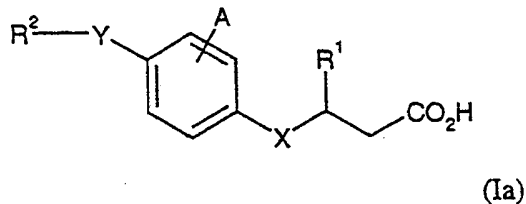
s znamená 0, 1 nebo 2;

u znamená 0 nebo 1; a

v znamená 0 nebo 1;

nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

2. Sloučenina obecného vzorce (Ia):



kde

X znamená $\text{CR}'\text{R}'$, NR' , O nebo S;

Y znamená $\text{CR}'\text{R}'$, NR' , O nebo S;

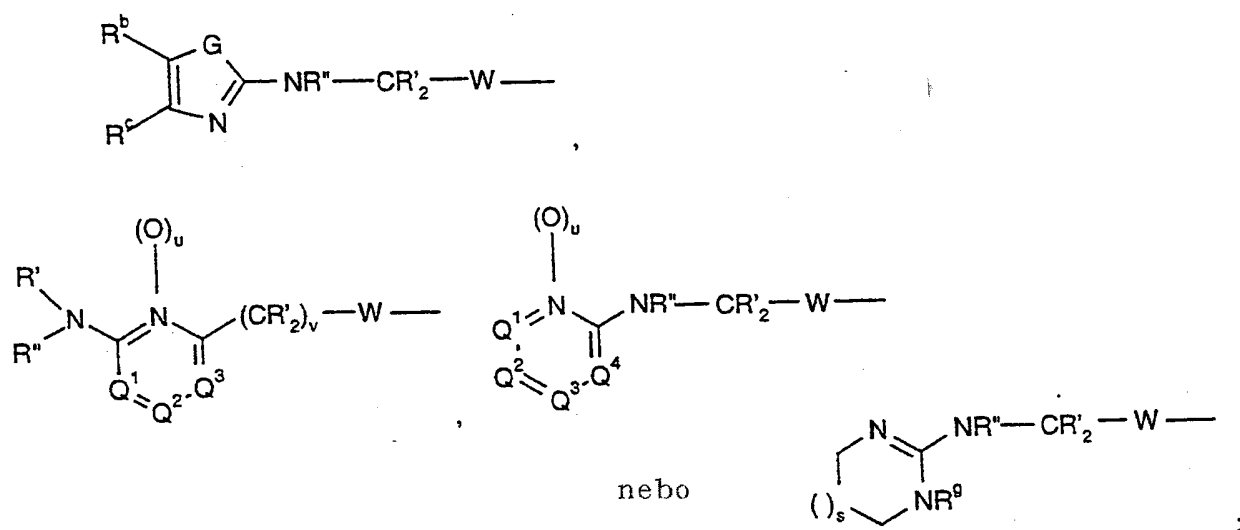
A znamená skupinu ze skupiny zahrnující zahrnující H,

27.11.00

halogen, $-\text{OR}^{\varepsilon}$, $-\text{SR}^{\varepsilon}$, $-\text{CN}$, $-\text{NR}^{\varepsilon}\text{R}^{\text{k}}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CF}_3$, $-\text{S}(\text{O})_r\text{CF}_3$,
 $-\text{CO}_2\text{R}^{\varepsilon}$, $-\text{COR}^{\varepsilon}$, $-\text{CONR}^{\varepsilon}_2\text{C}_{1-6}\text{alkyl}$, $-\text{C}_{0-6}\text{alkyl-Ar}$,
 $-\text{C}_{0-6}\text{alkyl-Het}$, $-\text{C}_{0-6}\text{alkyl-C}_{3-6}\text{cykloalkyl}$, $-\text{S}(\text{O})_k\text{R}^{\varepsilon}$, a
 $\text{CH}_2\text{N}(\text{R}^{\text{f}})_2$;

R^1 znamená skupinu ze skupiny zahrnující $-\text{C}_{0-6}\text{alkyl-Het}$,
 $-\text{C}_{0-6}\text{alkyl-Ar}$, $-\text{H}$, $-\text{CN}$, a $-\text{S}(\text{O})_k\text{R}^{\varepsilon}$;

R^2 znamená



W znamená $-(\text{CHR}^{\varepsilon})_a-\text{U}-(\text{CHR}^{\varepsilon})_b-$;

U nemá žádný význam nebo znamená CO , $\text{CR}^{\varepsilon}_2$, $\text{C}(=\text{CR}^{\varepsilon}_2)$,
 $\text{S}(\text{O})_k$, O , NR^{ε} , $\text{CR}^{\varepsilon}\text{OR}^{\varepsilon}$, $\text{CR}^{\varepsilon}(\text{OR}^{\text{k}})\text{CR}^{\varepsilon}_2$, $\text{CR}^{\varepsilon}_2\text{CR}^{\varepsilon}(\text{OR}^{\text{k}})$, $\text{C}(\text{O})\text{CR}^{\varepsilon}_2$,
 $\text{CR}^{\varepsilon}_2\text{C}(\text{O})$, CONR^{i} , $\text{NR}^{\text{i}}\text{CO}$, $\text{OC}(\text{O})$, $\text{C}(\text{O})\text{O}$, $\text{C}(\text{S})\text{O}$, $\text{OC}(\text{S})$, $\text{C}(\text{S})\text{NR}^{\varepsilon}$,
 $\text{NR}^{\varepsilon}\text{C}(\text{S})$, $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{\varepsilon}$, $\text{NR}^{\varepsilon}\text{S}(\text{O})_2\text{N}=\text{N}$, $\text{NR}^{\varepsilon}\text{NR}^{\varepsilon}$, $\text{NR}^{\varepsilon}\text{CR}^{\varepsilon}_2$, $\text{CR}^{\varepsilon}_2\text{NR}^{\varepsilon}$,
 $\text{CR}^{\varepsilon}_2\text{O}$, $\text{OCR}^{\varepsilon}_2$, $\text{C}\equiv\text{C}$, $\text{CR}^{\varepsilon}=\text{CR}^{\varepsilon}$, Ar nebo Het ;

G znamená NR^{e} , S nebo O ;

R^{ε} znamená skupinu ze skupiny zahrnující H , $\text{C}_{1-6}\text{alkyl}$,

27.11.00

Het-C₀-6alkyl, C₃-7cykloalkyl-C₀-6alkyl, a Ar-C₀-6alkyl;

R^k znamená R^s, -C(O)R^s, nebo -C(O)OR^f;

Rⁱ znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-6alkyl, Het-C₀-6alkyl, C₃-7cykloalkyl-C₀-6alkyl, Ar-C₀-6alkyl, a C₁-6alkyl substituovaný jednou až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CN, NR^s₂, OR^s, SR^s, CO₂R^s a CON(R^s)₂;

R^f znamená H, C₁-6alkylovou nebo Ar-C₀-6alkylovou skupinu;

R^e znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-6alkyl, Ar-C₀-6alkyl, Het-C₀-6alkyl, C₃-7cykloalkyl-C₀-6alkyl, a (CH₂)_kCO₂R^s;

R^b a R^c nezávisle znamenají skupinu zvolenou ze skupiny zahrnující H, C₁-6alkyl, Ar-C₀-6alkyl, Het-C₀-6alkyl nebo C₃-6cykloalkyl-C₀-6alkyl, halogen, CF₃, OR^f, S(O)_kR^f, COR^f, NO₂, N(R^f)₂, CO(NR^f)₂, CH₂N(R^f)₂, nebo R^b a R^c vzájemně spojené tvoří pětičlenný nebo šestičlenný aromatický nebo nearomatický, karbocyklický nebo heterocyklický kruh, případně substituovaný až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CF₃, C₁-4alkyl, OR^f, S(O)_kR^f, COR^f, CO₂R^f, OH, NO₂, N(R^f)₂, CO(NR^f)₂ a CH₂N(R^f)₂; nebo methylenedioxykupinu;

Q¹, Q², Q³ a Q⁴ nezávisle znamenají N nebo C-R^v s výhradou, že nejvýše jeden ze skupiny zahrnující Q¹, Q², Q³, a Q⁴ znamená N;

R' znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C₁-6alkyl,

27.11.00

Ar-Co-6alkyl, a C₃-6cykloalkyl-Co-6alkyl;

R'' znamená R', -C(O)R' nebo C(O)OR';

R^y znamená H, halogen, -OR^s, -SR^s, -CN, -NR^sR^k, -NO₂, -CF₃, -CF₃S(O)_r-, -CO₂R^s, -COR^s nebo -CONR^s₂, nebo C₁-6alkylovou skupinu případně substituovanou halogenem, -OR^s, -SR^s, -CN, -NR^sR'', -NO₂, -CF₃, R'S(O)_r-, -CO₂R^s, -COR^s nebo -CONR^s₂;

a znamená 0, 1 nebo 2;

b znamená 0, 1 nebo 2;

k znamená 0, 1 nebo 2

r znamená 0, 1 nebo 2;

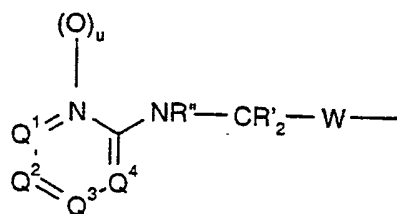
s znamená 0, 1 nebo 2;

u znamená 0 nebo 1; a

v znamená 0 nebo 1;

nebo její farmaceuticky přijatelná sůl.

3. Sloučenina podle nároku 1 nebo 2, ve které R² znamená



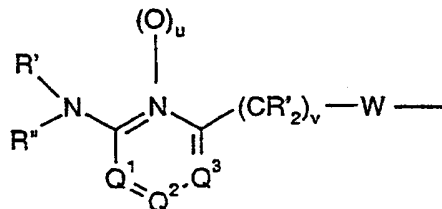
kde každý z Q¹, Q², a Q³ znamená CR^y, Q⁴ znamená CR^y nebo N a u znamená 0.

4. Sloučenina podle nároku 3, kde každý R' znamená H, R'' znamená H nebo C₁-6alkylovou skupinu, W znamená -(CH₂)₁₋₄-, Q⁴

27.11.00

znamená CR^y a R^y znamená H.

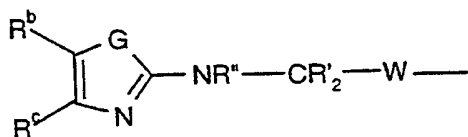
5. Sloučenina podle nároku 1 nebo 2 ve které R^2 znamená



kde každý z Q^1 , Q^2 a Q^3 znamená CH a u znamená O.

6. Sloučenina podle nároku 5, ve které každý substituent R^1 znamená H, $R^{1'}$ znamená H nebo C_1 -6alkylovou skupinu, v znamená O a W znamená $-CH_2-CH_2-$.

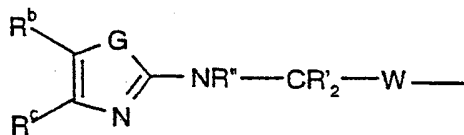
7. Sloučenina podle nároku 1 nebo 2, ve které R^2 znamená



kde G znamená NH a R^b a R^c každý znamená H.

8. Sloučenina podle nároku 7, ve které W znamená $-CH_2-CH_2-$.

9. Sloučenina podle nároku 1 nebo 2, ve které R^2 znamená



27.11.00

kde G znamená NH a R^b a R^c jsou vzájemně spojené za tvorby pětičlenného nebo šestičlenného aromatického nebo nearomatického karbocyklického nebo heterocyklického kruhu, případně substituovaného až třemi substituenty zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CF₃, C₁₋₄alkylovou skupinu, OR^f, S(O)_kR^f, COR^f, CO₂R^f, OH, NO₂, N(R^f)₂, CO(NR^f)₂, a CH₂N(R^f)₂; nebo methylenedioxykupinu.

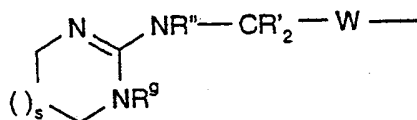
10. Sloučenina podle nároku 9, ve které R^b a R^c jsou vzájemně spojené za tvorby šestičlenného aromatického karbocyklického kruhu.

11. Sloučenina podle nároku 10, ve které W znamená -CH₂-CH₂-.

12. Sloučenina podle nároku 9, ve které R^b a R^c jsou vzájemně spojené za tvorby šestičlenného aromatického heterocyklického kruhu.

13. Sloučenina podle nároku 12, ve které W znamená -CH₂-CH₂-.

14. Sloučenina podle nároku 1 nebo 2, ve které R² znamená



kde každý substituent R' znamená H, R'' znamená H nebo C₁₋₆alkylovou skupinu, R^g znamená H nebo C₁₋₆ alkylovou skupinu a s znamená 0, 1 nebo 2.

15. Sloučenina podle nároku 14, ve které W znamená -CH₂-CH₂-.

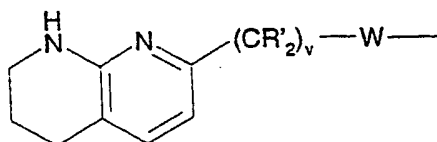
27.11.00

16. Sloučenina podle nároku 1 nebo 2, ve které R^1 znamená skupinu ze skupinu zahrnující fenyl, benzyl, pyridyl, imidazolyl, oxazolyl a thiazolyl.

17. Sloučenina podle nároku 1 nebo 2, ve které Y znamená O nebo CH_2 .

18. Sloučenina podle nároku 1 nebo 2, ve které X znamená NH nebo CH_2 .

19. Sloučenina podle nároku 1, ve které R^2 znamená



kde v znamená O a W znamená $-CH_2-CH_2-$.

20. Sloučenina kterou je:

kyselina $(\pm)$ -3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanová;

kyselina $(\pm)$ -3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl)-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina $(\pm)$ -3-fenyl-3-[4-[4-pyridin-2-yl)amino-1-butyl]-fenyl]amino]propanová

kyselina 4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl)-1-ethoxy]-fenyl]butanová;

kyselina (S)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanová;

kyselina 2-fenoxy-4-[5-(pyridin-2-yl)amino-1-pentyloxy]-

27.11.00

fenyloctová;

kyselina 4-[4-[6-methylamino(pyridin-2-yl)-1-ethoxy]-2-fenoxyfenyl]butanová;

kyselina (±)-4-[4-[6-methylamino(pyridin-2-yl)-1-ethoxy]-fenyl]-3-vinylbutanová;

kyselina (±)-3-methyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanová;

kyselina (R)-3-fenyl-4-[4-[3-(pyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanová;

kyselina (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(pyridin-2-yl)butanová;

kyselina (±)-3-methyl-4-[4-[2-[2-(methylamino)pyridin-5-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina 2-[N-benzyl-N-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]amino]octová;

kyselina (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiofen-2-yl)butanová;

kyselina 2-[N-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]-N-fenyl]amino]octová;

kyselina (±)-3-(4-bromfenyl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina (±)-3-methyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina (S)-3-fenyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina (±)-3-(4-isopropylfenyl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina (±)-3-(4-isopropylfenyl)-4-[4-[3-[4-(methylpyridin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanová;

kyselina (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(oxazol-2-yl)butanová;

kyselina 2-[N-[2-methoxy-4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]benzyl]amino]octová;

27.11.00

kyselina 4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]-fenyl]but-3-enová;

kyselina (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanová;

kyselina (±)-3-fenyl-4-[4-[2-(pyridin-2-yl)amino]-1-ethylamino]karbonyl]fenyl]butanová;

kyselina (±)-3-(furan-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)-pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina (±)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(2-fenylethyl)butanová;

kyselina (S)-3-fenyl-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl)-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina 3-methyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-butenová;

kyselina (±)-3-[1-dimethylaminosulfonyl]imidazol-2-yl]-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-butanová;

kyselina (±)-3-benzyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina (±)-3-(imidazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)-pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina (S)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanová;

kyselina (R)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanová;

kyselina (S)-3-fenyl-4-[4-[3-(3,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-yl)amino-1-propyloxy]fenyl]butanová;

kyselina (±)-3-cyklopropyl-4-[4-[2-[6-(methylamino)-pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina (±)-3-(benzothiazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina (S)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahydro-1,8-naftyridin-2-yl)-1-ethoxy]fenyl]-3-(thiazol-2-yl)butanová;

27.11.00

kyselina ($\pm$)-3-(4-methylthiazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina ($\pm$)-3-(4-karboxy-1,3-oxazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina ($\pm$)-3-[4-(aminokarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]butanová;

kyselina ($\pm$)-3-[4-(dimethylaminokarbonyl)-1,3-oxazol-2-yl)-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-1-ethoxy]fenyl]-butanová;

kyselina ($\pm$)-3-4-[4-[2-[6-(methylamino)pyridin-2-yl]-ethoxy]benzyl]pent-4-inová;

nebo její farmaceuticky přijatelná sůl..

21. Farmaceutická kompozice v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje sloučeninu podle některého z nároků 1-20 a farmaceuticky přijatelný nosič.

22. Farmaceutická kompozice v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje sloučeninu podle některého z nároků 1-20, antineoplastický prostředek a farmaceuticky přijatelný nosič.

23. Farmaceutická kompozice podle nároku 22 v y z n a č u j í c í s e t í m , že antineoplastický prostředek je topotekan nebo cisplatina.

24. Farmaceutická kompozice v y z n a č u j í c í s e t í m , že obsahuje sloučeninu podle nároku 1, inhibitor kostní resorpce a farmaceuticky přijatelný nosič.

25. Způsob léčby chorobného stavu s indikovaným antagonismem vůči receptoru $\alpha_v\beta_3$, v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje podávání sloučeniny podle nároku 1 subjektu

27.11.00

kterého je potřebné léčit.

26. Způsob léčby chorobného stavu s indikovaným antagonismem vůči receptoru $\alpha_v\beta_5$, v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje podávání sloučeniny podle nároku 1 subjektu kterého je potřebné léčit.

27. Způsob léčby osteoporózy v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje podávání sloučeniny podle nároku 1 subjektu kterého je potřebné léčit.

28. Způsob inhibice angiogeneze, růstu tumoru nebo metastázování tumoru v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje podávání sloučeniny podle nároku 1 v kombinaci s antineoplastickým prostředkem subjektu kterého je potřebné léčit.

29. Způsob léčby aterosklerózy, restenózy nebo zánětu v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje podávání sloučeniny podle nároku 1 subjektu kterého je potřebné léčit.

30. Způsob inhibice růstu tumoru v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje postupné podávání nebo podávání fyzikální kombinace sloučeniny podle nároku 1 a antineoplastického prostředku.

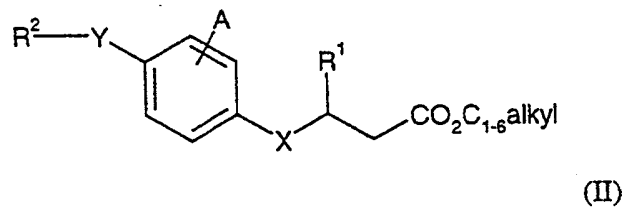
31. Způsob podle nároku 30 v y z n a č u j í c í s e t í m , že antineoplastický prostředek je topotekan nebo cisplatina.

32. Způsob léčby osteoporózy nebo inhibice ztráty kostní hmoty v y z n a č u j í c í s e t í m , že zahrnuje postupné podávání nebo podávání fyzikální kombinace sloučeniny podle

27.11.00

nároku 1 a inhibitoru kostní resorpce.

33. Sloučenina obecného vzorce (II):



kde

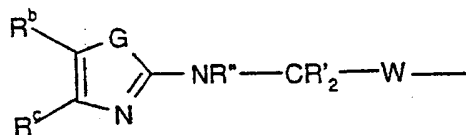
X znamená CR'R', NR', O nebo S;

Y znamená CR'R', NR', O nebo S;

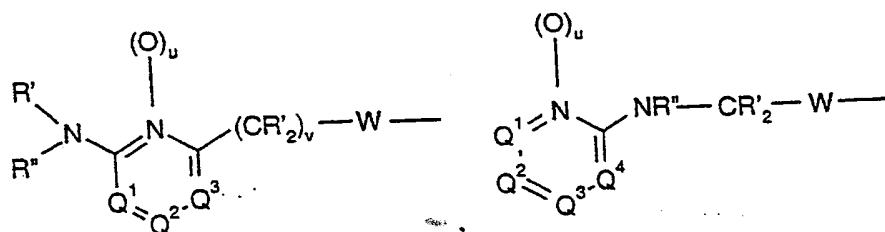
A znamená skupinu ze skupiny zahrnující zahrnující H, halogen, -OR^s, -SR^s, -CN, -NR^sR^k, -NO₂, -CF₃, -S(O)_rCF₃, -CO₂R^s, -COR^s, -CONR^s₂C₁₋₆alkyl, -C₀₋₆alkyl-Ar, -C₀₋₆alkyl-Het, -C₀₋₆alkyl-C₃₋₆cykloalkyl, -S(O)_kR^s, a CH₂N(R^f)₂;

R¹ znamená skupinu ze skupiny zahrnující -C₀₋₆alkyl-Het, -C₀₋₆alkyl-Ar, H, -CN, a -S(O)_kR^s;

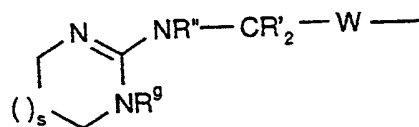
R² znamená



27.11.00



nebo



W znamená $-(\text{CHR}^{\varepsilon})_a-\text{U}-(\text{CHR}^{\varepsilon})_b-$;

U nemá žádný význam nebo znamená CO , $\text{CR}^{\varepsilon}_2$, $\text{C}(=\text{CR}^{\varepsilon}_2)$, $\text{S}(\text{O})_k$, O , NR^{ε} , $\text{CR}^{\varepsilon}\text{OR}^{\varepsilon}$, $\text{CR}^{\varepsilon}(\text{OR}^k)\text{CR}^{\varepsilon}_2$, $\text{CR}^{\varepsilon}_2\text{CR}^{\varepsilon}(\text{OR}^k)$, $\text{C}(\text{O})\text{CR}^{\varepsilon}_2$, $\text{CR}^{\varepsilon}_2\text{C}(\text{O})$, CONR^i , NR^iCO , $\text{OC}(\text{O})$, $\text{C}(\text{O})\text{O}$, $\text{C}(\text{S})\text{O}$, $\text{OC}(\text{S})$, $\text{C}(\text{S})\text{NR}^{\varepsilon}$, $\text{NR}^{\varepsilon}\text{C}(\text{S})$, $\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^{\varepsilon}$, $\text{NR}^{\varepsilon}\text{S}(\text{O})_2\text{N}=\text{N}$, $\text{NR}^{\varepsilon}\text{NR}^{\varepsilon}$, $\text{NR}^{\varepsilon}\text{CR}^{\varepsilon}_2$, $\text{CR}^{\varepsilon}_2\text{NR}^{\varepsilon}$, $\text{CR}^{\varepsilon}_2\text{O}$, $\text{OCR}^{\varepsilon}_2$, $\text{C}\equiv\text{C}$, $\text{CR}^{\varepsilon}=\text{CR}^{\varepsilon}$, Ar nebo Het ;

G znamená NR^e , S nebo O ;

R^{ε} znamená skupinu ze skupiny zahrnující H , $\text{C}_{1-6}\text{alkyl}$, $\text{Het-C}_{0-6}\text{alkyl}$, $\text{C}_{3-7}\text{cykloalkyl-C}_{0-6}\text{alkyl}$, a $\text{Ar-C}_{0-6}\text{alkyl}$;

R^k znamená R^{ε} , $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{\varepsilon}$, nebo $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^f$;

R^i znamená skupinu ze skupiny zahrnující H , $\text{C}_{1-6}\text{alkyl}$, $\text{Het-C}_{0-6}\text{alkyl}$, $\text{C}_{3-7}\text{cykloalkyl-C}_{0-6}\text{alkyl}$, $\text{Ar-C}_{0-6}\text{alkyl}$, nebo $\text{C}_{1-6}\text{alkyl}$ substituovaný jednou až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CN , $\text{NR}^{\varepsilon}_2$, OR^{ε} , SR^{ε} , $\text{CO}_2\text{R}^{\varepsilon}$ a

27.11.00

$\text{CON}(\text{R}^s)_2$;

R^f znamená H, C_1 -6alkylovou nebo Ar-C_0 -6alkylovou skupinu;

R^e znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C_1 -6alkyl, Ar-C_0 -6alkyl, Het-C_0 -6alkyl, C_3 -7cykloalkyl- C_0 -6alkyl, a $(\text{CH}_2)_k\text{CO}_2\text{R}^s$;

R^b a R^c znamenají skupinu nezávisle zvolenou ze skupiny zahrnující H, C_1 -6alkyl, Ar-C_0 -6alkyl, Het-C_0 -6alkyl nebo C_3 -6cykloalkyl- C_0 -6alkyl, halogen, CF_3 , OR^f , $\text{S}(\text{O})_k\text{R}^f$, COR^f , NO_2 , $\text{N}(\text{R}^f)_2$, $\text{CO}(\text{NR}^f)_2$, $\text{CH}_2\text{N}(\text{R}^f)_2$, nebo R^b a R^c vzájemně spojené tvoří pětičlenný nebo šestičlenný aromatický nebo nearomatický, karbocyklický nebo heterocyklický kruh, případně substituovaný až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CF_3 , C_1 -4alkyl, OR^f , $\text{S}(\text{O})_k\text{R}^f$, COR^f , CO_2R^f , OH , NO_2 , $\text{N}(\text{R}^f)_2$, $\text{CO}(\text{NR}^f)_2$ a $\text{CH}_2\text{N}(\text{R}^f)_2$; nebo methylendioxyskupinu;

Q^1 , Q^2 , Q^3 a Q^4 nezávisle znamenají N nebo C-R^v s výhradou, že nejvýše jeden ze skupiny zahrnující Q^1 , Q^2 , Q^3 , a Q^4 znamená N;

R' znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C_1 -6alkyl, Ar-C_0 -6alkyl, a C_3 -6cykloalkyl- C_0 -6alkyl;

R'' znamená R' , $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ nebo $\text{C}(\text{O})\text{OR}'$;

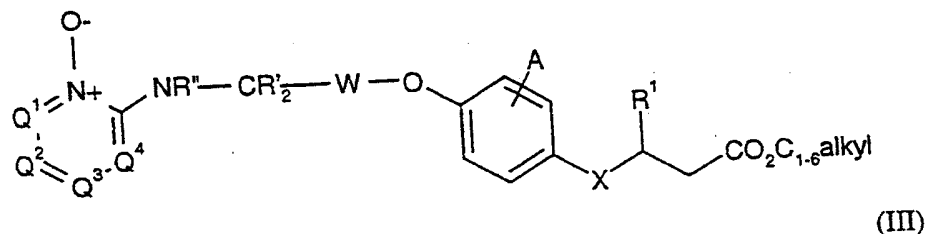
R^v znamená H, halogen, $-\text{OR}^s$, $-\text{SR}^s$, $-\text{CN}$, $-\text{NR}^s\text{R}^k$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CF}_3\text{S}(\text{O})_r-$, $-\text{CO}_2\text{R}^s$, $-\text{COR}^s$ nebo $-\text{CONR}^s_2$, nebo C_1 -6alkylovou skupinu případně substituovanou halogenem, $-\text{OR}^s$, $-\text{SR}^s$, $-\text{CN}$, $-\text{NR}^s\text{R}''$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CF}_3$, $\text{R}'\text{S}(\text{O})_r-$, $-\text{CO}_2\text{R}^s$, $-\text{COR}^s$ nebo $-\text{CONR}^s_2$;

27.11.00

a znamená 0, 1 nebo 2;
 b znamená 0, 1 nebo 2;
 k znamená 0, 1 nebo 2;
 r znamená 0, 1 nebo 2;
 s znamená 0, 1 nebo 2;
 u znamená 0 nebo 1; a
 v znamená 0 nebo 1;

nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl; nebo

sloučenina obecného vzorce (III):



kde

X znamená CR'R', NR', O nebo S;

Y znamená CR'R', NR', O nebo S;

A znamená skupinu ze skupiny zahrnující zahrnující H, halogen, -OR^s, -SR^s, -CN, -NR^sR^k, -NO₂, -CF₃, -S(O)_rCF₃, -CO₂R^s, -COR^s, -CONR^s₂C₁₋₆alkyl, -C₀₋₆alkyl-Ar, -C₀₋₆alkyl-Het, -C₀₋₆alkyl-C₃₋₆cykloalkyl, -S(O)_kR^s, a CH₂N(R^f)₂;

R¹ znamená skupinu ze skupiny zahrnující -C₀₋₆alkyl-Het, -C₀₋₆alkyl-Ar, H, -CN, a -S(O)_kR^s;

27.11.00

W znamená $-(CHR^s)_a-U-(CHR^s)_b-$;

U nemá žádný význam nebo znamená CO, CR^s_2 , $C(=CR^s_2)$, $S(O)_k$, O, NR^s , CR^sOR^s , $CR^s(OR^k)CR^s_2$, $CR^s_2CR^s(OR^k)$, $C(O)CR^s_2$, $CR^s_2C(O)$, $CONR^i$, NR^iCO , $OC(O)$, $C(O)O$, $C(S)O$, $OC(S)$, $C(S)NR^s$, $NR^sC(S)$, $S(O)_2NR^s$, $NR^sS(O)_2N=N$, NR^sNR^s , $NR^sCR^s_2$, $CR^s_2NR^s$, CR^s_2O , OCR^s_2 , $C\equiv C$, $CR^s=CR^s$, Ar nebo Het;

R^s znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C_1 -6alkyl, Het- C_0 -6alkyl, C_3 -7cykloalkyl- C_0 -6alkyl, a Ar- C_0 -6alkyl;

R^k znamená R^s , $-C(O)R^s$, nebo $-C(O)OR^f$;

R^i znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C_1 -6alkyl, Het- C_0 -6alkyl, C_3 -7cykloalkyl- C_0 -6alkyl, Ar- C_0 -6alkyl, nebo C_1 -6alkyl substituovaný jednou až třemi skupinami zvolenými ze skupiny zahrnující halogen, CN, NR^s_2 , OR^s , SR^s , CO_2R^s a $CON(R^s)_2$;

R^f znamená H, C_1 -6alkylovou nebo Ar- C_0 -6alkylovou skupinu;

Q^1 , Q^2 , Q^3 a Q^4 nezávisle znamenají N nebo $C-R^v$ s výhradou, že nejvýše jeden ze skupiny zahrnující Q^1 , Q^2 , Q^3 , a Q^4 znamená N;

R' znamená skupinu ze skupiny zahrnující H, C_1 -6alkyl, Ar- C_0 -6alkyl, a C_3 -6cykloalkyl- C_0 -6alkyl;

R'' znamená R' , $-C(O)R'$ nebo $C(O)OR'$;

R^v znamená H, halogen, $-OR^s$, $-SR^s$, $-CN$, $-NR^sR^k$, $-NO_2$,

27.11.00

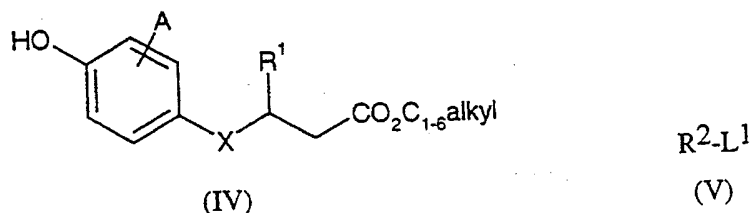
$-\text{CF}_3$, $-\text{CF}_3\text{S}(\text{O})_r-$, $-\text{CO}_2\text{R}^s$, $-\text{COR}^s$ nebo $-\text{CONR}^s_2$, nebo C_{1-6} alkylovou skupinu případně substituovanou halogenem, $-\text{OR}^s$, $-\text{SR}^s$, $-\text{CN}$, $-\text{NR}^s\text{R}'$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CF}_3$, $\text{R}'\text{S}(\text{O})_r-$, $-\text{CO}_2\text{R}^s$, $-\text{COR}^s$ nebo $-\text{CONR}^s_2$;

a znamená 0, 1 nebo 2; a

b znamená 0, 1 nebo 2;

nebo její farmaceuticky přijatelnou sůl.

34. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce (Ia) podle nároku 2, v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedený způsob zahrnuje reakci sloučeniny obecného vzorce (IV) se sloučeninou obecného vzorce V):



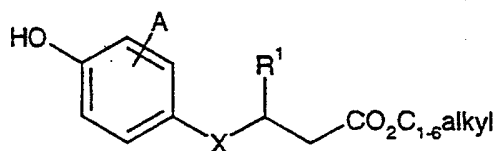
kde R^1 , A a X mají význam uvedený pro obecný vzorec (Ia) přičemž všechny reaktivní funkční skupiny jsou chráněné, a L^1 znamená OH nebo halogen;

a následné odstranění všech chránících skupin a případnou přípravu farmaceuticky přijatelné soli.

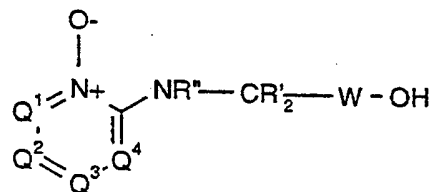
35. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce (Ia) podle nároku 2, v y z n a č u j í c í s e t í m , že uvedený

27.11.00

způsob zahrnuje reakci sloučeniny obecného vzorce (IV) se sloučeninou obecného vzorce (VI):



(IV)

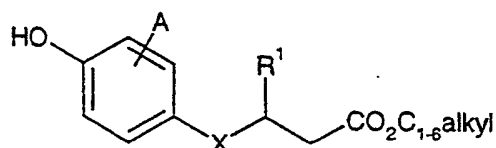


(VI)

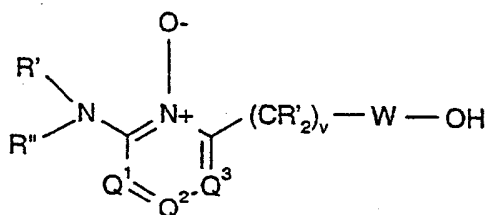
kde R^1 , A, X, R' , R'' , W, Q^1 , Q^2 , Q^3 a Q^4 mají význam uvedený pro obecný vzorec (Ia) přičemž všechny reaktivní funkční skupiny jsou chráněné;

a následné odstranění všech chránících skupin a případnou přípravu farmaceuticky přijatelné soli; nebo

způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce (Ia) podle nároku 2, kde uvedený způsob zahrnuje reakci sloučeniny obecného vzorce (IV) se sloučeninou obecného vzorce (VII):



(IV)



(VII)

kde R^1 , A, X, R' , R'' , W, Q^1 , Q^2 , Q^3 a v mají význam

27.11.00

uvedený pro obecný vzorec (Ia) přičemž všechny reaktivní funkční skupiny jsou chráněné;

a následné odstranění všech chránicích skupin a případnou přípravu farmaceuticky přijatelné soli.

36. Sloučenina podle kteréhokoli z nároků 1 až 20 pro použití jako léčivo.

37. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 1 při přípravě léčiva pro léčbu chorob s indikovaným antagonismem vůči receptoru $\alpha_v\beta_3$.

38. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 1 při přípravě léčiva pro léčbu chorob s indikovaným antagonismem vůči receptoru $\alpha_v\beta_5$.

39. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 1 při přípravě léčiva pro léčbu osteoporózy.

40. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 1 při přípravě léčiva pro inhibici angiogeneze, růstu tumoru nebo metastázování tumoru.

41. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 1 při přípravě léčiva pro léčbu aterosklerózy, restenózy nebo zánětu.

42. Použití sloučeniny obecného vzorce (I) podle nároku 1 a antineoplastického prostředku při přípravě léčiva určeného pro inhibici růstu tumoru ve formě podávání jejich fyzikální kombinace nebo ve formě jejich postupného podávání.

27.11.00

43. Použití podle nároku 43, kde antineoplastický prostředek je topotekan nebo cisplatina.