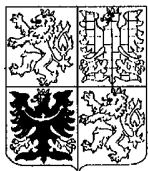


PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **09.04.1999**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **10.04.1998**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1998/081394**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **15.08.2001**
(Věstník č. 8/2001)

(86) PCT číslo: **PCT/US99/04297**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO99/52896**

(21) Číslo dokumentu:

2000 -3672

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 401/12	C 07 D 417/12
A 61 K 31/44	A 61 P 19/00
C 07 K 5/023	A 61 P 35/00
C 07 D 213/82	
C 07 D 495/10	
C 07 D 409/12	
C 07 D 333/38	
C 07 D 403/12	

(71) Přihlašovatel:

G. D. SEARLE & CO., Chicago, IL, US;

(72) Původce:

Chandrakumar Nizal Samuel, Vernon Hills, IL, US;
Desai Bipinchandra Nanubhai, Vernon Hills, IL, US;
Devadas Balekudru, Chesterfield, MO, US;
Huff Renne, Park Ridge, IL, US;
Khanna Ish K., Vernon Hills, IL, US;
Rao Shashidhar N., Mundelein, IL, US;
Rico Joseph G., Ballwin, MO, US;
Rogers Thomas E., Ballwin, MO, US;
Ruminski Peter G., Dardenne Prairie, MO, US;
Russell Mark Andrew, Gurnee, IL, US;
Yu Yi, Skokie, IL, US;
Gasiecki Alan Frank, Vernon Hills, IL, US;
Malecha James W., Libertyville, IL, US;
Miyashiro Julie M., Skokie, IL, US;

(74) Zástupce:

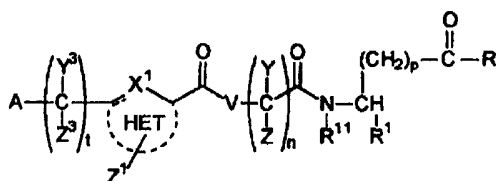
Kania František Ing., Mendlovo nám. 1a, Brno, 60300;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Heterocyklické glycyl-beta-alaninové deriváty
jako agonisté vitronektinu**

(57) Anotace:

Sloučeniny obecného vzorce I nebo jejich farmaceuticky přijatelné soli. Farmaceutické kompozice obsahující takovéto sloučeniny a jejich použití pro léčení stavů zprostředkovaných $\alpha_v\beta_3$ integrinem.



Heterocyklické glycy-l-beta-alaninové deriváty jako antagonisté vitronektinu

Oblast techniky

Vynález se týká farmaceutických látek (sloučenin), které jsou užitečné jako $\alpha_v \beta_3$ antagonisté integrinu a takto jsou užitečné ve farmakologických kompozicích a způsobech léčby stavů vyvolaných $\alpha_v \beta_3$ inhibicí nebo antagonním účinkem integrinů $\alpha_v \beta_3$.

Dosavadní stav techniky

Integriny jsou skupinou povrchových buněčných glykoproteinů, které umožňují buněčnou adhezi a slouží jako buněční zprostředkovatelé interakcí při buněčné adhezi, ke kterým dochází během různých buněčných procesů. Integriny jsou heterodimery skládající se z nekovalentně spojených polypeptidových podjednotek α a β . Dosud bylo nalezeno jedenáct různých podjednotek α a šest různých podjednotek β . Různé podjednotky α se mohou kombinovat s různými podjednotkami β za vzniku odlišných integrinů.

Integriny označované jako $\alpha_v \beta_3$ (známé též jako vitronektinový receptor) jsou považovány za integriny, které se podílejí na různých stavech nemoci nebo onemocněních zahrnujících metastázy tumoru, růst pevných tumorů (neoplazie), osteoporózu, Pagetovu nemoc, humorální hyperkalcémii při zhoubném bujení, angiogenezi, včetně angiogeneze tumoru, retinopatii, včetně makulární degenerace, artritidu, včetně revmatoidní artritidy, peridentální onemocnění, psoriázu a migraci buněk hladkých svalů (například restenózu). Bylo též zjištěno, že tyto látky by byly účinné jako antivirové, antifungální a antimikrobiální. Sloučeniny, které selektivně inhibují nebo antagonizují $\alpha_v \beta_3$ by tak byly účinné při léčbě těchto stavů.

Bylo prokázáno, že integriny $\alpha_v \beta_3$ a jiné obsahující integriny α_v , se vážou na makromolekuly matrixu obsahující Arg-Gly-Asp (RGD). Sloučeniny obsahující sekvence RGD se podobají ligandům extracelulárního matrixu tím, že se vážou na receptory buněčného povrchu. Je však také známo, že peptidy RGD jsou obecně neselektivní vůči

integrinům závislým na RGD. Například, většina peptidů RGD, které se vážou na $\alpha_v \beta_3$, se též vážou na $\alpha_v \beta_5$, $\alpha_v \beta_1$ a $\alpha_{IIb} \beta_3$. Antagonní účinek destičkového $\alpha_{IIb} \beta_3$ (známého též jako receptor fibrinogenu) se vyznačuje blokováním agregace destiček u člověka. Za účelem odstranění vedlejšího účinku krvácení při léčbě těchto stavů nebo onemocnění spojených s integrinem $\alpha_v \beta_3$ by bylo přínosem vyvinout sloučeniny, které jsou selektivními antagonisty $\alpha_v \beta_3$ s opačným účinkem jako $\alpha_{IIb} \beta_3$.

Invaze buněk tumoru probíhá ve třech krocích: 1) připojení buňky tumoru k extracelulárnímu matrixu; 2) proteolytické rozpuštění matrixu; a 3) pohyb buněk přes rozpuštěnou bariéru. Proces může proběhnout rychle za vzniku metastáz na místech odlišných od původního tumoru.

Seftor a kol. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 89 (1992) 1557-1561) zjistil, že integriny $\alpha_v \beta_3$ mají biologickou funkci při buněčné invazi melanomu. Montgomery a kol., (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 91 (1994) 8856-60) prokázal, že integrin $\alpha_v \beta_3$ exprimovaný na buňkách lidského melanomu vyvolává přežívací signál, ochraňující buňky od apoptózy. Přínosem by bylo zprostředkování cesty buněčných metastáz tumoru interferencí s $\alpha_v \beta_3$ integrinovým receptorem pro buněčnou adhezi za účelem zabránění metastázám tumoru.

Brooks a kol. (Cell, Vol. 79 (1994) 1157-1164) dokázal, že antagonisté $\alpha_v \beta_3$ mají terapeutický účinek při léčbě neoplazie (inhibice růstu pevného tumoru), jelikož systémová aplikace antagonistů $\alpha_v \beta_3$ způsobuje výraznou regresi různých histologicky odlišných lidských tumorů.

Adheze receptorového integrinu $\alpha_v \beta_3$ byla stanovena jako ukazatel angiogenních cév u kuřat a člověka, a proto hraje tento receptor významnou roli u angiogeneze nebo neovaskulizaci. Angiogeneze je charakterizována invazí, migrací a proliferací buněk hladkého svalstva a endoteliálních buněk. Antagonisté $\alpha_v \beta_3$ inhibují selektivně tento proces podnícením apoptózy buněk v neovaskulatuře. Růst nových cév nebo angiogeneze přispívá též k patologickému stavu, například diabetické retinopatie zahrnující makulární degeneraci (Adamis a kol., Amer. J. Ophthalmol., Vol. 118, (1994) 445-450) a revmatoidní artritidu (Peacock a kol., J. Exp. Med., Vol. 175, (1992), 1135-1138). Anta-

gonisté $\alpha_v \beta_3$ by proto byly terapeuticky užitečnými látkami při léčbě těchto stavů spojených s neovaskulizací (Brooks a kol., Science, Vol. 264, (1994), 569-571).

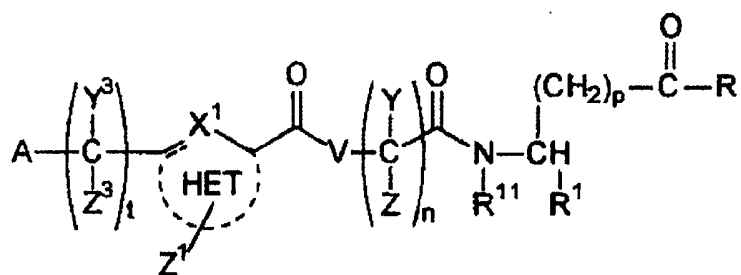
Bylo publikováno, že receptor buněčného povrchu $\alpha_v \beta_3$ je hlavní integrin na osteoklastech, zodpovědný za připojení ke kosti. Osteoklasty způsobují buněčnou resorpci a pokud tato aktivita, při níž dochází k resorbci kosti převládne nad aktivitu, při níž dochází k tvorbě kosti, výsledkem je osteoporóza (ztráta kostní hmoty), která vede ke zvýšení výskytu zlomenin kostí, invaliditě a zvýšení úmrtí. U antagonistů $\alpha_v \beta_3$ byla zjištěna významná schopnost inhibice osteoklastické aktivity *in vitro* [Sato a kol., J. Cell. Biol., Vol. 111 (1990) 1713-1723] a *in vivo* [Fisher a kol., Endocrinology, Vol. 132 (1993) 1411-1413]. Antagonismus $\alpha_v \beta_3$ vede ke snížení kostní resorpce, a proto udržuje normální rovnováhu mezi tvorbou a úbytkem kostní hmoty. Užitečné by bylo vytvoření antagonistů osteoklastu $\alpha_v \beta_3$, které jsou účinnými inhibitory kostní resorpce a jsou tak využitelné při léčbě nebo prevenci osteoporózy.

Význam integrinu $\alpha_v \beta_3$ v migraci buněk hladkého svalstva je též terapeutickým záměrem pro prevenci nebo inhibici neointimální hyperplasie, která je hlavní příčinou restenózy po vaskulárních zákrocích (Choi a kol., J. Vasc. Surg. Vol. 19(1) (1994) 125-34). Přínosem by byla prevence nebo inhibice neointimální hyperplazie pomocí farmaceutických látek za účelem prevence nebo inhibice restenózy.

White (Current Biology, Vol. 3(9) (1993) 596-599) uvedl, že adenovirus využívá $\alpha_v \beta_3$ pro vstup do hostitelské buňky. Integrin je zřejmě nezbytný pro endocytózu virové částice a může být nepostradatelný pro penetraci virového genomu do cytoplazmy hostitelské buňky. Sloučeniny, které inhibují $\alpha_v \beta_3$, by proto našly využití jako antivirové látky.

Podstata vynálezu

Vynález poshytuje třídy sloučenin obecného vzorce I

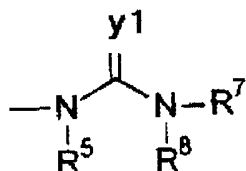


(I)

nebo jejich farmaceuticky přijatelných solí, kde



je 5 až 8 členný monocyklický heterocyklický kruh, volitelně nenasycený, obsahující 1 až 4 heteroatomy, vybrány ze skupiny obsahující O, N nebo S, kde X¹ je vybrán ze skupiny sestávající z CH, CH₂, N, NH, O a S;



kde Y¹ je vybráno ze skupiny sestávající z N-R², O a S;

R² je vybráno ze skupiny sestávající z H; alkylu; arylu; hydroxy; alkoxy; kyano; nitro; amino; alkenylu; alkynylu; amido; alkylkarbonylu; arylkarbonylu; alkoxykarbonylu; aryloxykarbonylu; halogenalkylkarbonylu; halogenalkoxykarbonylu; alkylthiokarbonylu; arylthiokarbonylu; acyloxymethoxykarbonylu; alkylu volitelně substituovaného jedním nebo více substituenty vybranými z nižšího alkylu, halogenu, hydroxylu, halogenalkylu, kyano, nitro, karboxylu, amino, alkoxy, arylu nebo arylu volitelně substituovaného jedním nebo více substituenty vybranými z halogenu, halogenalkylu, nižšího alkylu, alkoxy,

kyano, alkylsulfonylu, alkylthio, nitro, karboxyl, amino, hydroxyl, kyseliny sírové, sulfonamidu, arylu, kondenzovaného arylu, monocyklických heterocyklů nebo kondenzovaných monocyklických heterocyklů; aryl volitelně substituován jedním nebo více substituenty vybranými z halogenu, halogenalkylu, hydroxy, nižšího alkylu, alkoxy, methylenedioxy, ethylendioxy, kyano, nitro, alkylthio, alkylsulfonylu, kyseliny sírové, sulfonamidu, karboxylových derivátů, amino, arylu, kondenzovaného arylu, monocyklických heterocyklů nebo kondenzovaných monocyklických heterocyklů; a monocyklických heterocyklů, které jsou volitelně substituovány jedním nebo více substituenty vybranými z halogenu, halogenalkylu, nižšího alkylu, alkoxy, amino, nitro, hydroxy, karboxy, karboxylových derivátů, kyano, alkylthio, alkylsulfonylu, kyseliny sírové, sulfonamidu, arylu nebo kondenzovaného aryl; nebo

R^2 tvoří spolu s R^7 4 až 12 členný heterocyklus obsahující dva atomy dusíku volitelně substituován jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny zahrnující nižší alkyl, thioalkyl, alkylamino, hydroxy, keto, alkoxy, halogen, fenyl, amino, karboxyl nebo ester karboxylu a kondenzovaný fenyl;

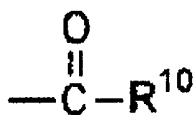
R^2 tvoří spolu s R^7 4 až 12 členný heterocyklus obsahující jeden nebo více heteroatomů vybraných ze skupiny zahrnující O, N a S, volitelně nenasycený;

R^2 tvoří spolu s R^7 5 až 9 členný heteroaromatický cyklus volitelně substituován jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny zahrnující nižší alkyl, fenyl, alkoxy a hydroxy skupinu;

R^2 tvoří spolu s R^7 5 členný heteroaromatický cyklus kondenzovaný s arylovým nebo heteroarylovým kruhem;

R^7 (pokud není současně s R^2) a R^8 jsou nezávisle vybrány ze skupiny sestávající z H; alkylu; alkenylu; alkynylu; aralkylu; amino; alkylamino; hydroxy; alkoxy; arylamino; amido, alkylkarbonylu, arylkarbonylu; alkoxykarbonylu; aryloxy; aryloxykarbonylu; halogenalkylkarbonylu; halogenalkoxykarbonylu; alkylthiokarbonylu; arylthiokarbonylu, acyloxymethoxykarbonylu; cykloalkylu; bicykloalkylu; arylu; acylu; benzoylu; alkylu volitelně substituovaného jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny zahrnující nižší alkyl, halogen, hydroxy, halogenalkyl, kyano, nitro, karboxylové deriváty, amino skupinu, alkoxy, thio, alkylthio, sulfonyl, aryl, aralkyl, aryl volitelně substituovaný jedním

nebo více substituenty vybranými ze skupin zahrnující halogen, halogenalkyl, nižší alkyl, alkoxy skupinu, methylenedioxy, ethylenedioxy, alkylthio, halogenalkylthio, thio, hydroxy, kyano, nitro, karboxylové deriváty, aryloxy, amido, acylamino, amino, alkylamino, dialkylamino, trifluoralkoxy, trifluormethyl, sulfonyl, alkylsulfonyl, halogenalkylsulfonyl, kyselinu sírovou, sulfonamid, aryl, kondenzovaný aryl, monocyklické heterocykly, kondenzované monocyklické heterocykly; aryl volitelně substituován jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny zahrnující halogenid, halogenalkyl, nižší alkyl, alkoxy, methylenedioxy, ethylenedioxy, alkylthio, haloalkylthio, thio, hydroxy, kyano, nitro, karboxylové deriváty, aryloxy, amido, acylamino, amino, alkylamino, dialkylamino, trifluoralkoxy, trifluormethylsulfonyl, alkylsulfonyl, kyselinu sírovou, sulfonamid, aryl, kondenzovaný aryl, monocyklické heterocykly nebo kondenzované monocyklické heterocykly; monocyklické heterocykly volitelně substituovány jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny zahrnující halogenid, halogenalkyl, nižší alkyl, alkoxy, aryloxy, amino, nitro, hydroxy, karboxylové deriváty, kyano, alkylthio, alkylsulfonyl, aryl, kondenzovaný aryl; monocyklické a bicyklické heterocyklické alkyly; $-\text{SO}_2\text{R}^{10}$, kde R^{10} je vybrán ze skupiny zahrnující alkyl, aryl a monocyklické heterocykly, všechny volitelně substituovány jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z halogenu, halogenalkylu, alkylu, alkoxy, kyan, nitro, amino, acylamino, trifluoralkylu, amido, alkylaminosulfonylu, alkylsulfonylu, alkylsulfonylamino, alkylamino, dialkylamino, trifluormethylthio, trifluoralkoxy, trifluormethylsulfonylu, arylu, aryloxy, thio, alkylthio a monocyklických heterocyklů; a



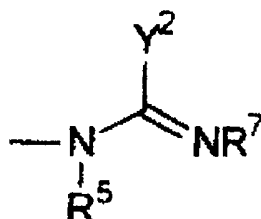
kde R^{10} je definován výše;

NR^7 a R^8 spolu tvoří 4 až 12 členný monocyklický nebo bicyklický kruh obsahující jeden atom dusíku volitelně substituovaný jedním nebo více substituenty vybranými ze skupi-

ny zahrnující nižší alkyl, karboxalové deriváty, aryl nebo hydroxy skupinu, a kde uvedený kruh volitelně obsahuje heteroatom vybraný ze skupiny zahrnující O, N a S;

R^5 je vybrán ze skupiny sestávající z H, alkylu, alkenylu, alkynylu, benzylu a fenethylu; nebo

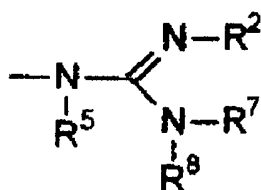
A je



kde Y^2 je vybrán ze skupiny sestávající z alkylu; cykloalkylu; bicykloalkylu; arylu; monocyklických heterocyklů; alkylu volitelně substituovaného arylem, který může být též substituován jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny zahrnující halogen, halogenalkyl, alkyl, nitro, hydroxy, alkoxy, aryloxy, aryl, nebo kondenzovaný aryl; aryl volitelně substituovaný jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny zahrnující halogen, halogenalkyl, hydroxy, alkoxy, aryloxy, aryl, kondenzovaný aryl, nitro, methylenedioxy, ethylendioxy skupinu, nebo alkyl; alkynyl; alkenyl; $-S-R^9$ a $O-R^9$, kde R^9 je vybrán ze skupiny zahrnující H; alkyl; aralkyl; aryl; alkenyl; a alkynyl; nebo R^9 tvoří spolu s R^7 4 až 12 členný heterocyklický kruh obsahující jeden atom dusíku a jeden atom síry nebo jeden atom kyslíku, volitelně substituovaný nižším alkylem, hydroxy skupinou, keto, fenyl, karboxyl nebo esterem karboxylu a kondenzovaným fenylem; nebo R^9 spolu s R^7 je thiazol; oxazol; benzoxazol; nebo benzothiazol; a R^5 a R^7 jsou definovány výše;

Y^2 (když Y^2 je uhlík) spolu s R^7 tvoří 4 až 12 členný kruh obsahující jeden atom dusíku nebo dva atomy dusíku, volitelně substituovaný alkylem, arylem, keto nebo hydroxy skupinou;

A je

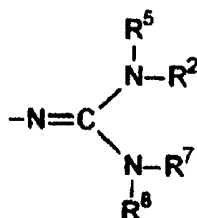


kde R^2 a R^7 tvoří 5 až 8 členný heterocyklus obsahující dva atomy dusíku, volitelně substituovaný jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny zahrnující nižší alkyl, hydroxy, alkoxy, keto, fenyl nebo karboxylové deriváty; a R^8 je vybrán ze skupiny zahrnující alkylkarbonyl, arylkarbonyl, alkoxykarbonyl, aryloxykarbonyl, halogenalkylkarbonyl, halogenalkoxykarbonyl, alkylthiokarbonyl, arylthiokarbonyl nebo acyloxymethoxykarbonyl; a

R^5 je definován výše

R^2 a R^7 tvoří dohromady heteroaromatický kruh, jako například imidazol nebo pyrimidon;

A je



kde R^2 a R^7 tvoří 5 až 8 členný heterocyklus obsahující dva atomy dusíku, volitelně substituován hydroxy, keto, fenyl nebo alkyl skupinou; a

R^8 je vybrán ze skupiny sestávající z alkylkarbonylu, acylkarbonylu, alkoxykarbonylu, aryloxykarbonylu, halogenalkylkarbonyl, halogenalkoxykarbonylu, alkylthiokarbonylu, arylthiokarbonylu a acyloxymethoxykarbonylu;

Z^1 je jeden nebo více substituentů vybraných ze skupiny sestávající z H; alkylu; hydroxy; alkoxy; aryloxy; halogenu; halogenalkylu; halogenalkoxy; nitro; amino; alkylamino; acylamino; dialkylamino; kyano; alkylthio; alkylsulfonyl; karboxylové deriváty; tri-

halogenacetamidu; acetamidu; acylu; arylu; kondenzovaného arylu; cykloalkylu; thio; monocyklických heterocyklů; kondenzovaných monocyklických heterocyklů; a A, kde A je definován výše; V je vybrán ze skupiny sestávající z $-N(R^6)-$, kde R^6 je vybrán ze skupiny sestávající z H; nižšího alkylu; cykloalkylu; aralkylu; arylu; a monocyklických heterocyklů; nebo R^6 tvoří spolu s Y 4 až 12 členný kruh obsahující jeden atom dusíku;

Y, Y^3 , Z a Z^3 jsou nezávisle vybrány ze skupiny sestávající z vodíku; alkylu; a cykloalkylu; nebo Y a Z spolu tvoří cykloalkyl; nebo Y^3 a Z^3 spolu tvoří cykloalkyl;

n je celé číslo 1, 2 nebo 3

t je celé číslo 0, 1 nebo 2;

p je celé číslo 0, 1 nebo 3;

R je $X-R^3$, kde X je vybráno ze skupiny sestávající z O, S a NR^4 , kde R^3 a R^4 jsou nezávisle vybrány ze skupiny zahrnující vodík; alkyl; alkenyl; alkynyl; halogenalkyl; aryl; arylalkyl; cukry; steroidy; polyalkylethery; alkylamido; alkyl-(N,N-dialkylamid); pivaloyloxymethyl; a v případě volné kyseliny, všechny jejich farmaceuticky přijatelné soli;

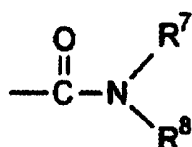
R^1 je vybrán ze skupiny sestávající z vodíku, alkylu, alkenylu; alkynylu; arylu; karboxylových derivátů; halogenalkylu; cykloalkylu; monocyklických heterocyklů; monocyklických heterocyklů volitelně substituované alkylem, halogenidem, halogenalkylem, kyano, hydroxy, aryl, kondenzovaný aryl, nitro, alkoxy, aryloxy, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, sulfonamid, thio, alkylthio, karboxylovými deriváty, amino a amido skupinou;

alkyl volitelně substituovaný jedním nebo více halogeny, halogenalkylem, hydroxy, alkoxy, aryloxy, thio, alkylthio, alkynyl, alkenyl, alkyl, arylthio, alkylsulfoxidem, alkylsulfonylem, arylsulfoxidem, arylsulfonylem, kyano, nitro, amino, alkylamino, dialkylamino, alkylsulfonamid, arylsulfonamid, acylamid, karboxylovými deriváty, sulfonamidem, kyselinou sírovou, deriváty kyseliny fosforečné, deriváty kyseliny fosforité, arylem, arylthio, arylsulfoxidem, nebo arylsulfonem, ve všech případech volitelně substituovanými na arylovém kruhu halogenem, alkylem, halogenalkylem, kyano, nitro, hydroxy, karboxylovými deriváty, alkoxy skupinou, aryloxy, amino, alkylamino, dialkylamino, amido, aryl, kondenzovaným arylem, monocyklickými heterocykly; a kondenzovanými monocyklickými heterocykly, monocyklickou heterocyklothio skupinou, monocyklickým heterocyklo-sulfoxidem; a monocyklickým heterocyklosulfonem, který může být volitelně sub-

stituoován halogen skupinou, halogenalkylem, nitro, hydroxy, alkoxy, kondenzovaným arylem nebo alkyl skupinou;

alkylkarbonyl, halogenalkylkarbonyl a arylkarbonyl;

aryl volitelně substituován v jedné nebo více pozicích halogenidem, halogenalkyl, alkyl, alkoxy, aryloxy, methylendioxy, ethylendioxy, alkylthio, halogenalkylthio, thio, hydroxy, kyano, nitro, acyloxy skupinou, karboxylovými deriváty, karboxyalkoxy skupinou, amido, acylamino, amino, alkylamino, dialkylamino, trifluoralkoxy, trifluormethylsulfonyl, alkylsulfonyl skupinou, kyselinou sírovou, sulfonamidem, arylem, kondenzovaným arylem, monocyklickými heterocykly a kondenzovanými monocyklickými heterocykly; a

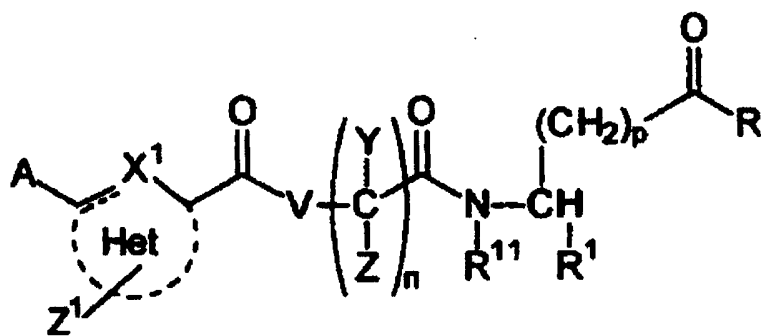


kde R^7 a R^8 jsou definovány výše a spolu s dusíkem R^7 a R^8 zahrnují aminokyselinu a R^{11} je vybrán ze skupiny zahrnující H, alkyl, aralkyl, alkenyl, alkynyl, halogenalkyl nebo halogenalkynyl nebo R^{11} spolu s Y tvoří 4 až 12 členný kruh obsahující jeden atom dusíku.

Dalším předmětem vynálezu je farmaceutická kompozice zahrnující sloučeniny obecného vzorce I. Tyto sloučeniny a kompozice jsou využitelné jako selektivní inhibitory nebo antagonisté integrinu $\alpha_v \beta_3$, a proto se v jiném provedení vynález poskytuje způsob selektivní inhibice nebo antagonního účinku integrinu $\alpha_v \beta_3$. Vynález dále zahrnuje léčbu nebo inhibici patologických stavů spojených například s osteoporózou, humorální hyperkalcemií při maligním onemocnění, Pagetova tumoru, metastázami tumoru, růstem pevného tumoru (neoplasie), angiogenezou, včetně angiogeneze tumoru, retinopatii včetně makulární degenerace a diabetickou tetinopatii, artritidu, včetně revmatoidní artritidy, peridentální onemocnění, psoriázu, migraci buněk hladkého svalstva a restenózu u savců, vyžadující tuto léčbu. Tyto farmaceutické látky jsou navíc využitelné jako antivirové látky a antimikrobiální látky.

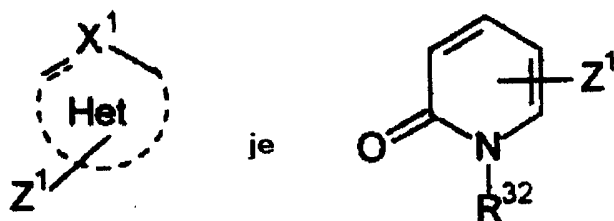
Vynález poskytuje třídu sloučenin obecného vzorce I, popsaným výše.

Výhodným provedením podle vynálezu je sloučenina obecného vzorce II



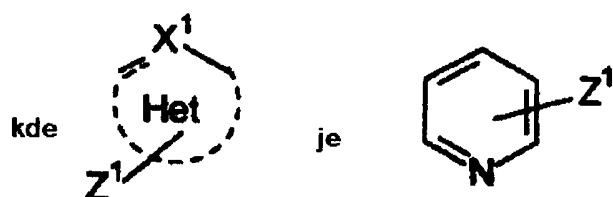
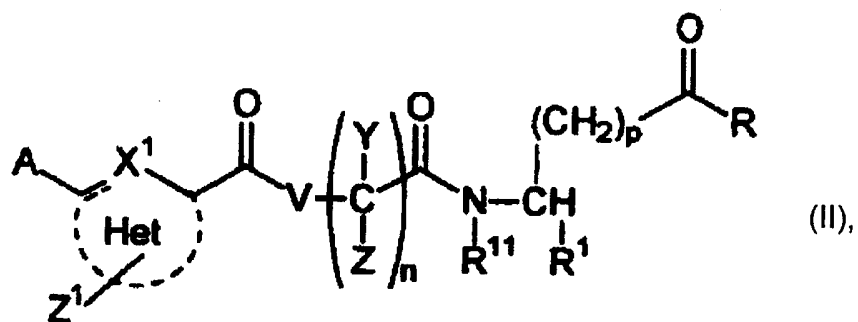
(II),

kde



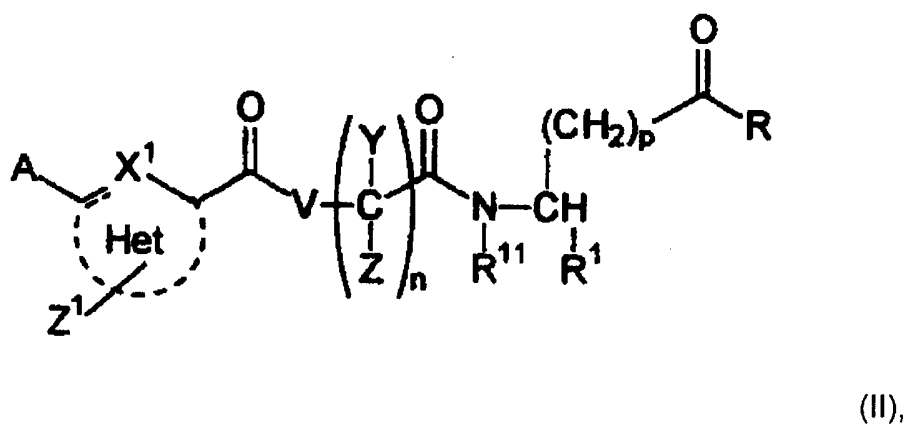
kde R^{32} je H, alkyl, alkoxyalkyl, aminoalkyl, dialkylaminoalkyl, kde alkylová skupina je volitelně substituována jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny zahrnující hydroxy skupinu, alkoxy, amino, alkylamino, dialkylamino, aryl- nebo alkyl-sulfonyl, karboxylovou skupinu a karboxylové deriváty a jiné obměny jak je popsáno v obecném vzorci I.

Jiným výhodným provedením vynálezu je sloučenina obecného vzorce II

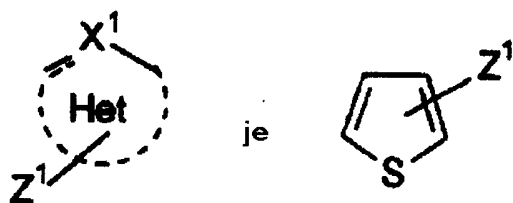


volitelně substituována, jiné obměny jsou definovány obecným vzorcem I výše.

Jiným výhodným provedením podle vynálezu je sloučenina obecného vzorce II

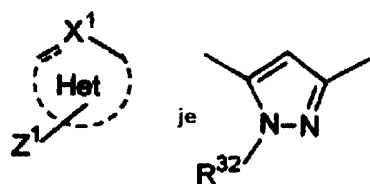
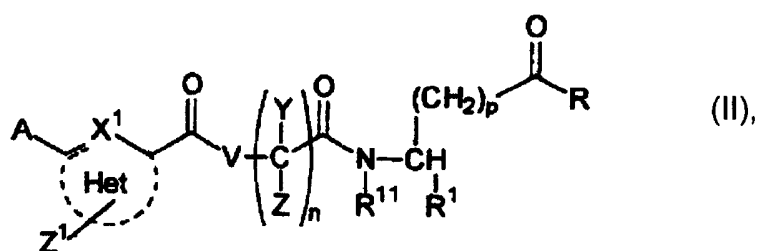


kde



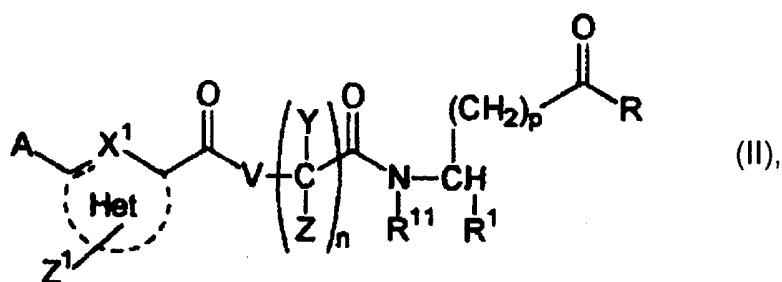
volitelně substituován a jiné obměny jsou definovány obecným vzorcem I výše.

Jiným výhodným provedením podle vynálezu je sloučenina obecného vzorce II

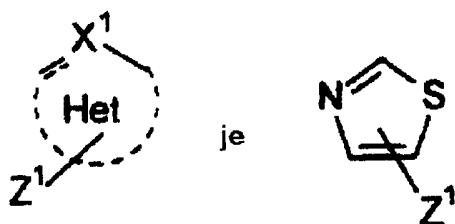


volitelně substituována a jiné obměny jsou definovány obecným vzorcem I výše.

Jiným výhodným provedením podle vynálezu je sloučenina obecného vzorce II



kde



volitelně substituována a jiné obměny jsou definovány v obecném vzorci I výše.

Vynález se dále poskytuje farmaceutické kompozice obsahující terapeuticky účinná množství sloučenin obecných vzorců I nebo II.

Vynález se též poskytuje způsob selektivní inhibice nebo antagonního účinku $\alpha_v\beta_3$ integrinu a přesněji se týká způsobu inhibice kostní resorpce, peridentální onemocnění, osteoporózy, humorální hyperkalcemie u maligního onemocnění, Pagetova tumoru, metasáz tumoru, růstem pevného tumoru (neoplasie), angiogenezou, zahrnující angiogenesu tumoru, retinopatii, zahrnující makulární degeneraci a diabetickou retinopatii, artritidu, zahrnující revmatoidní artritidu, peridentální onemocnění, psoriázu, migraci buněk hladkého svalstva a restenózu aplikací terapeuticky účinného množství sloučeniny obecných vzorců I až VI pro dosažení této inhibice spolu s farmaceuticky přijatelným nosičem.

Následuje seznam definicí různých pojmů zde používaných:

Pojem „alkyl“ nebo „nižší alkyl“, jak se zde užívá, se týká nerozvětveného nebo rozvětveného řetězce uhlovodíkových radikálů obsahujícího 1 až 10 uhlíkových atomů, výhodněji 1 až 6 uhlíkových atomů.

Příkladem těchto radikálů je methyl, ethyl, n-propyl, izopropyl, n-butyl, izobutyl, sek.butyl, t-butyl, pentyl, neopentyl, hexyl, izohexyl a podobně.

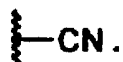
Pojem „alkenyl“ nebo „nižší alkenyl“ se týká nenasycených acyklických uhlovodíkových radikálů obsahujících alespoň jednu dvojnou vazbu a 2 až 6 uhlíkových atomů, kde dvojná vazba mezi uhlíky může být v cis nebo trans poloze u alkenylové skupiny, vzhledem ke skupinám substituovaných na uhlíkových atomech s dvojnou vazbou. Příkladem těchto skupin je ethenyl, propenyl, butenyl, izobutenyl, pentenyl, hexenyl a podobně.

Pojem „alkynyl“ nebo „nižší alkynyl“, jak se zde užívá, se týká necyklických uhlovodíkových radikálů obsahujících jednu nebo více trojných vazeb a 2 až 6 uhlíkových atomů. Příkladem těchto skupin je ethynyl, propynyl, butynyl, pentynyl, hexynyl a podobně.

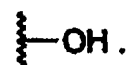
Pojem „cykloalkyl“, jak se zde užívá, představuje nasycené nebo částečně nenasycené cyklické uhlíkové radikály obsahující 3 až 8 uhlíkových atomů a výhodněji 4 až 6 uhlíkových atomů. Příklady těchto cykloalkylových radikálů zahrnují cyklopropyl, cyklopropenyl, cyklobutyl, cyklopentyl, cyklohexyl, 2-cyklohexen-1-yl a podobně.

Pojem „aryl“, jak se zde užívá, představuje aromatické cyklické systémy obsahující jeden nebo více aromatických kruhů. Pojem zahrnuje aromatické radikály, jako například fenyl, pyridyl, naftyl, thiofen, furan, bifenyl a podobně.

Pojem „kyan“, jak se zde užívá, charakterizuje radikál vzorce



Pojmy „hydroxy“ a „hydroxyl“, jak se zde užívá, jsou synonyma a charakterizuje je radikál vzorce



Radikál vzorce

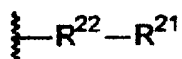


se týká 5 až 10 členného heterocyklu, volitelně nenasyceného, obsahujícího 1 až 3 heteroatomy vybrané ze skupiny zahrnující O, N a S; kde X^1 je CH, N, O nebo S. Charakteristické příklady těchto radikálů zahrnují pyridony, pyridiny, pyrimidiny, imidazoly, oxazoly, isoxazoly, thiazoly, pyridaziny, thiofeny, furany, pyrazoly a bicyklické heterocykly, například benzimidazol, imidazopyridin, benzofuran a podobně.

Pojem „nižší alkylen“ nebo „alkylen“, jak se zde užívá, se týká divalentních lineárních nebo rozvětvených nasycených uhlovodíkových radikálů, obsahujících 1 až 6 uhlíkových atomů.

Pojem „alkoxy“, jako se zde užívá, se týká nerozvětveného nebo rozvětveného řetězce obsahujícího kyslíkové radikály vzorce $-OR^{20}$, kde R^{20} je alkylová skupina, jak je definováno výše. Příklady alkoxy skupin zahrnují methoxy, ethoxy, n-propoxy, n-butoxy, isopropoxy, isobutoxy, sek.butoxy, t-butoxy a podobně.

Pojem „arylalkyl“ nebo „aralkyl“ se týká radikálu obecného vzorce



kde R^{21} je aryl definován výše a R^{22} je alkylen, jak je uvedeno výše. Příklady alkylových skupin zahrnují benzyl, pyridylmethyl, naftylpropyl, fenethyl a podobně.

Pojem „nitro“, jak se zde užívá, představuje radikál vzorce



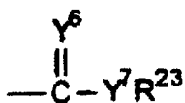
Pojem „halo“ nebo „halogen“ představuje brom-, chlor-, fluor- a jod-.

Pojem „halogenalkyl“, jak se zde užívá, se týká alkylových skupin, definovaných výše, substituovaných jednou nebo více stejnými nebo odlišnými halogen skupinami na jednom nebo více uhlíkových atomech. Příklady halogenalkylových skupin zahrnují trifluormethyl, dichlorethyl, fluorpropyl a podobně.

Pojem „karboxyl“ nebo „karboxy“ jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce $-COOH$.

Pojem „ester karboxylu“ se týká radikálu vzorce $-COOR^{23}$, kde R^{23} je vybrán ze skupiny sestávající z H, alkylu, aralkylu nebo arylu, jak je definováno výše.

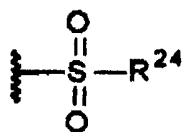
Pojem „karboxylový derivát“, jak se zde užívá, se týká radikálu obecného vzorce



kde Y^6 a Y^7 jsou nezávisle vybrány ze skupiny sestávající z O, N nebo S a R^{23} je vybrán ze skupiny zahrnující H, alkyl, aralkyl nebo aryl, jak je definováno výše.

Pojem „amino“, jak se zde užívá, představuje radikál vzorce $-NH_2$.

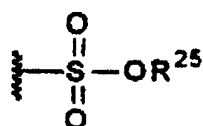
Pojem „alkylsulfonyl“ nebo „alkylsulfon“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



kde R^{24} je alkyl, definován výše.

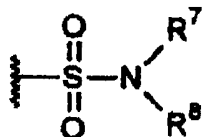
Pojem „alkylthio“ se týká radikálu vzorce -SR^{24} , kde R^{24} je alkyl definován výše.

Pojem „kyselina sírová“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



kde R^{25} je alkyl, definován výše.

Pojem „sulfonamid“ se týká radikálu vzorce



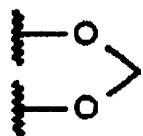
kde R^7 a R^8 jsou definovány výše.

Pojem „kondenzovaný aryl“, jak se zde užívá, představuje aromatický kruh, kde jsou arylové skupiny, definovány výše, sloučeny do jednoho nebo více fenylových kruhů. Pojem „kondenzovaný aryl“ je radikál naftyl a podobně.

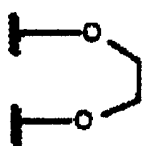
Pojem „monocyklický heterocyklus“ nebo „monocyklickoheterocyklický“, jak se zde užívá, se týká monocyklického kruhu obsahujícího 4 až 12 atomů, výhodněji 5 až 10 atomů, z nichž 1 až 3 atomy jsou heteroatomy vybrány ze skupiny zahrnující kyslík, dusík a síru s tím, že v případě dvou nebo více různých heteroatomů musí být jedním z heteroatomů dusík. Charakteristickým příkladem takového monocyklického heterocyklu je imidazol, furan, pyridin, oxazol, pyran, triazol, thiofen, pyrazol, thiazol, thiadiazol a podobně.

Pojem „kondenzovaný monocyklický heterocyklus“, jak se zde užívá, se týká monocyklického heterocyklu, jak je definováno výše, kondenzovaného s benzenem. Příklady těchto kondenzovaných monocyklických heterocyklů zahrnují benzofuran, benzo-pyran, benzodioxol, benzothiazol, benzothiolen, benzimidazol a podobně.

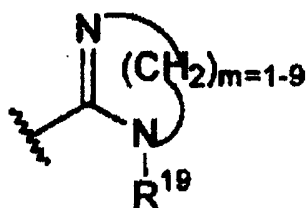
Pojem „methylendioxy“, jak se zde užívá, se týká radikálu



a pojem „ethylenedioxy“ se týká radikálu

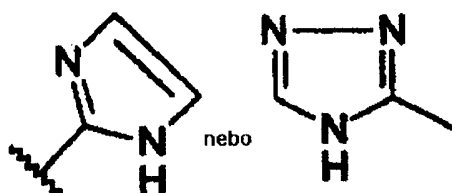


Pojem „4 až 12 členný heterocyklus obsahující dva dusíkové atomy, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



kde m je 1 nebo 2 a R^{19} je H, alkyl, aryl nebo aralkyl a výhodněji se týká 4 až 9 členného kruhu a zahrnuje například imidazolin.

Pojem „5-členný volitelně substituovaný heteroaromatický kruh, jak se zde užívá, zahrnuje například radikál vzorce

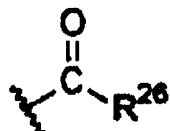


a „5-členný heteroaromatický kruh kondenzovaný s fenylem“, se týká tohoto „5-členného heteroaromatického kruhu“ s fenylem k němu připojeným.

Charakteristickým příkladem takového 5-členného heteroaromatického kruhu kondenzovaného s fenylem, je benzimidazol.

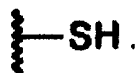
Pojem „bicykloalkyl“, jak se zde užívá, se týká bicyklického uhlovodíkového radikálu obsahujícího přibližně 6 až 12 uhlíkových atomů, který je nasycený nebo částečně nenasycený.

Pojem „acyl“ jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce

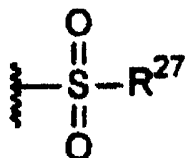


kde R^{26} je alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl nebo aralkyl a je volitelně substituován, jak je definováno výše. Tento radikál zahrnuje skupiny acetyl, benzoyl a podobně.

Pojem „thio“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



Pojem „sulfonyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



kde R^{27} je alkyl, aryl nebo aralkyl, jak je definováno výše.

Pojem „halogenalkylthio“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce

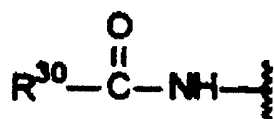
---S-R^{28} , kde R^{28} je halogenalkyl, jak je definováno výše.

Pojem „aryloxy“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



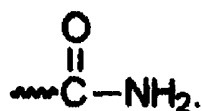
kde R^{29} je aryl definován výše.

Pojem „acylamin“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



kde R^{30} je alkyl, aralkyl nebo aryl, jak je definováno výše.

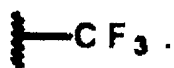
Pojem „amido“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



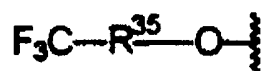
Pojem „alkylamino“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce $-NHR^{32}$, kde R^{32} je alkyl definován výše.

Pojem „dialkylamino“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce $-NR^{33}R^{34}$, kde R^{33} a R^{34} jsou stejné nebo odlišné alkylové skupiny definovány výše.

Pojem „trifluormethyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce

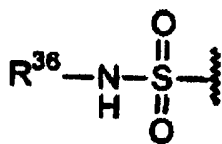


Pojem „trifluoralkoxy“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



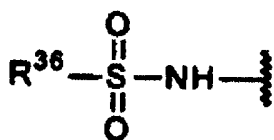
kde R^{35} , kde R^{35} je vazba nebo alkylen, definován výše.

Pojem „alkylaminosulfonyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



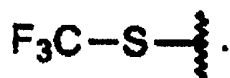
kde R^{36} je alkyl definován výše.

Pojem „alkylsulfonylamino“, se týká radikálu vzorce

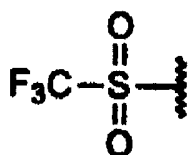


kde R^{36} je alkyl definován výše.

Pojem „trifluormethylthio“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce

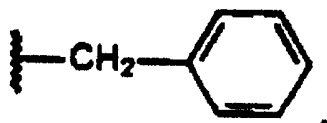


Pojem „trifluormethylsulfonyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce

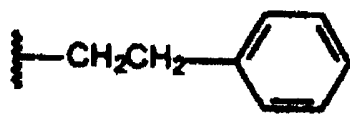


Pojem „4 až 12 členný cyklický nebo bicyklický kruh obsahující dusík“, se týká nasyceného nebo částečně nenasyceného monocyklického nebo bicyklického kruhu obsahujícího 4 až 12 atomů, výhodněji kruhu obsahujícího 4 až 9 atomů, kde jedním z atomů je dusík. Tyto kruhy mohou navíc volitelně obsahovat heteroatomy, vybrané ze skupiny zahrnující dusík, kyslík nebo síru. Tato skupina zahrnuje morfolin, piperidin, piperazin, thiomorfolin, pyrrolidin, prolin, azacyklohepten a podobně.

Pojem „benzyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu

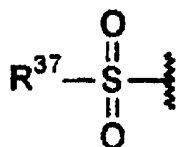


Pojem „fenethyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu



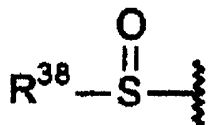
Pojem „4 až 12 členný heterocyklický kruh obsahující jeden atom dusíku, síry a kyslíku“, jak se zde užívá, se týká kruhu obsahujícího 4 až 12 atomů, výhodněji 4 až 9 atomů, kde alespoň jedním atomem je dusík a alespoň jedním atomem je kyslík nebo síra. Tato definice zahrnuje kruhy, například thiazolin a podobně.

Pojem „arylsulfonyl“ nebo „arylsulfon“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



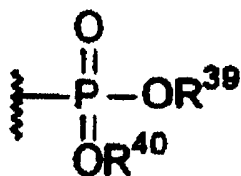
kde R^{37} je aryl definován výše.

Pojem „alkylsulfoxid“, nebo „arylsulfoxid“, jak se zde užívá, se týká radikálů vzorce



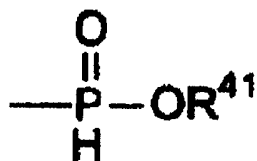
kde R^{38} je alkyl nebo aryl definován výše.

Pojem „derivát kyseliny fosforité“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



kde R^{39} a R^{40} může být H, alkyl, aryl nebo aralkyl.

Pojem „deriváty kyseliny fosforové, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



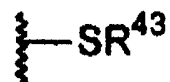
kde R^{41} je H, alkyl, aryl nebo aralkyl definován výše.

Pojem „arylthio“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



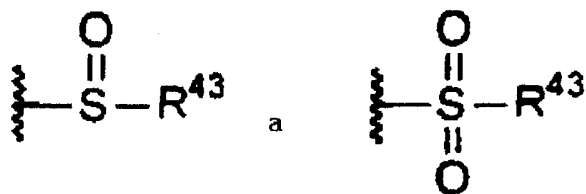
kde R^{42} je aryl definován výše.

Pojem „monocyklický thioheterocyklus“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



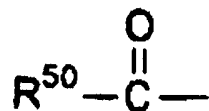
kde R^{43} je radikál monocyklického heterocyklu definován výše.

Pojem „sulfoxid monocyklického heterocyklu“ a „sulfon monocyklického heterocyklu“ se týká respektive radikálů vzorce



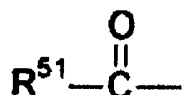
kde R^{43} je radikál monocyklického heterocyklu definován výše.

Pojem „alkylkarbonyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



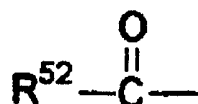
kde R^{50} je alkyl definován výše.

Pojem „arylkarbonyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



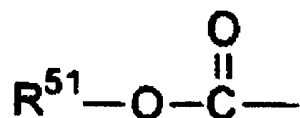
kde R^{51} je aryl definován výše.

Pojem „alkoxykarbonyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



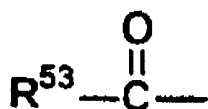
kde R^{52} je alkoxy skupina definována výše.

Pojem „aryloxykarbonyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



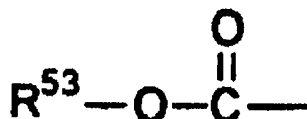
kde R^{51} je aryl definován výše.

Pojem „halogenalkylkarbonyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



kde R^{53} je halogenalkyl definován výše.

Pojem „halogenalkoxykarbonyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



kde R^{53} je halogenalkyl definován výše.

Pojem „alkylthiokarbonyl“ se týká radikálu vzorce



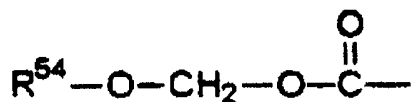
kde R^{50} je alkyl definován výše.

Pojem „arylthiokarbonyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



kde R^{51} je aryl definován výše.

Pojem „acyloxymethoxykarbonyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce

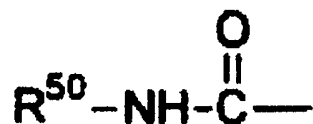


kde R^{54} je acyl definován výše.

Pojem „arylamin“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce $R^{51}-NH-$, kde R^{51} je aryl definován výše.

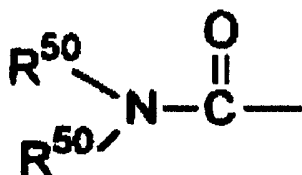
Pojem „polyalkylether“, jak se zde užívá, se týká běžně používaných glykolů, jako například triethylenglykolu, tetraethylenglykolu, polyethylenglykolu a podobně.

Pojem „alkylamid“ se týká radikálu vzorce



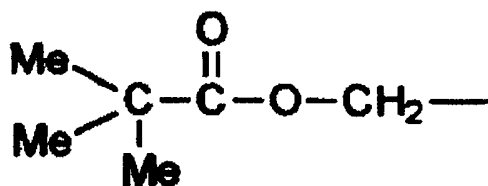
kde R^{50} je alkyl definován výše.

Pojem „N,N-dialkylamid“ se týká radikálu vzorce



kde R^{50} je shodná nebo odlišná alkylová skupina definována výše.

Pojem „pivaloyloxymethyl“, jak se zde užívá, se týká radikálu vzorce



Pojem „acyloxy“ se týká radikálu vzorce $\text{R}^{55}-\text{O}-$, kde R^{55} je acyl definován výše.

Pojem „kompozice“, jak se zde užívá, představuje produkt, který vznikne ze směsi nebo kombinací více než jedné složky nebo přísady.

Pojem „farmaceuticky přijatelný nosič“, jak se zde užívá, představuje farmaceuticky přijatelnou látku, kompozici nebo nosič, například tekuté nebo pevné plnidlo, ředidlo, nosič, rozpouštědlo nebo enkapsulující látku ve funkci nosiče nebo přenašeče chemické látky.

Pojem „terapeuticky účinné množství“ znamená takové množství léčiva nebo farmaceutické látky, která vyvolá biologickou nebo klinickou odezvu tkáně, systému nebo zvířete zvoleného výzkumným pracovníkem, nebo lékařem.

Následuje seznam zkratk a odpovídajících vysvětlivek, jak se zde v záměně užívají:

H^1 -NMR = proton nukleární magnetická rezonance

AcOH = kyselina octová

Ar = argon

BH_3 -THF = boran-tetrahydrofuranový komplex

Bn = benzylo

BOC = terc. butoxykarbonylo

ButLi = butyllithium

Cat. = katalycké množství

CDMT = 2-chlor-4,6-dimethoxytriazin

CH₂Cl₂ = dichlormethan

CH₃CN = acetonitril

CH₃I = jodmethan

CHN analýza = elementární analýza uhlík/vodík/dusík

CHNCl analýza = elementární analýza uhlík/vodík/dusík/chlor

CHNS analýza = elementární analýza uhlík/vodík/dusík/síra

DAST = diethylaminosulfurtrifluorid

DCC = 1,3-dicyklohexylkarbodiimid

DCM = dichlormethan

DIBAL = diisobutylaluminium hydrid

DIEA = diisopropylethylamin

DI voda = deionizovaná voda

DMA = N,N-dimethylacetamid

DMAC = N,N-dimethylacetamid

DMAP = 4-(N,N-dimethylamino)pyridin

DMF = N,N-dimethylformamid

DSC = disukcinylo karbonát

EDCI = hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu

Et = ethyl

Et₂O = diethylether

Et₃N = triethylamin

EtOAc = ethylacetát

EtOH = ethanol

FAB MS = hmotnostní spektrometrie s rychlým bombardováním atomu

g = gram(gramy)

GIHA = kyselina meta-guanidinohippurová

GIHA HCl = hydrochlorid kyseliny meta-guanidinhippurové

Gly = glycin

HMPA = hexamethylfosforamid

HOBT = hydrát 1-hydroxybenzotriazolu

HPLC = vysokoúčinná kapalinová chromatografie

IBCF = isobutylchlorformát

i-Pr = isopropyl

i-Prop = isopropyl

K_2CO_3 = uhličitán draselný

$KMnO_4$ = manganistan draselný

KOH = hydroxid draselný

KSCN = thiokyanát draselný

L = litr

LiOH = hydroxid litný

MCPBA = m-chlorperoxybenzoová kyselina nebo m-chlorperbenzoová kyselina

Me = methyl

Mel = methyljodid

MeOH = methanol

MEMCl = methoxyethoxymethylchlorid

MesCl = methansulfonylchlorid

mg = miligram

$MgSO_4$ = síran hořečnatý

ml = mililitr

mL = mililitr

MS = hmotnostní spektrometrie

MTBE = methyl-t-butylether

N_2 = dusík

$NaCNBH_3$ = kyantetrahydroboritan sodný

NaH = hydrid sodný

NaHCO_3 = hydrogenuhličitan sodný
 NaOH = hydroxid sodný
 NaOMe = methoxid sodný
 Na_2PO_4 = fosforečnan sodný
 Na_2SO_4 = síran sodný
 NEt_3 = triethylamin
 NH_4HCO_3 = hydrogenuhličitan amonný
 $\text{NH}_4^+\text{HCO}_2^-$ = mravenčan amonný
 NH_4OH = hydroxid amonný
 NMM = N-methylmorfolin
 NMP = 1-methyl-2-pyrolidinon
 NMR = nukleární magnetická rezonance
 Pd/C = paladium na uhlíku
 Ph = fenyl
 Pt/C = platina na uhlíku
 RPHPLC = HPLC s „reverzními“ fázemi
 RT = laboratorní teplota
 t-BOC = terc.butoxykarbonyl
 TFA = kyselina trifluoroctová
 THF = tetrahydrofuran
 TLC -chromatografie na tenké vrstvě
 TMEDA = tetramethylethylendiamin
 TMS = trimethylsilyl
 Δ = zahřívání reakční směsi

Sloučeniny obecných vzorců I až VI mohou být v různých izomerních formách a zahrnují všechny izomerní formy. Tautomerní formy jsou též zahrnuty, stejně jako farmaceuticky přijatelné soli těchto izomerů a tautomerů.

Ve strukturách a vzorcích vazba vedená přes ohraničení kruhu může náležet k jakémukoli atomu kruhu.

Pojem „farmaceuticky přijatelná sůl“ znamená sůl připravenou reakcí sloučeniny obecného vzorce I s kyselinou, jejíž anion je obecně považován za vhodný k požití pro člověka. Příklady farmaceuticky přijatelných solí zahrnují kyselinu chlorovodíkovou, kyselinu bromovodíkovou, kyselinu jodovodíkovou, síran, fosforečnan, octan, propionát, laktát, maleinát, malát, sukcinát, kvartérní soli a podobně. Všechny farmaceuticky přijatelné soli je možné připravit běžným způsobem. (Viz. Berge a kol., J. Pharm. Sci., 66 (1), 1-19 (1977) jako další příklady farmaceuticky přijatelných solí.)

Pro selektivní inhibici nebo antagonní účinek $\alpha_v \beta_3$ integrinů, se mohou sloučeniny podle vynálezu aplikovat orálně, parenterálně nebo inhalací spreje nebo lokálně v jednotkových množstvích formulací obsahujících běžné farmaceuticky přijatelné nosiče, adjuvans, pojiva. Pojem parenterálně, zde užívaný, zahrnuje například subkutanní, intravenózní, intramuskulární, intrasternální a infuzní techniky nebo intraperitoneální.

Sloučeniny podle vynálezu se aplikují jakoukoli vhodnou cestou ve formě farmaceutické kompozice upravené pro daný způsob a v množství účinném pro danou léčbu. Terapeuticky účinná množství sloučenin působí preventivně nebo pozastaví proces nebo léčí klinický stav snadno, zjištěný odborníkem v této oblasti za použití preklinických a klinických přístupů známých v lékařství.

Vynález tak uvádí způsob léčby stavů zprostředkovaných selektivní inhibicí nebo antagonním účinkem $\alpha_v \beta_3$ povrchových buněk receptoru; způsob zahrnuje aplikaci terapeuticky účinného množství sloučeniny vybrané ze třídy sloučenin popsanych obecnými vzorci I až VI, kdy se jedna nebo více sloučenin obecných vzorců I až VI aplikuje ve spojení s jedním nebo více netoxickým, farmaceuticky přijatelným nosičem a/nebo adjuvans (zde souhrnně označovaných jako „nosiče“) a případně s jinými aktivními složkami. Přesněji, vynález se týká způsobu inhibice $\alpha_v \beta_3$ buněk povrchu receptoru. Výhodněji, vynález se týká způsobu inhibice kostní resorpce, léčby osteoporózy, inhibice humorální hyperkalcemie při maligním onemocnění, léčby Pagetova tumoru, inhibice metastáz tumoru, inhibice neoplasie (růstu pevného tumoru), inhibice angiogeneze včetně angiogeneze tumoru, léčby retinopatie zahrnující makulární degeneraci a diabetickou retinopatii, inhibující artritidu, psoriázu a peridentální onemocnění a inhibice migrace buněk hladkého svalstva zahrnující restenózu.

Na základě standardních laboratorních experimentálních technik a postupů obecně známých a ověřených odborníky v této oblasti, stejně jako při srovnání se sloučeninami se známým použitím, se sloučeniny obecného vzorce I mohou použít při léčbě pacientů trpících výše uvedenými patologickými stavy. Odborník v daném oboru rozpozná, že výběr nejvhodnější sloučeniny podle vynálezu záleží na schopnostech odborníka v daném oboru a bude záviset na mnoha faktorech zahrnujících odhad výsledků získaných při standardním měření a ze zvířecích modelů.

Léčba pacienta trpícího jedním z patologických stavů zahrnuje aplikaci množství sloučeniny obecného vzorce I, které je terapeuticky účinné při kontrole stavu nebo v prodloužení života pacienta, než se očekává bez této léčby. Pojem „inhibice“ stavu, jak se zde užívá, znamená zpomalení, přerušení, zastavení nebo vymizení stavu a nemusí nezbytně znamenat celkové vyloučení stavu. Předpokládá se, že prodloužení života pacienta za hranici výrazně výhodného účinku jako takového též znamená, že kontrola stavu je do jisté míry přínosná.

Jak bylo uvedeno výše, sloučeniny podle vynálezu je možné použít v různých biologických, profylaktických nebo terapeutických oblastech. Uvažuje se o tom, že tyto sloučeniny jsou využitelné v prevenci nebo léčbě jakéhokoli onemocnění nebo stavu, kdy integrin $\alpha_v \beta_3$ hraje roli.

Dávkování sloučenin podle a/nebo kompozic obsahujících tyto sloučeniny je založeno na mnoha faktorech, zahrnujících typ, věk, hmotnost, pohlaví a zdravotní stav pacienta; závažnost stavu; způsob aplikace; a aktivitu dané sloučeniny. Dávkovací režim se proto může velmi lišit. Dávky v množství od 0,01 mg do přibližně 1000 mg na kilogram tělesné hmotnosti a den jsou použitelné při léčbě výše uvedených stavů.

Aktivní složka aplikována injekčně je formulována jako kompozice, kde se například jako vhodný nosič může použít fyziologický roztok, dextróza nebo voda. Vhodné denní dávky mohou být běžně v rozmezí od 0,01 do 10 mg/kg tělesné hmotnosti aplikovaných denně injekčně ve vícenásobných dávkách v závislosti na faktorech uvedených výše.

Pro aplikaci savci, vyžadujícího tuto léčbu, se sloučeniny v terapeuticky účinném množství běžně smíchají s jedním nebo více adjuvans pro daný způsob aplikace. Slou-

čeniny mohou být navíc smíchány s laktózou, sacharózou, škrobovým práškem, estery celulózy alkanových kyselin, alkylestery celulózy, mastkem, kyselinou stearovou, steárátem hořečnatým, oxidem hořečnatým, sodným, vápenatými solemi kyseliny sírové a fosforečné, želatinou, arabskou gumou, alginátem sodným, polyvinylpyrrolidonem a/nebo polyvinylalkoholem a upraveny do tablet nebo kapslí pro běžnou aplikaci. Sloučeniny se mohou případně rozpustit ve vodě, polyethylenglykolu, propylenglykolu, ethanolu, kukuřičném oleji, bavlníkovém oleji, arašídovém oleji, sezamovém oleji, benzylalkoholu, chloridu sodném a/nebo různých pufrech. Jiná adjuvans a způsoby aplikace jsou obecně známy v oboru farmacie.

Farmaceutické kompozice podle vynálezu se mohou použít při běžných farmaceutických postupech, například při sterilizaci, a/nebo mohou obsahovat běžná farmaceutická adjuvans, například konzervační látky, stabilizátory, zvlhčovačla, emulgátory, pufry a pod.

Obecné postupy syntézy při přípravě sloučenin použitelné podle vynálezu jsou uvedeny ve schématech 1 až 15. Současně jsou na potřebných místech uvedena vysvětlení, aktuální postupy, a vysvětleny různé aspekty podle vynálezu. Následující schémata a příklady jsou míněny jako ilustrativní vzhledem k vynálezu, a proto neomezuji jeho rozsah a podstatu. Odborníci snadno pochopí, že je možné použít známých obměn podmínek a postupů popsanych ve schématech a příkladech při syntéze sloučenin podle vynálezu.

Není-li jinak uvedeno, všechny použité výchozí suroviny a zařízení bylo běžně dostupné.

Schéma 1

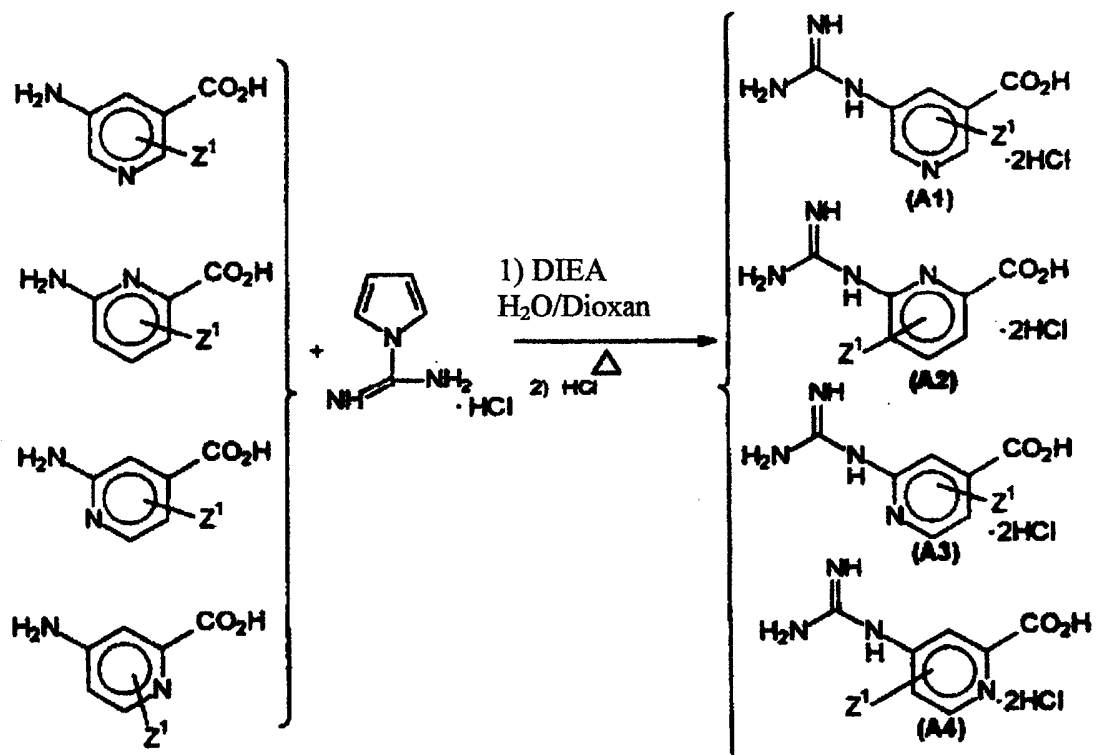


Schéma 2

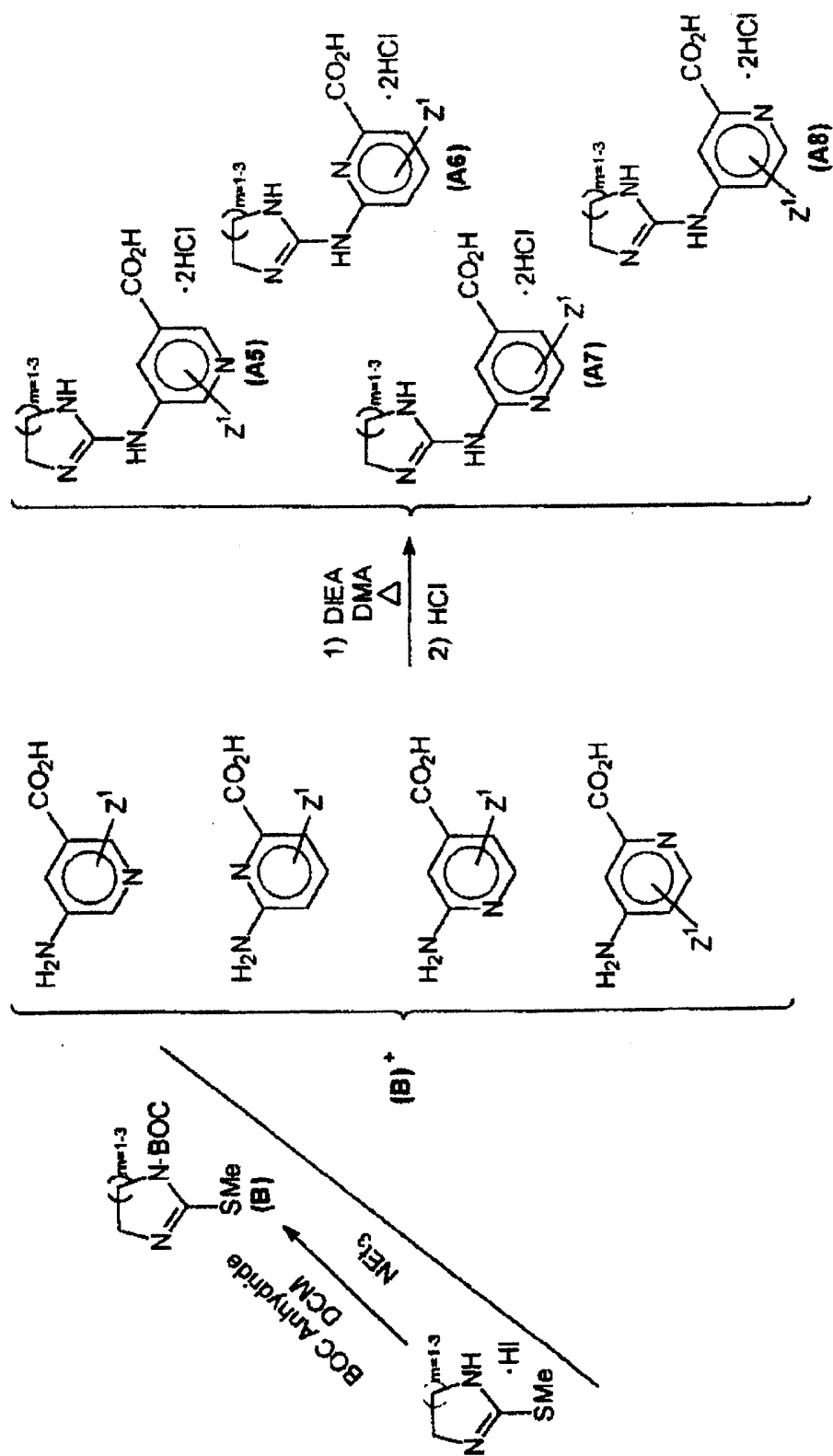
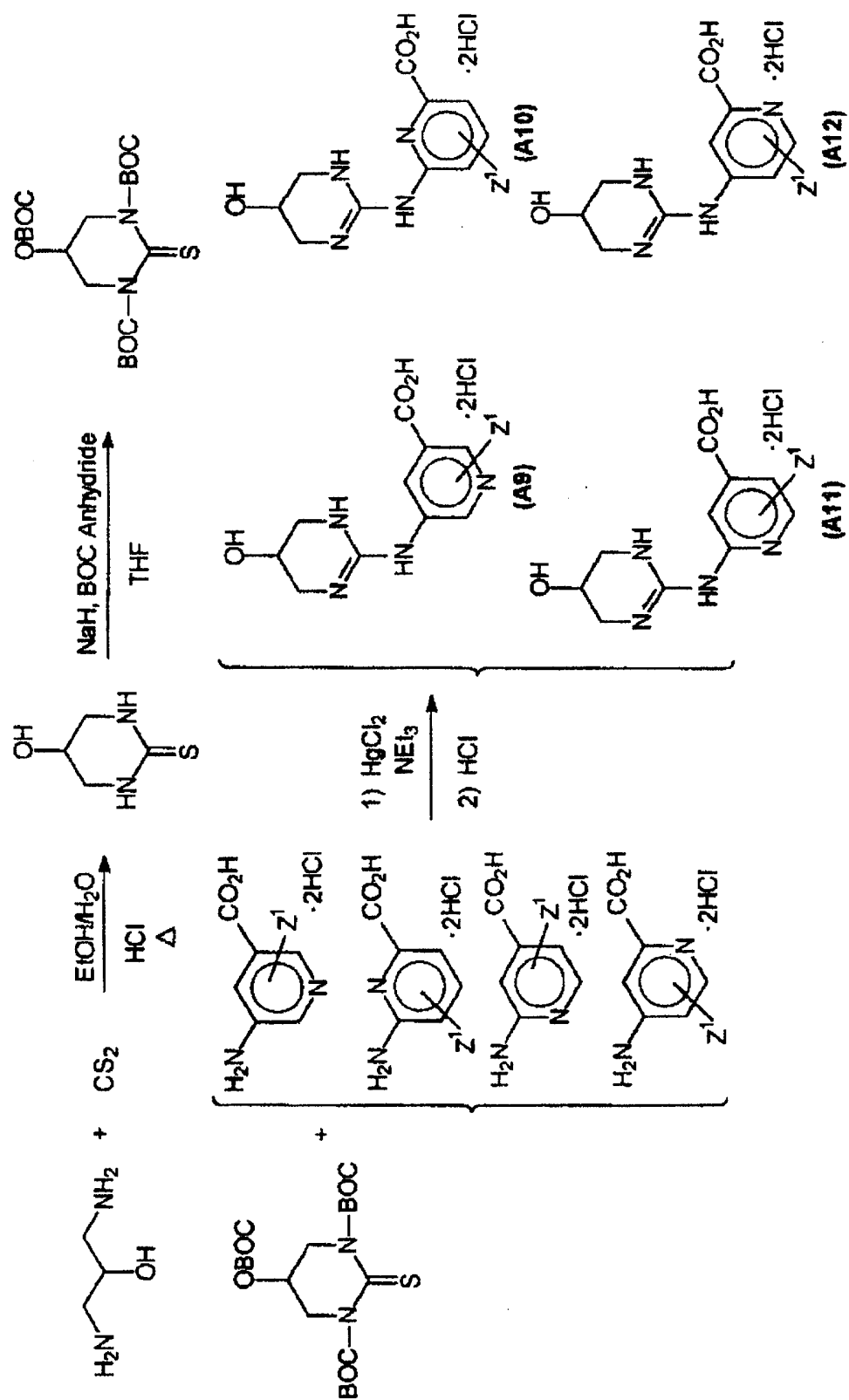


Schéma 3



První až třetí schéma zobrazuje způsob přípravy použité pro přípravu částí guanidinpyridin/cykloguanidinopyridinkarboxylové kyseliny podle vynálezu, které se používají pro připojení k části gly- β -aminokyseliny. Toho může být dosaženo použitím jiných vhodných činidel pro guanidaci známých odborníkům v tomto oboru. Postupy v 1. až 3. schématu se může pozměnit použitím běžných technik a metod k přípravě podobných sloučenin využitelných k připojení k části gly- β -aminokyseliny.

Schéma 4

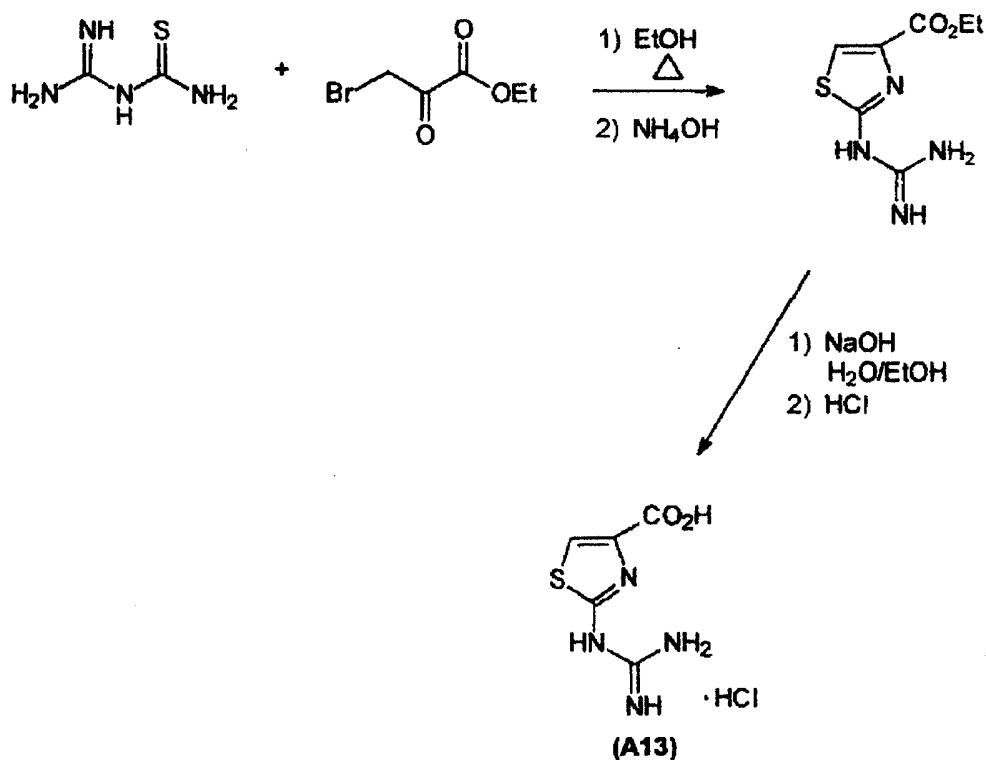


Schéma 4 ukazuje metodiku přípravy části guanidinothiazolkarboxylové kyseliny podle vynálezu, které se používá pro připojení ke části gly- β -aminokyseliny. Metody ve schématu 4 může být pozměněn použitím běžných postupů známých odborníkům v tomto oboru k přípravě této a podobných sloučenin využitelných k připojení k části gly- β -aminokyseliny.

Schéma 5

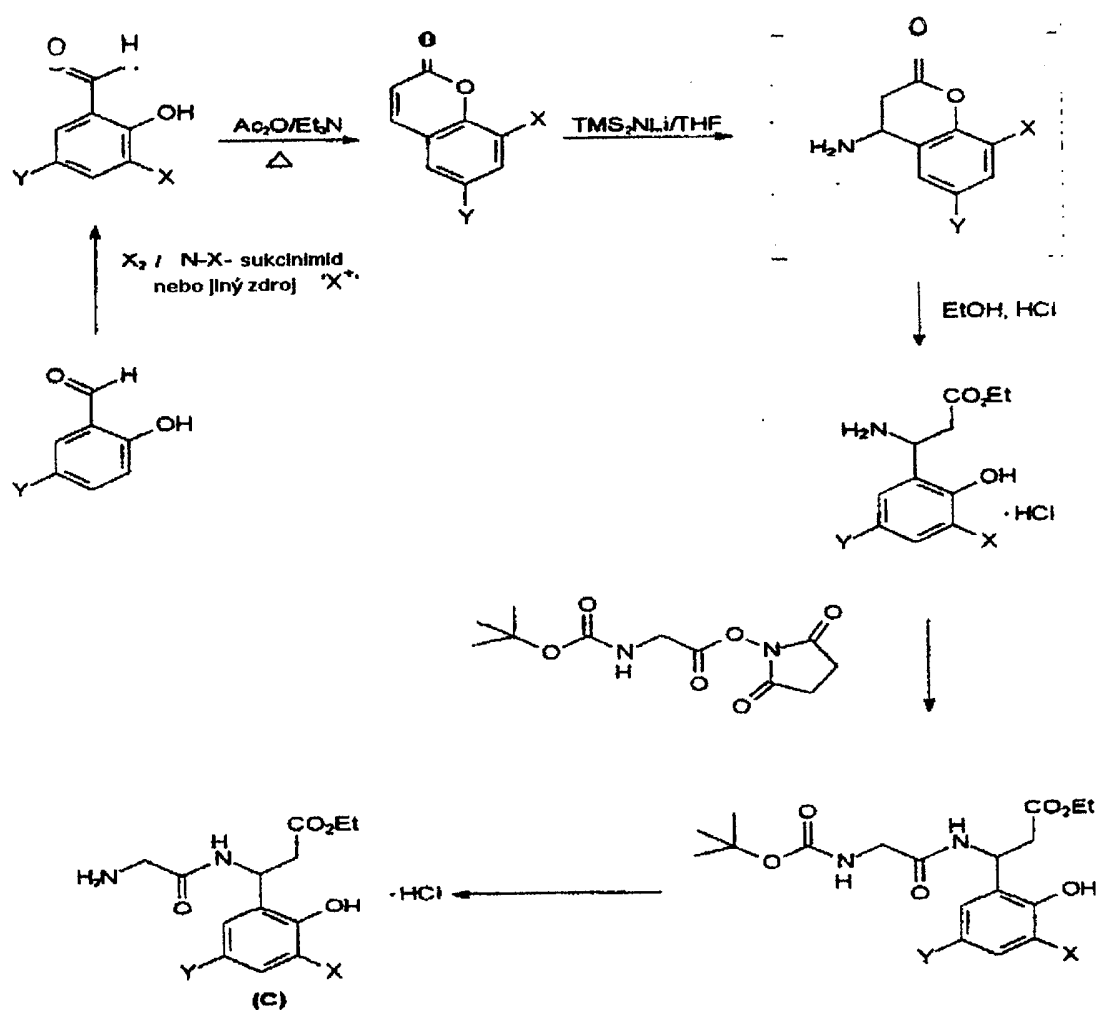


Schéma 5 ukazuje metodu přípravy části ethyl-(N-gly-amino-3-(3,5-dihalogen-2-hydroxy)fenylpropionátu) sloučenin podle vynálezu. Stručně, 3,5-halogen substituované salicylaldehydy (halogen-substituované -2-hydroxybenzaldehydy) byly připraveny přímou halogenací. Například 5-bromsalicylaldehyd se rozsuspensuje v kyselině octové a přidá se ekvivalentní nebo větší množství chloru za vzniku 3-chlor-5-brom-2-hydroxybenzaldehydu.

Některé produkty precipitují a získají se zpětně filtrací. Zbytek se obnoví zředěním filtrátu vodou a izolací precipitátu. Smícháním pevných částí a vysušením se získá 3-chlor-5-brom-2-hydroxybenzaldehyd. 3-Jod-5-chlorsalicylaldehyd se připraví reakcí 5-chlorsalicylaldehydu s N-jodsukcinimidem v DMF a podstoupení reakční směsi běžným reakčním podmínkám. 3-Jod-5-bromsalicylaldehyd se může připravit reakcí 5-bromsalicylaldehydu v acetonitrilu s jodidem draselným a chloraminem T. Běžnou úpravou se získá látka, z které po reakci s hexany vznikne požadovaný 3-jod-5-chlorsalicylaldehyd.

Kumariny se snadno připraví ze salicylaldehydu za použití modifikované Perkinovy reakce (například Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, 5. vydání, 1989, strana 1040). Halogen-substituované kumariny se přemění na 3-aminohydrokumariny (viz. J.G.Rico, Tett. Let., 1994, 35, 6599-6602), které se snadno otevřou v okyselém alkoholu za vzniku esterů 3-amin-3-(3,5-halogen-2-hydroxy)fenylpropanové kyseliny.

Estery 3-amin-3-(3,5-halogen-2-hydroxy)fenylpropanové kyseliny se přemění na estery N-gly-3-amin-3-(3,5-halogen-2-hydroxy)fenylpropanové kyseliny reakcí Boc-N-gly-N-hydroxysukcinimidu za vzniku esterů Boc-N-gly-3-amin-3-(3,5-halogen-2-hydroxy)fenylpropanové kyseliny, které se přemění na HX soli N-gly-3-amin-3-(3,5-halogen-2-hydroxy)fenylpropanové kyseliny (kde X je Cl, Br nebo I).

Schéma 6

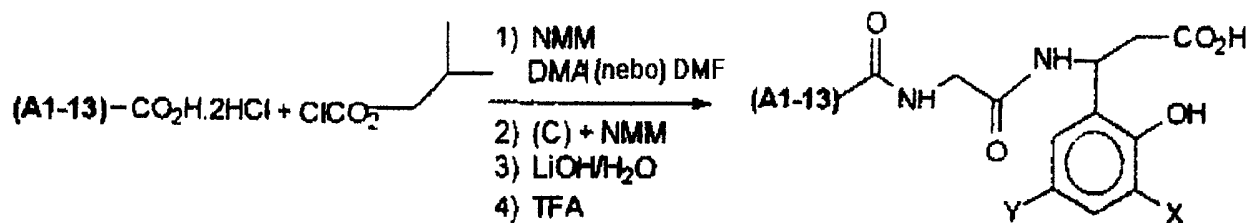


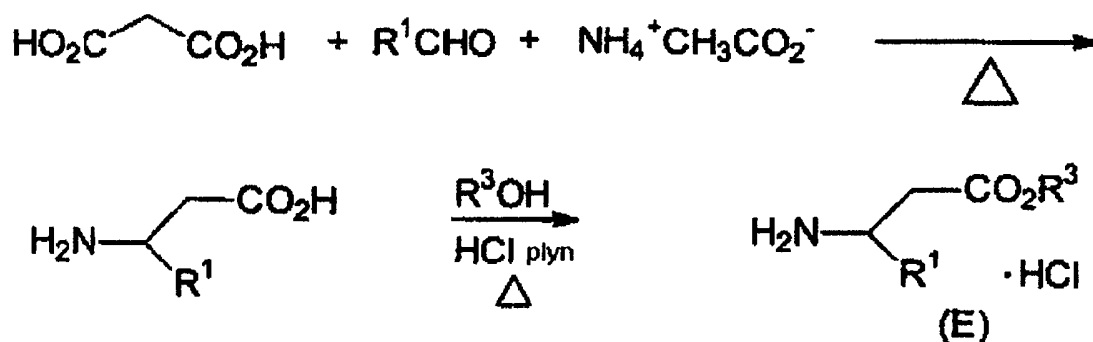
Schéma 6 ukazuje metodiku pro spojení části heterocyklické kyseliny (A1-A13) ke gly-β-amin části (C) podle vynálezu.

Syntéza A1-A13 je ukázána ve schématech 1až 4 a syntéza (C) je ukázána ve schématu 5 (kde X a Y jsou halogeny, shodné nebo rozdílné).

Tento postup se může pozměnit za použití běžných metod známých odborníkům v tomto oboru.

Schéma 7

krok A



krok B

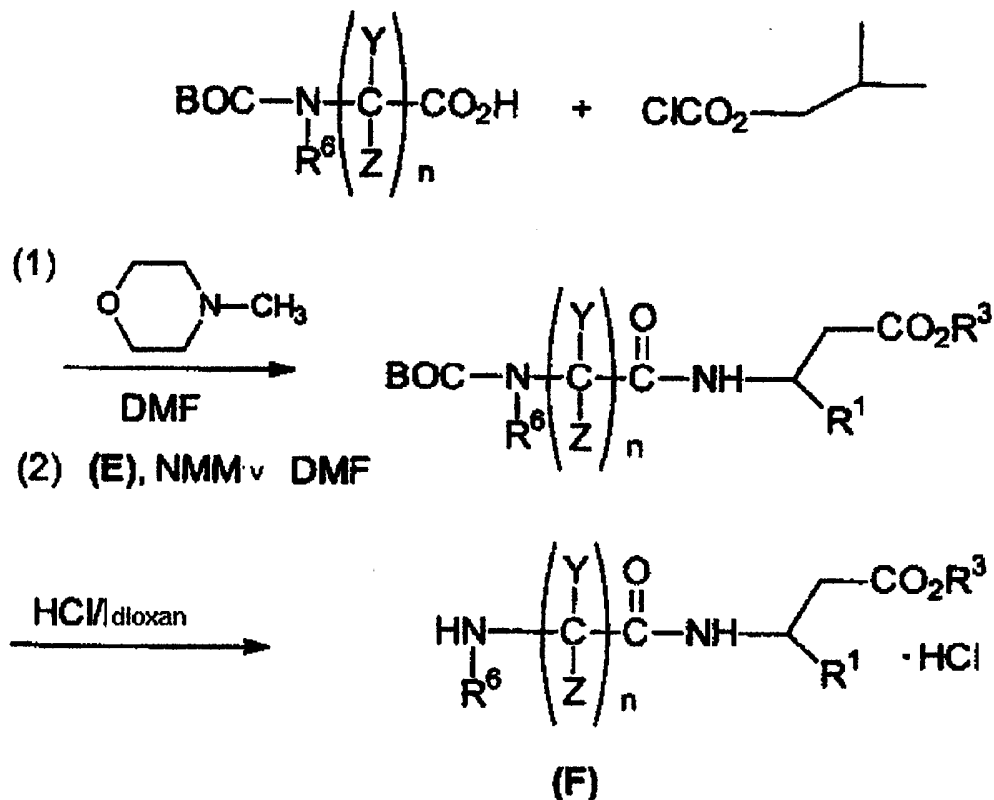


Schéma 7 ukazuje obecně přípravu části gly-β-aminokyseliny molekuly (F).

Aldehydy ($\text{R}'\text{CHO}$) používané v tomto postupu jsou komerčně dostupné nebo se mohou připravit z komerčně dostupných látek za použití metod, které jsou běžně odborníkům známy.

Všechny další složky jsou komerčně dostupné nebo je odborník může snadno syntetizovat.

Tyto způsoby a podmínky se mohou dále modifikovat za použití běžných technik za vzniku podobných požadovaných meziproduktů.

Schéma 8

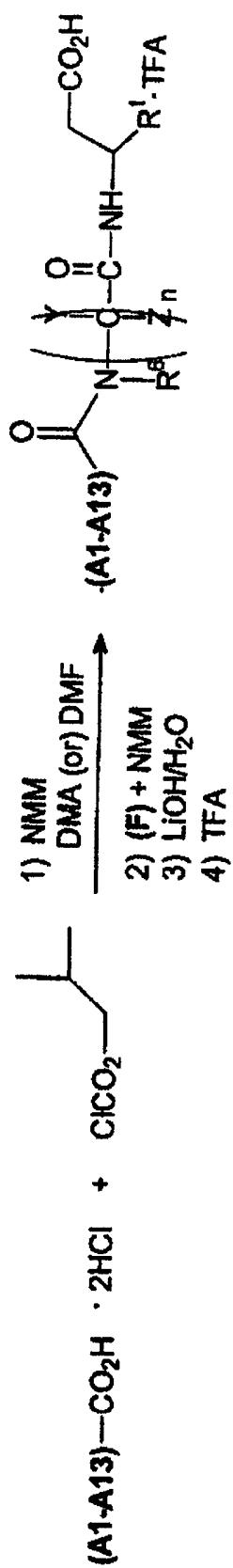


Schéma 8 ukazuje způsob použitelný pro připojení části heterocyklické kyseliny (A1-A13) k části gly- β -aminokyseliny (F) za vzniku sloučenin podle vynálezu.

Syntéza A1-A13 je ukázána ve schématech 1-4 a syntéza (F) je ukázána ve 7. schématu.

Postup se může změnit za použití běžných metod známých odborníkům v tomto oboru. Schémata 9 až 12 ukazují obecný způsob přípravy sloučenin podle vynálezu.

Schéma 9

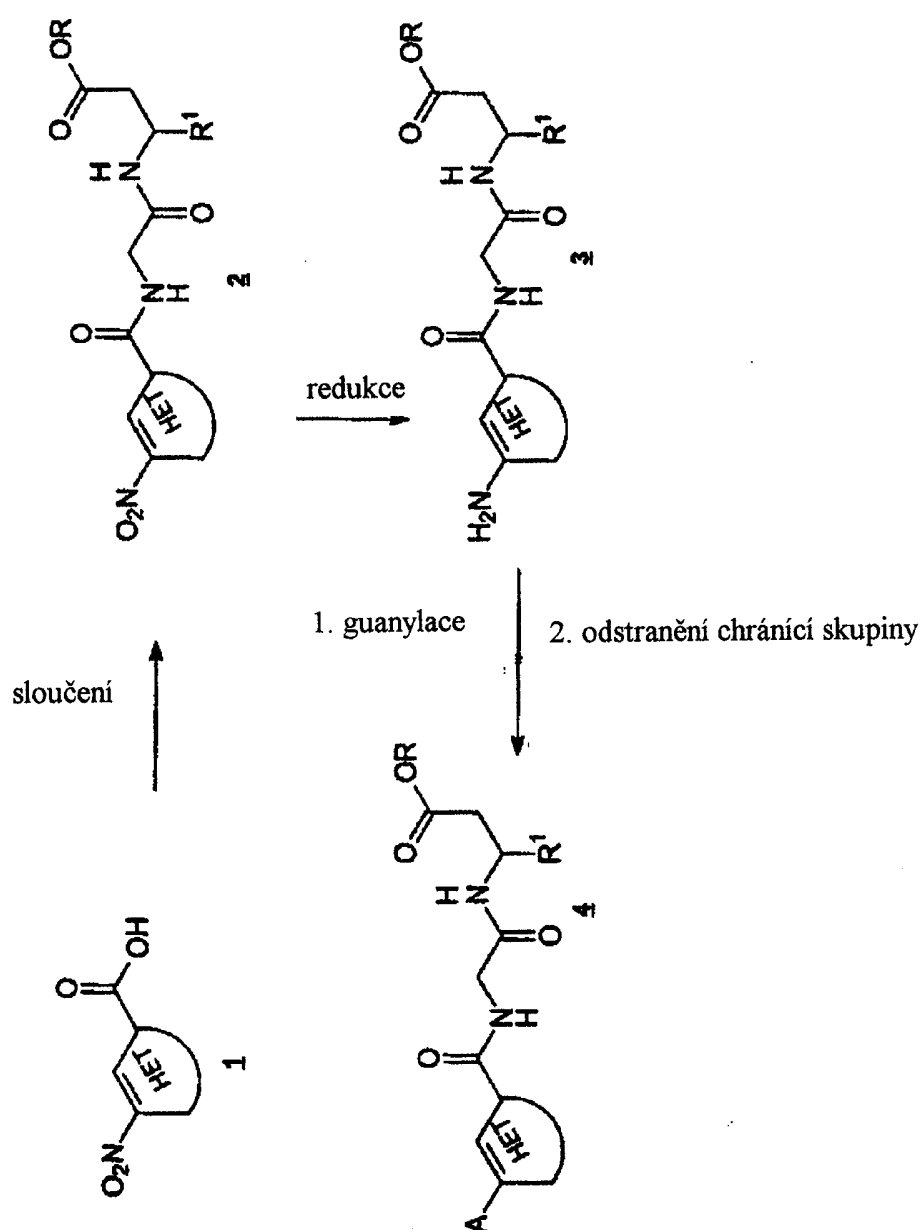
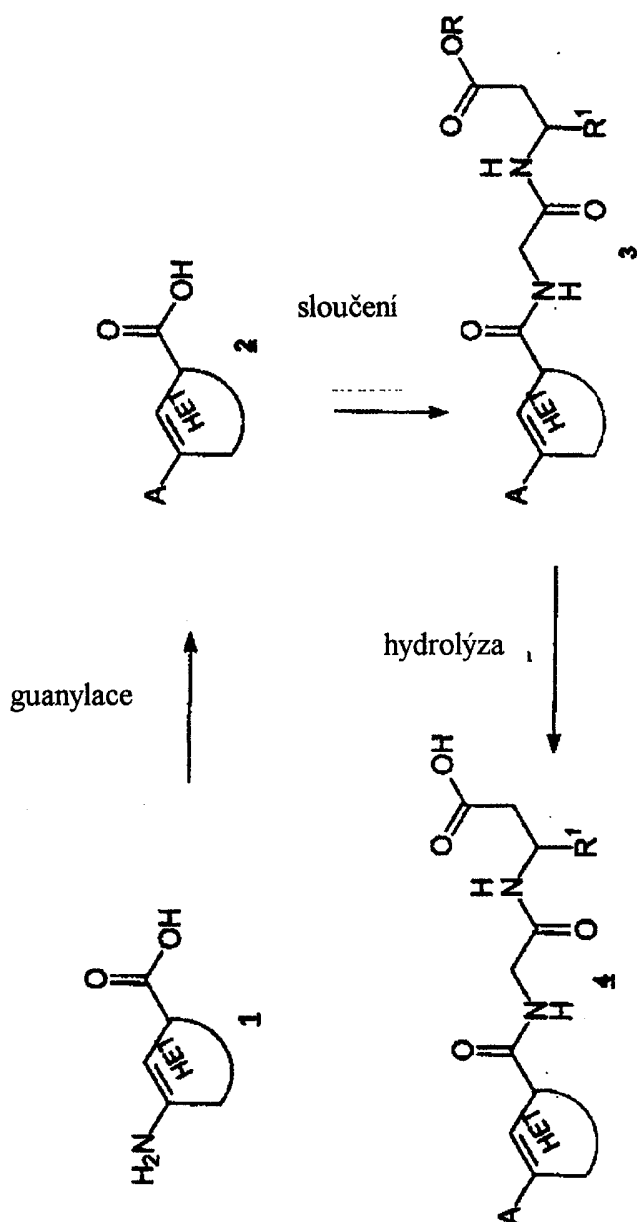


Schéma 9 ukazuje obecný postup syntézy heterocyklu odvozeného od sloučenin s připojenou gly-β-aminokyselinou. Reakcí heterocyklické karboxylové kyseliny s gly-β-aminokyselinou za podmínek kondenzační reakce vznikne meziprodukt (2). Redukcí nitroskupiny za použití katalytické hydrogenace (například Pt/H, H₂) vznikne amino meziprodukt (3). Tuto transformaci je možné též provést chemicky za použití SnCl₂. Amino skupina se může přeměnit na guanidino nebo jinou funkční skupinu vzorce I za použití způsobu uvedeného výše.

Schéma 10



Cílová sloučenina se může případně připravit syntézou levé části molekuly před spojením s gly- β -aminokyselinou (schéma 10). Aminoskupina aminového heterocyklu (1) je funkčně spojena s guanidinem nebo jinými skupinami (A, vzorec I) a pak připojena ke gly- β -aminokyselině za standardních podmínek kondenzační reakce.

Schéma 11

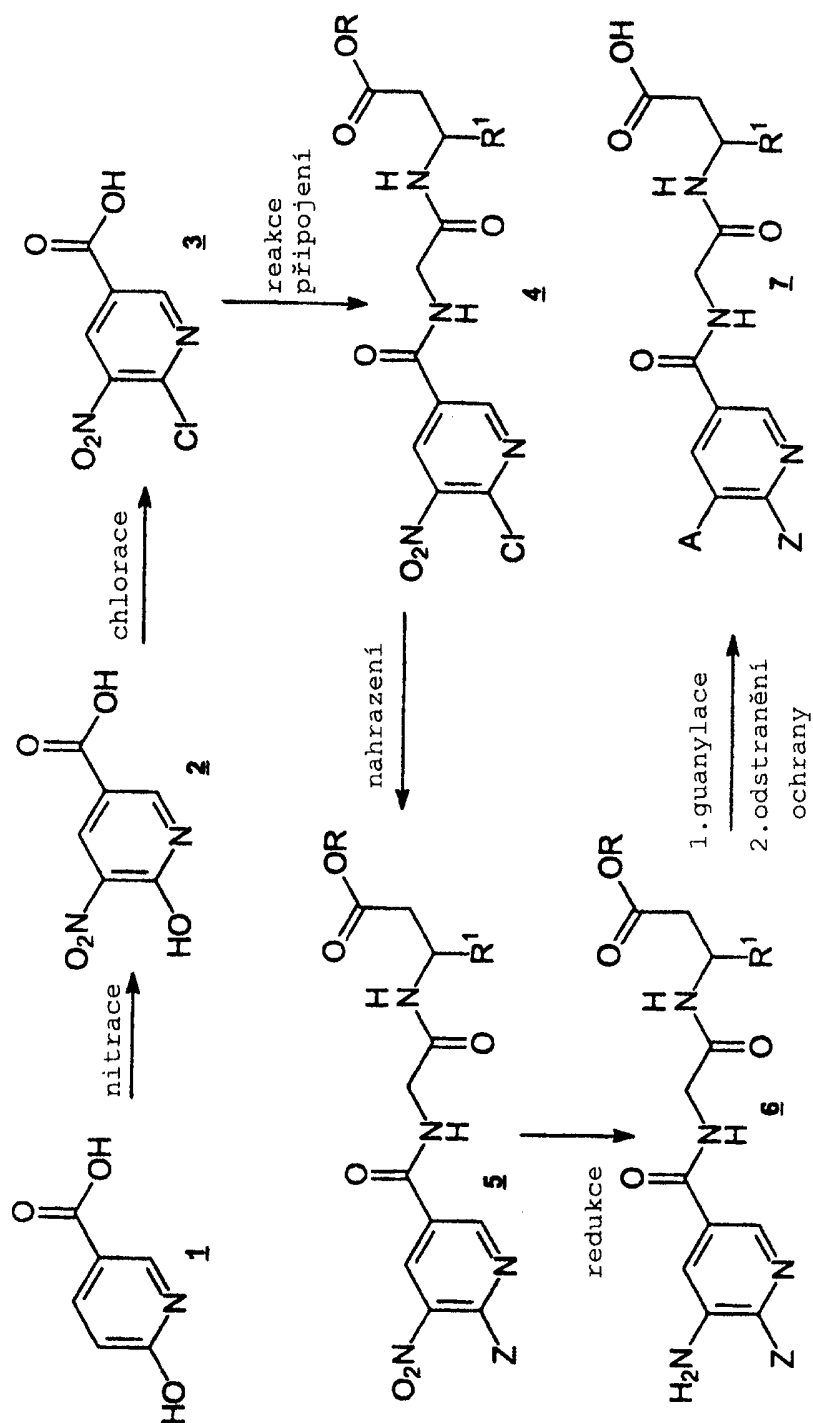


Schéma 11 ukazuje obecnou syntézu substituovaných pyridinů a pyridinových sloučenin odvozených od cílových sloučenin. Nitrací 6-hydroxynikotinové kyseliny a následnou chlorací se získá 6-chlor-5-nitronikotinová kyselina. Reakcí meziprojektu 3 s gly-β-aminokyselinou se získá produkt 4. Chlor- skupina v univerzálním meziprojektu 4 se může snadno nahradit různými nukleofily za vzniku produktu 5. Redukcí nitroskupiny 4 nebo 5 a další reakcí aminoskupiny, jak se uvádí výše ve schématu 9, se získá cílová sloučenina.

Schéma 12

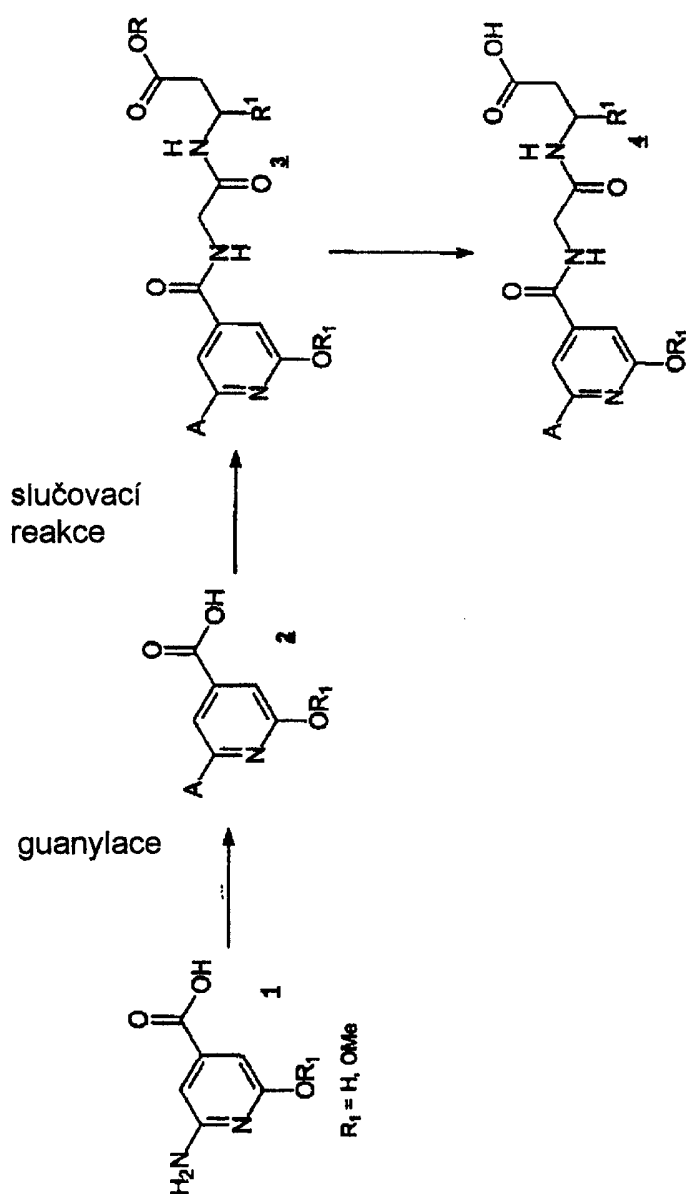


Schéma 12 ukazuje syntézu substituovaných pyridinových a pyridonových sloučenin odvozených od cílových sloučenin z výchozí 2-amin-6-hydroxypyridin-4-karboxylové kyseliny. Výchozí látka 1 použitá ve schématu se může připravit reakcí komerčně dostupné 2-chlor-6-methoxypyridin-4-karboxylové kyseliny s hydroxidem amonným za vysokého tlaku. Reakcí aminoskupiny a následnou kondenzační reakcí s gly- β -aminokyselinou, jak je uvedeno ve schématu 10 se získá cílová sloučenina.

Schéma 13

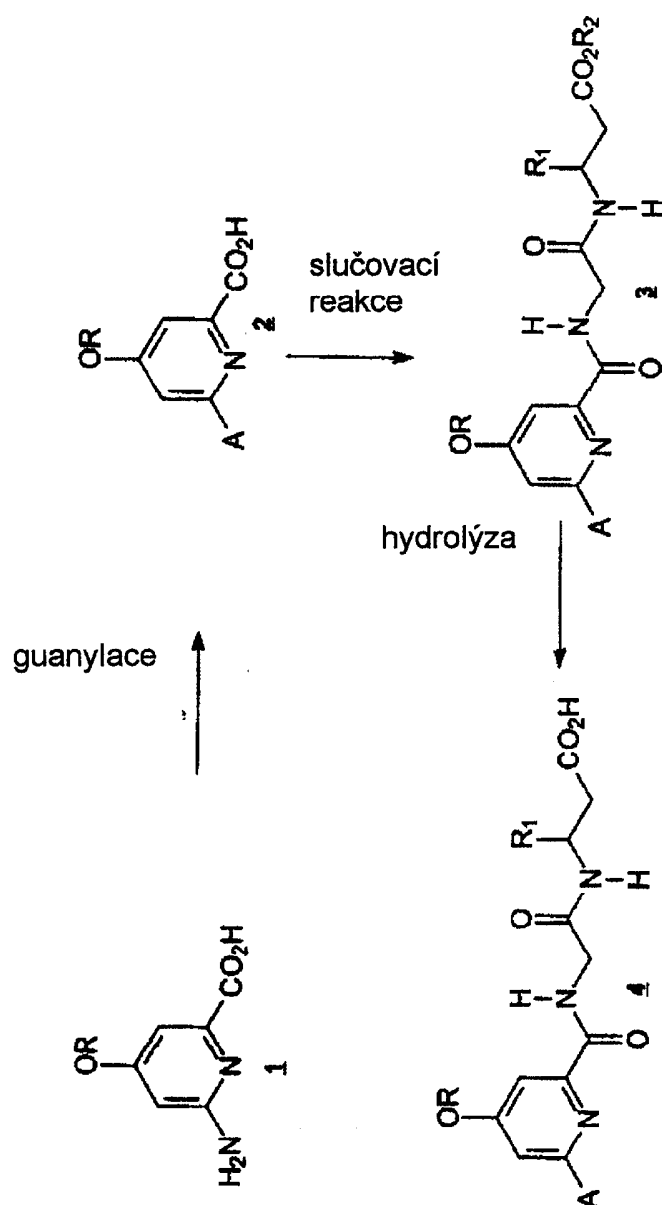
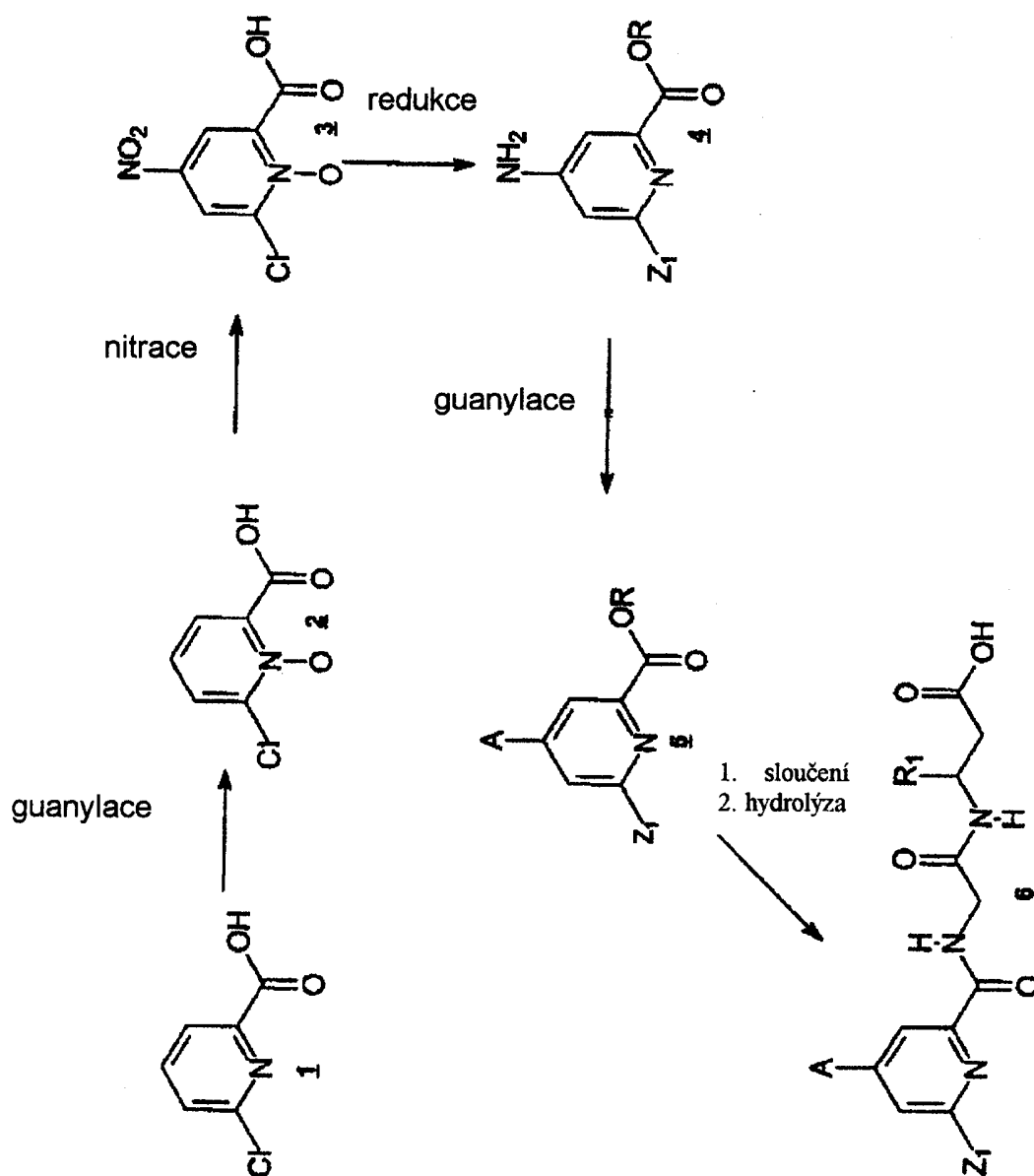


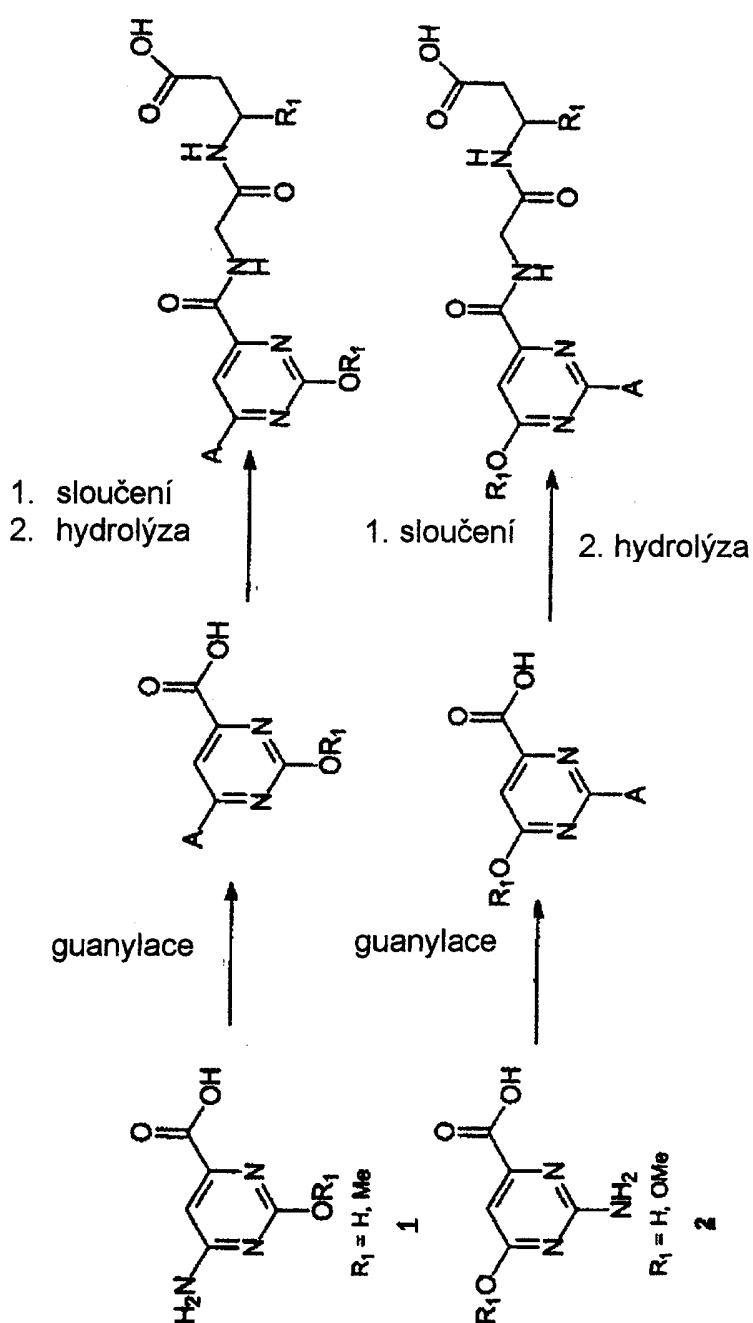
Schéma 13 ukazuje syntézu izomerických pyridinů a pyridonů z výchozí kyseliny 6-amin-4-methoxy-pikolinové. Výchozí látka 1, použitá v 13. schématu se může připravit podle popisu v literatuře (J. Am. Chem. Soc., 78, 4130, 1956). Funkcionalizace amino skupiny ve sloučenině 1 kondenzační reakcí a hydrolýzou (jako ve schématu 10) se získá cílová sloučenina.

Schéma 14



Izomerické pyridinové a pyridonové sloučeniny se mohou připravit za použití postupu ve schématu 14. Klíčový meziprodukt 4 se může připravit z výchozí 6-chlor-pikolinové kyseliny. Oxidací a následnou nitrací se získá 4-nitropyridinový derivát (3). Deoxygenací N-oxidu, redukcí nitroskupiny a nukleofilním odstraněním chlorskupiny se získá meziprodukt 4. Postup uvedený ve schématu se může použít pro syntézu cílových sloučenin.

Schéma 15

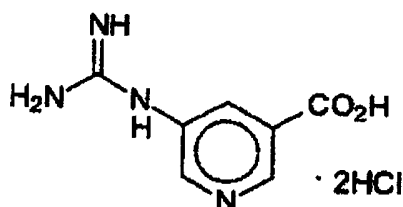


Postup uvedený ve schématu 10 se může též použít pro syntézu pyrimidinových derivátů odvozených od cílové sloučeniny (schéma 15). Izomerní pyrimidinové deriváty 1 a 2 se mohou syntetizovat podle postupů uvedených v literatuře (J.Org. Chem., 26, 2755, 1961).

Příklady provedení vynálezu

Příklad A

Příprava

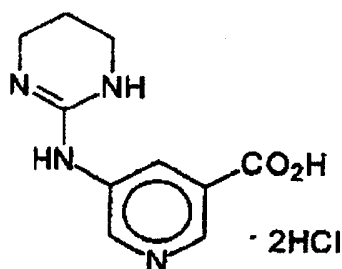


Kyselina 5-aminonikotinová (4,0 g, 0,021 mol) (Helv. Chim. Acta, 47, 363 (1964); JACS, 70, 2381 [1948] s 1 H-pyrazol-1-karboxamidin hydrochloridem (4,6 g, 0,031 mol), diizopropylethylaminem (8,0 g, 0,062 mol) a dioxanem (14 ml) a H₂O (7 ml) se zahřívala při refluxu 2 dny. Reakce se zchladila na laboratorní teplotu, precipitát se přefiltroval, promyl směsí H₂O/dioxan (50:50) a vysušil. Precipitát se rozsuspendoval v H₂O a okyselil 2M HCl. Rozpouštědlo se odstranilo za vakua a získala se výše uvedená sloučenina ve formě bílé pevné látky (750 mg).

Měření MS a H¹-NMR odpovídala požadované struktuře.

Příklad B

Příprava



1. krok

K 3,4,5,6-terahydro-2-pyrimidinthiol (10 g, 0,086 mol) (Aldrich) v absolutním ethanolu (75 ml) se přidal Mel (12,2 g, 0,086 mol). Reakce se míchala za refluxu 2,5 hodiny. Rozpouštědlo se odstranilo za vakua a vysušením produktu se získal 2-methylthio-3,4,5,6-terahydro-2-pyrimidin hydrojodid ve formě bílé pevné látky (22 g).

Měření MS a H^1 -NMR odpovídala požadované struktuře.

2. krok

K produktu z 1. kroku uvedeného výše (5,3 g, 0,021 mol) a triethylaminu (2,07 g, 0,021 mol) v CH_2Cl_2 (25 ml) se přidal BOC anhydrid (4,5 g, 0,021 mol) při teplotě ledové lázně. Reakce se pak míchala 2 dny při laboratorní teplotě. CH_2Cl_2 se promyl H_2O (3×), vysušil nad $MgSO_4$ a jeho odstraněním za vakua se získal N-Boc-2-methylthio-3,4,5,6-tetrahydro-2-pyrimidin (4,14 g).

Měření MS a H^1 -NMR odpovídala požadované struktuře.

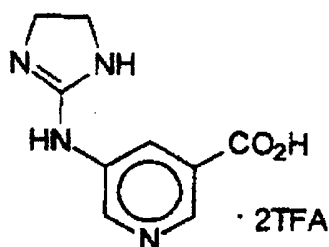
3. krok

Produkt z 2. kroku uvedeného výše (3,08 g, 0,0134 mol) se zahříval při 80 °C až 85 °C s kyselinou 5-aminonikotinovou (1,8 g, 0,0134 mol) v DMA (12 ml) 2 týdny. Reakční směs se zředila CH_3CN , precipitát se přefiltroval, promyl CH_3CN a vysušil. Precipitát se rozsuspendoval v H_2O a pH se upravilo koncentrovanou HCl na 1 až 2. Roztok se zmrazil a lyofilizací se získal požadovaný produkt ve formě světle hnědé pevné látky (1,2 g).

Měření MS a H^1 -NMR odpovídala požadované struktuře.

Příklad C

Příprava



1. krok

K 2-methylthio-2-imidazolin hydrochloridu (20 g, 0,082 mol) (Aldrich) a triethylaminu (8,28 g, 0,082 mol) v CH_2Cl_2 (100 ml) se přidal BOC anhydrid (17,9 g, 0,082 mol)

při teplotě ledové lázně. Reakce se pak míchala přes noc při laboratorní teplotě. CH_2Cl_2 se promyl H_2O (2×), vysušil přes MgSO_4 a jeho odstraněním za vakua se získal N-BOC-2-methylthio-2-imidazolin ve formě viskózního oleje, který dal vznik voskové bílé pevné látky (15,93 g).

Měření MS a ^1H -NMR odpovídala požadované struktuře.

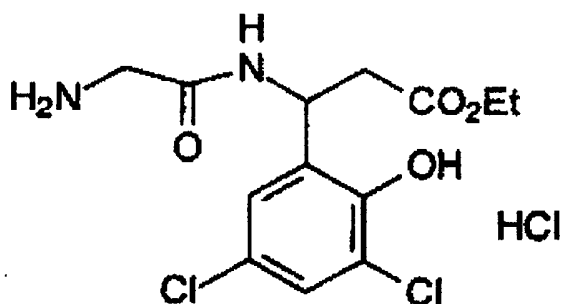
2. krok

Produkt z 1.kroku, uvedeného výše, (15,93 g, 0,0737 mol) se s kyselinou 5-aminonikotinovou (9,6 g, 0,07 mol) a triethylaminem (7,1 g, 0,07 mol) v DMA (60 ml) zahříval 2 dny při $100\text{ }^\circ\text{C}$, pak 1 den při $130\text{ }^\circ\text{C}$ a 2 dny při $150\text{ }^\circ\text{C}$. Po zchlazení a zředění reakční směsi s CH_3CN se precipitát přefiltroval, promyl etherem a vysušil (výtěžek obojetného iontu je 10,16 g). Tento produkt se rozsuspendoval v H_2O a okyselil TFA (pH 1 až 2). Roztok se zmrazil a lyofilizací se získal požadovaný produkt ve formě světle žluté pevné látky (20,15 g).

Měření MS a ^1H -NMR odpovídala požadované struktuře.

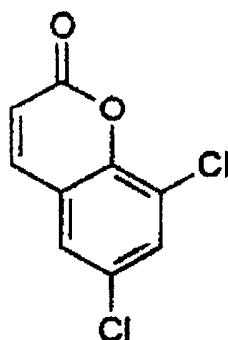
Příklad D

Příprava



1. krok

Příprava

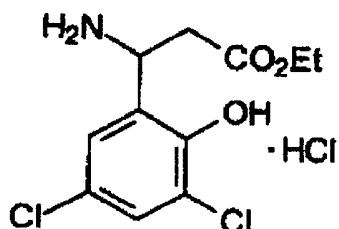


Do 2 l nádoby s kulatým dnem opatřené mechanickým míchadlem a chladičem se přidal 3,5-dichlorsalicylaldehyd (200,0 g, 1,05 mol, 1 ekvivalent), anhydrid kyseliny octové (356 g, 3,49 mol) a triethylamin (95,0 g, 0,94 mol, 0,90 ekvivalentu). Reakční roztok se zahříval přes noc při refluxu. Tmavě hnědá reakční směs se zchladila na 50 °C a za míchání se přidala voda (1 l). Za hodinu se směs přefiltrovala a filtrát se smíchal s EtOH (1l). Směs se zahřívala hodinu při 45 °C, zchladila na laboratorní teplotu, přefiltrovala a pevná látka (frakce A) se promyla v EtOH (0,5 l). Smíchané EtOH roztoky se zakoncentrovaly na rotační odparce na olej (frakce B). Pevná látka z frakce A se rozpustila v dichlormethanu (1,5 l) a výsledný roztok se přečistil přes silikagelovou vrstvu (objem 1300 ml). Výsledný tmavě hnědý roztok se zakoncentroval na olej, který se smíchal s hexanem (1,3 l) za vzniku pevné látky, z které se po izolaci filtrací a promytí (hexan) získal v podstatě čistý 6,8-dichlorkumarin (163 g). Dalších 31 g produktu se získalo zpracováním oleje (frakce B) stejným způsobem; olej se rozpustil v dichlormethanu (0,5 l), přečistil přes silikagelovou vrstvu (objem 0,5 l) a smíchal s hexanem. Celkové vyizolované množství činilo 194 g nebo 86% hnědé pevné látky.

Měření MS a ^1H -NMR odpovídala požadované struktuře.

2. krok

Příprava

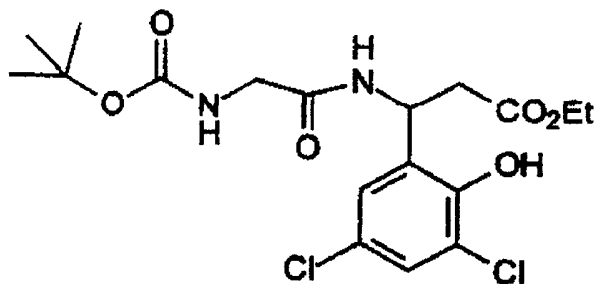


Do 3 hrdlové 2 l nádoby s kulatým dnem opatřené mechanickým míchadlem a chladičem se přidal 6,8-dichlorkumarin (160 g, 0,74 mol), připravený v kroku 1 a suchý THF (375 ml, Aldrich Sure Seal). Výsledná směs se zchladila na $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (suchý led v acetonové lázni) a přidal se lithium bis(trimethylsilyl)amid (0,80 mol, 800 ml, 1M v THF), přičemž se teplota udržovala pod $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po přidavku všech složek se chladicí lázeň odstranila. Za 0,5 hodiny se směs zahřála na $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Reakce se zastavila přidavkem roztoku HCl (0,5 l 4M dioxanu) v EtOH (1,25 l). Teplota se přes noc udržovala pod $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Reakční směs se zakoncentrovala na přibližně poloviční množství původního objemu a rozdělila na EtOAc (3 l) a vodu (2 l). Organická vrstva se promyla vodou HCl ($3 \times 1\text{ l}$, 0,5 M HCl). pH smíchaných vodných vrstev se upravilo na přibližně 7 přidavkem 10% vodného NaOH a proběhla extrakce v dichlormethanu ($3 \times 2\text{ l}$). Smíchané organické vrstvy se vysušily (MgSO_4), přefiltrovaly a za míchání se přidala HCl (210 ml, 4M v dioxanu). Po skončení precipitace se pevná látka oddělila filtrací. Filtrát se zakoncentroval na malé množství a přidal se methyl t-butylether. Získaná pevná látka se smíchala s původně vzniklou pevnou látkou a smíchaný produkt se promyl v methyl t-butyletheru, vyizoloval filtrací a vysušením (ve vakuové peci po dobu dvou dnů) se získal požadovaný produkt (172 g, 74% výtěžek).

Měření MS a ^1H -NMR odpovídala požadované struktuře.

3. krok

Příprava

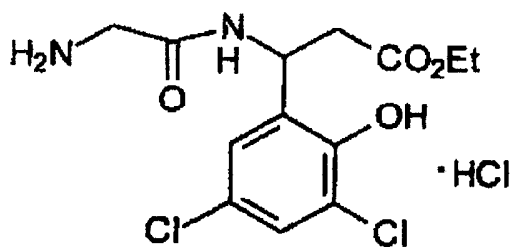


Do plamenem vysušené nádoby s kulatým dnem (0,5 l), opatřené magnetickým míchadlem se přidal ester N-t-Boc-glycin N-hydroxysukcinimidu (Sigma, 15,0 g, 0,055 mol), suchý DMF (Aldrich Sure Seal, 200 ml) a produkt z 2. kroku (21,67 g, 0,055 mol) v inertní atmosféře (Ar). Reakční směs se zchladila na přibližně 0 °C (ledová lázeň se solí) a přidal se N-methylmorfolin (5,58 g, 0,056 mol) a katalytické množství DMAP. Reakce se nechala probíhat přes noc. Reakční směs se zakoncentrovala na suspenzi a rozdělila mezi EtOAc (0,4 l) a vodnou bázi (2 × 2 l, vodný nasycený NaHCO₃). Organická vrstva se promyla postupně vodnou kyselinou citronovou (2 × 0,2 l, 10% hmotn./obj.), vodným hydrogenuhličitánem sodným (2 × 0,2 l), solankou a vysušila (Na₂SO₄). Těkavé látky se odstranily za vakua při 55 °C a získal se olej (22,5 g, 92% výtěžek), který během stání ztuhnul.

Měření MS a H¹-NMR odpovídala požadované struktuře.

4. krok

Příprava

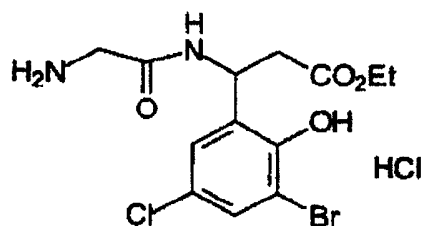


Z produktu v 3. kroku se odstranily chránící skupiny a získala se sůl kyseliny chlorovodíkové podle následujícího postupu. K produktu získanému v 3. kroku (14,0 g, 0,032 mol) se v plameni vysušené nádobě s kulatým dnem (0,1 l) přidával za míchání skleněnou tyčinkou suchý dioxan (40 ml). K tomuto roztoku se přidala HCl (4,0 M v dioxanu, 2 ekvivalenty, 6,32 ml) při 0 °C. Reakce proběhla do konce až po úplném zastavení vývoje plynu. Těkavé látky se odstranily za vakua a zbytek se rozmělnil v diethyletheru (50 ml). Pevné látky se smíchaly filtrací, promyly etherem a vysušením se získal požadovaný produkt (12,5 g).

Měření MS a H^1 -NMR odpovídala požadované struktuře.

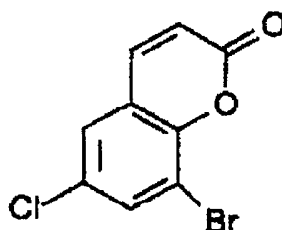
Příklad E

Příprava



1. krok

Příprava



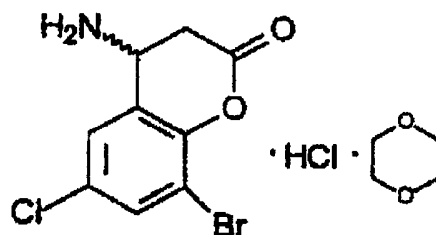
K suspenzi 3-brom-5-chlorsalicylaldehydu (175 g, 743,2 mmol) v acetanhydridu (280,5 ml, 3 mol) se přidal triethylamin (103,6 ml, 743,2 mmol). Reakční roztok se zahříval za refluxu 4,5 hodiny. Roztok se zchladil a zakonzentroval ve vakuu. Hnědý zbytek se přidal k absolutnímu ethanolu (730 ml). Směs se uchovala 14 hodin při 0 °C.

Filtrací se získala hnědá pevná látka, která se promyla zchlazeným ethanolem. Vysušením pevné látky za vakua se získal požadovaný produkt (123 g, 64% výtěžek).

Měření H^1 -NMR odpovídalo požadované struktuře.

2. krok

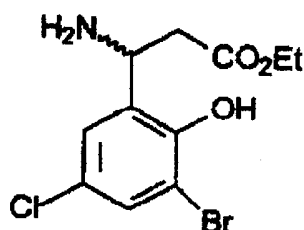
Příprava



K suspenzi kumarinu získaného v 1. kroku (40,0 g, 154,1 mmol) v THF (400 ml) se při $-76\text{ }^{\circ}\text{C}$ během míchání po kapkách přidal bis(trimethylsilyl)amid lithný (154,1 ml 1M roztoku v THF). Přidávání trvalo 10 minut. reakční směs se pak míchala 5 minut, zahřála na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a míchala 15 minut. K tomuto roztoku se během 5 minut přidala kyselina octová (9,25 g, 154,1 mmol) v THF (28 ml). Směs se zahřála na laboratorní teplotu a těkavé látky se odstranily za vakua. Zbytek se rozpustil v etheru (850 ml), promyl nasyceným vodným NaHCO_3 ($2 \times 100\text{ ml}$), solankou ($2 \times 40\text{ ml}$) a vysušil (MgSO_4). Roztok etheru se zakoncentroval na přibližně 160 ml a zchladil na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. K této suspenzi se přidala HCl (4M v dioxanu, 56,3 ml, 225 mmol) a směs se míchala 30 minut při $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Suspenze se přefiltrovala a filtrační koláč se důkladně promyl etherem. Pevná látka se vysušila ve vakuu a získal se požadovaný produkt ve formě soli HCl , solvát dioxanu (45 g). Měření H^1 -NMR odpovídalo požadované struktuře.

3. krok

Příprava

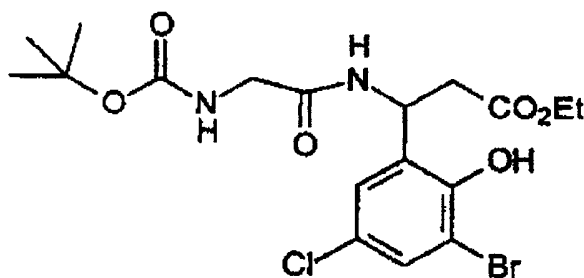


K suspenzi laktonu vyrobeného v 2. kroku (142,2 g, 354,5 mmol) v absolutním ethanolu (533 ml) se během 10 minut přidala HCl (4M v dioxanu, 157,8 ml, 631,1 mmol). Reakční směs se míchala 2,5 hodiny při laboratorní teplotě. Těkavé látky se odstranily za vakua. Zbytek se rozpustil v ethylacetátu (450 ml) a roztok se uchoval 15 hodin při 0 °C. Žlutohnědý precipitát se získal filtrací a promyl chlazeným ethylacetátem. Pevná látka se vysušila za vakua a získal se požadovaný produkt ve formě soli kyseliny chlorovodíkové (100,4 g, 79% výtěžek).

Měření ^1H -NMR odpovídalo požadované struktuře.

4. krok

Příprava



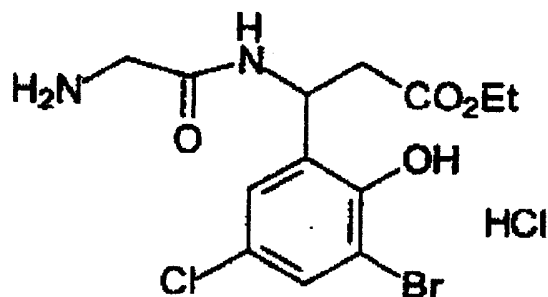
Do plamenem vysušené nádoby s kulatým dnem (0,1 l) opatřené míchadlem se přidal ester N-t-Boc-glycin N-hydroxysukcinimidu (Sigma, 2,72 g, 0,010 mol), suchý THF (Aldrich, Sure, Seal, 50 ml) a produkt z 3. kroku (3,10 g, 0,01 mol, vysušený ve vakua přes noc nad P_2O_5) v inertní atmosféře (Ar). Reakční směs se zchladila na přibližně 0 °C (ledová lázeň se solí) a přidal se triethylamin (1,01 g, 0,010 mol). Reakce probíhala přes noc. Reakční směs se zakoncentrovala na polotuhou a zpracovala postupem podobným jako v příkladu A, 3. kroku. Těkavé látky se odstranily z organické

vrstvy za vakua při 55 °C a získal se olej (4,0 g, 83% výtěžek), který ztuhl během stání.

Měření MS a H^1 -NMR odpovídala požadované struktuře.

5. krok

Příprava

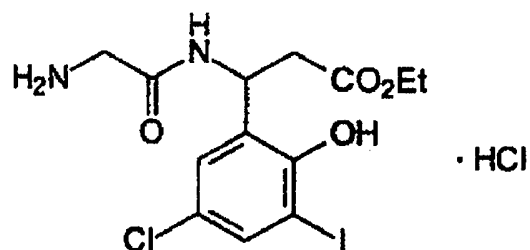


U produktu získaného ve 4. kroku se odstranila chránící skupina a získala se hydrochloridová sůl za použití následujícího postupu. K produktu získaném v 4. kroku (4,0 g, 0,0084 mol) se v plameni vysušené nádobě s kulatým dnem (0,1 l) během míchání skleněnou tyčinkou přidal suchý dioxan (20 ml). K této směsi se přidala HCl (4M v dioxanu, 20 ml) a reakce probíhala až do úplného ukončení vývinu plynu (přibližně 1 hodina). Těkavé látky se odstranily za vakua a zbytek se smíchal s diethyletherem (50 ml). Pevné látky se oddělily filtrací, promyly etherem a vysušením se získala světle hnědá pevná látka (2,7 g, 78% výtěžek).

Měření MS a H^1 -NMR odpovídala požadované struktuře.

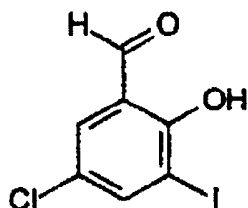
Příklad F

Příprava



1. krok

Příprava 3-jod-5-chlorsalicylaldehydu

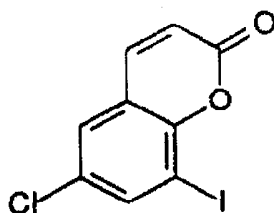


K roztoku 5-chlorsalicylaldehydu (100 g, 0,638 mol) v dimethylformamidu (400 ml) se přidal N-jodsukcinimid (144,0 g, 0,641 mol). Reakční směs se míchala 2 dny při laboratorní teplotě. Přidal se další N-jodsukcinimid (20,0 g) a míchání pokračovalo další dva dny. Reakční směs se zředila ethylacetátem (1l), promyla kyselinou chlorovodíkovou (300 ml, 0,1 M), vodou (300 ml), thiosulfátem sodným (5%, 300 ml), solankou (300 ml), vysušila (MgSO_4) a zakoncentrovala na suchou látku, aby se požadovaný aldehyd získal ve formě bledě žluté pevné látky (162 g, 90% výtěžek).

Měření MS a ^1H -NMR odpovídala požadované struktuře.

2. krok

Příprava 6-chlor-8-jodkumarinu

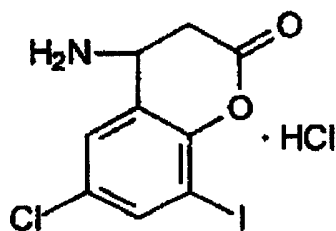


Směs 3-jod-5-chlorsalicylaldehydu (100 g, 0,354 mol), anhydridu kyseliny octové (300 ml) a triethylaminu (54 ml) se zahřívala 18 hodin za refluxu. Po zchlazení požadovaný kumarin precipitoval ve formě tmavě hnědé krystalické látky. Precipitát se přefiltroval, promyl směsí hexan/ethylacetát (4:1, 200 ml) a vysušil na vzduchu. [Výtěžek: 60 g (55% výtěžek)]. Další množství požadovaného produktu (10 g, 9% výtěžek) lze získat z filtrátu během skladování.

Měření MS a ^1H -NMR odpovídala požadované struktuře.

3. krok

Příprava (R,S)-4-amino-3,4-dihydro-6-chlor-8-jodkumarin hydrochloridu

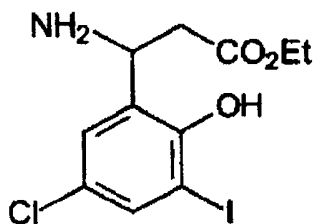


K roztoku 6-chlor-8-jodkumarinu (6,63 g, 21,62 mmol) v tetrahydrofuranu (100 ml) se při -78°C přidal hexamethyldisilazan lithný (21,62 ml, 1M, 21,62 mmol). Reakční směs se míchala 30 minut při této teplotě a pak 1 hodinu při 0°C . K reakční směsi se přidala kyselina octová (1,3 g, 21,62 mmol). Reakční směs se nalila do ethylacetátu (300 ml) a nasýtla roztokem uhličitanu sodného (200 ml). Organická vrstva se oddělila, a promyla solankou (200 ml) a následně směsí dioxan/HCl (4M, 30 ml) při 0°C . Reakční směs se míchala 1 hodinu při laboratorní teplotě, přefiltrovala a vysušením za vakua se získal požadovaný produkt ve formě prášku (4,6 g, 59% výtěžek). (rphplc: R_f 6,8 minut: Gradient 10% acetonitril - 90% acetonitril během 15 minut, pak 100% acetonitril během dalších 6 minut. Voda i acetonitril obsahoval 0,1% TFA. Protein peptidová kolo- na Vydac C18, průtoková rychlost 2 ml/min, monitorováno při 254 nm).

Měření MS a ^1H -NMR odpovídala požadované struktuře.

4. krok

Příprava (R,S)-ethyl-(3-amino-3-(5-chlor-2-hydroxy-3-jod)fenylpropionát) hydrochloridu.

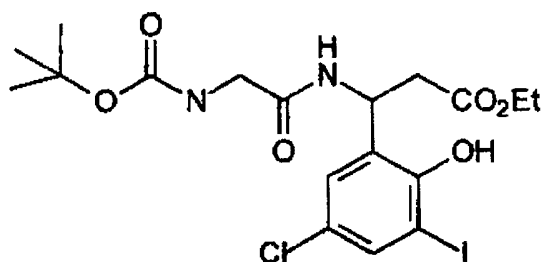


Roztokem 4-amino-3,4-dihydro-6-chlor-8-jodkumarin hydrochloridu (22,0 g, 61,09 mmol) v ethanolu (250 ml) se nechával probublávat chlorovodík při teplotě 0 až 10 °C až do nasycení. Po 6 hodinách refluxu se většina rozpouštědla odstranila destilací. Zchlazený zbytek se přidal k bezvodému etheru a míchal 2 hodiny. Původní látka gumovité konzistence se přeměnila na krystalickou látku. Krystalický produkt se přefiltroval a vysušením se získal požadovaný produkt ve formě ne zcela bílého krystalického prášku (20 g, 81% výtěžek). (Rf. 7,52 min, podmínky jako v 3. kroku).

Měření MS a ^1H -NMR odpovídala požadované struktuře.

5. krok

Příprava (R,S)-ethyl-(3-(N-BOC-gly)-amin-3-(5-chlor-2-hydroxy-3-jod)fenylpropionátu)

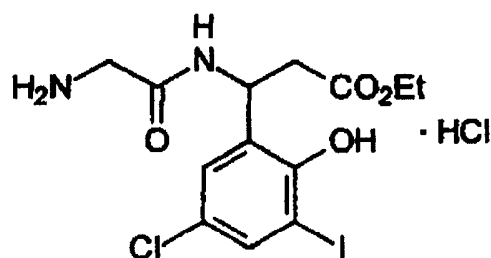


Směs BOC-gly (2,16 g, 12,31 mmol), HOBT (1,67 g, 12,31), EDCI (2,36 g, 12,31 mmol) a DMF (50 ml) se míchala 1 hodinu při 0 °C. K reakční směsi se přidal ethyl-(3-amin-3-(5-chlor-2-hydroxy-3-jod)propionát) hydrochlorid (5,0 g, 12,31 mmol) a následně triethylamin (3,5 ml). Reakční směs se míchala 18 hodin při laboratorní teplotě. DMF se odstranil za vakua a zbytek se rozdělil mezi ethylacetát (300 ml) a hydrogenuhličitan sodný (200 ml). Organická vrstva se promyla kyselinou chlorovodíkovou (1M, 100 ml), solankou (200 ml), vysušila (MgSO_4) a zakoncentrováním se získal požadovaný produkt ve formě pevné látky (6 g, 93% výtěžek).

Měření MS a ^1H -NMR odpovídala požadované struktuře.

6. krok

Příprava (R,S)-ethyl-(3-(N-gly)-amino-3-(5-chlor-2-hydroxy-3-jod)fenylpropionát) hydrochloridu

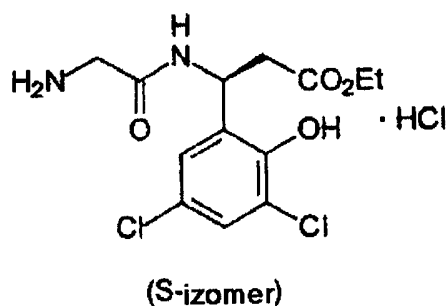


K ethyl 3-(N-BOC-gly)-amin-3-(5-chlor-2-hydroxy-3-jod)propionátu (6,0 g, 11,30 mmol) se při 0 °C přidala směs dioxan/HCl (4M, 2 ml) a míchala se 3 hodiny při laboratorní teplotě. Reakční směs se zakoncentrovala, přidal se toluen (100 ml) a pak se reakční směs opět zakoncentrovala. Získaný zbytek se rozsuspendoval v etheru, přefiltroval a vysušením se získal požadovaný produkt ve formě krystalického prášku (5,0 g, 95% výtěžek). (rphplc: Rf 8,3 min., podmínky jako v 3. kroku).

Měření MS a ^1H -NMR odpovídala požadované struktuře.

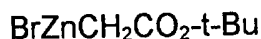
Příklad G

Příprava



1. krok

Příprava čininidla Reformatski

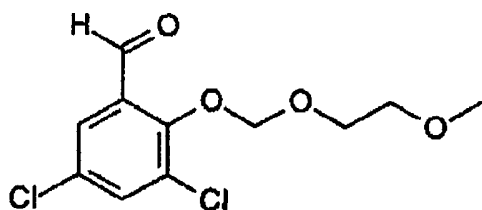


Čtyřlitrová nádoba opatřená chladičem, teploměrem a mechanickým míchadlem se naplnila kovovým Zn (180,0 g, 2,76 mol, o velikosti zrn 30 až 100) a THF (1,25 l). Během míchání se pomocí stříkačky přidal 1,2-dibromethan (4,74 ml, 0,06 mol) [případně může být nahrazen přídávkem TMS Cl (0,1 ekvivalentu) během jedné hodiny při

laboratorní teplotě]. Po očištění inertním plynem (3 cykly N_2 /vakuum) se suspenze zinku v THF zahřála k refluxu ($65\text{ }^\circ\text{C}$) a ponechala 1 hodinu při této teplotě. Směs se zchladila na $50\text{ }^\circ\text{C}$ před přidavkem terc.butylbromacetátu (488 g, 369 ml, 2,5 mol) pomocí 50 ml stříkačky a stříkačkové pumpy (rychlost přidávání 4,1 ml/min) během 1,5 hodiny. Reakční teplota se během přidávání udržovala při $50\text{ }^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$. Po dokončení přidavku se reakční směs následně míchala 1 hodinu při $50\text{ }^\circ\text{C}$. Pak se reakční směs zchladila na $25\text{ }^\circ\text{C}$ a precipitovaný produkt se usadil. Matečný roztok se dekantoval do dvouhrdlové nádoby s kulatým dnem za použití hrubého filtračního papíru a částečného vakua (20 mm Hg). Tím se odstranilo přibližně 65% THF ze směsi. Přidal se 1-methyl-2-pyrolidinon (NMP, 800 ml) a reakce pokračovala 5 minut. Reakční směs se může přefiltrovat pro odstranění zbylého zinku. Analýzou byl stanoven titr požadovaného činidla Reformatski 1,57 M s molárním výtěžkem 94%. Pevná látka se může případně vyizolovat filtrací z původní reakční směsi. Filtrační koláč se promyl THF až se získala bílá pevná látka a vysušila v dusíkové atmosféře. Získal se požadovaný produkt ve formě mono solvát THF, který se může skladovat při $-20\text{ }^\circ\text{C}$ (doporučeno) po delší dobu. Běžné výtěžky činí 85 až 90%.

2. krok

A. Příprava



K roztoku 3,5-dichlorsalicylaldehydu (11,46 g, 60 mmol) v DMF (40 ml) se při laboratorní teplotě přidal uhličitan draselný (prášek, vysušený v peci při $100\text{ }^\circ\text{C}$ za vakua, 8,82 g, 60 mmol) a získala se světle žlutá suspenze. Pak se přidal MEMCl (čistý, 7,64 g, 61 mmol), přičemž se teplota lázně udržovala při $20\text{ }^\circ\text{C}$. Směs se pak míchala 6 hodin při $22\text{ }^\circ\text{C}$ a přidal se MEMCl (0,3 g, 2,4 mmol). Směs se míchala další 0,5 hodiny a reakční směs se nalila do studené vody (200 ml) za precipitace produktu. Suspenze se přefiltrovala na tlakovém filtru a filtrační koláč se promyl vodou (2×50 ml) a vysu-

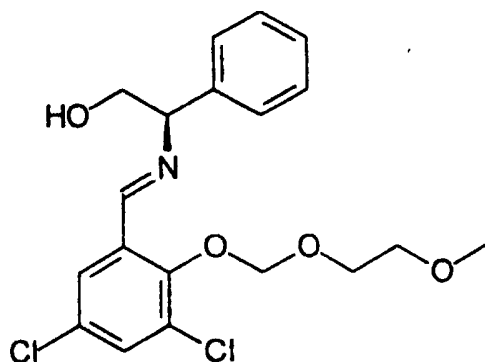
šením v atmosféře N_2 /vakuum se získal produkt ve formě ne zcela bílé pevné látky (14,94 g, 89% výtěžek).

1H -NMR ($CDCl_3$, TMS) 3,37 (s, 3H), 3,54 až 3,56 (m, 2H), 3,91 až 3,93 (m, 2H), 5,30 (s, 2H), 7,63 (d, 1H), 7,73 (d, 1H), 10,30 (s, 1H); ^{13}C NMR ($CDCl_3$, TMS) δ (ppm): 59,03, 70,11, 99,57, 126,60, 129,57, 130,81, 132,07, 135,36, 154,66, 188,30. DSC: 48,24°C (endo 90,51 J/g).

Mikroanalýza: vypočteno pro $C_{11}H_{12}Cl_2O_4$: C: 47,33%; H: 4,33%; Cl: 25,40%

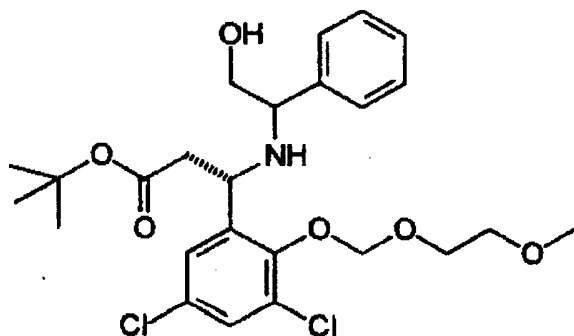
Skutečné hodnoty: C: 47,15%; H: 4,26%; Cl: 25,16%.

B. Příprava



Produkt z kroku 2A (35,0 g, 0,125 mol) se přidal do litrové tříhrdlové nádoby s kulatým dnem opatřené mechanickým míchadlem a další nálevkou pro přidavek THF (200 ml). Roztok se míchal při 22 °C a pak se naráz přidal (S)-fenylglycinol (17,20 g, 0,125 mol). Po 30 minutách se při 22 °C přidal $MgSO_4$ (20 g). Směs se míchala 1 hodinu při 22 °C a přefiltrovala přes hrubý filtrační papír. Filtrát se zakoncentroval za sníženého tlaku. Neprovádělo se žádné další přečištění a surový imin se použil přímo v kondenzační reakci, v 2. kroku příkladu C.

C. Příprava



Produkt z 1. kroku (91,3 g, 0,275 mol) a NMP (200 ml) v dusíkové atmosféře se pomocí přidané nálevky přidal do tří hrdlové litrové nádoby s kulatým dnem opatřené mechanickým míchadlem. Roztok se pak zchladił na $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a míchal při 350 rpm. V dusíkové atmosféře se připravil roztok iminu (připravený v kroku B) v NMP a pak se během 20 minut přidával k reakční směsi, přičemž se teplota udržovala při $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (teplota pláště $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$). Směs se míchala další 1,5 hodiny při $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ a po dokončení přidavku další hodinu při $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po zchlazení na $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ se přidala směs koncentrovaná HCl/nasycený roztok NH_4Cl (100 ml), voda (100 ml) a k roztoku se přidala solanka (100 ml). Přidal se MTBE (200 ml) a směs se míchala 15 minut při $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ a 200 rpm. Míchání se zastavilo a vrstvy se odseparovaly. Vodná vrstva se extrahovala MTBE (100 ml). Obě organické vrstvy se smíchaly, postupně promyly nasyceným roztokem NH_4Cl (100 ml), vodou (100 ml) a solankou (100 ml). Roztok se vysušil MgSO_4 (30 g), přefiltroval a zakoncentrováním se získal oranžový olej (66,3 g) (tuhnoucí během stání) obsahující požadovaný produkt ve formě jednoduchého diastereoizomeru, jak bylo stanoveno na základě NMR protonů a uhlíků. Vzorek se pro analýzu přečistil rekrytalizací z heptanu. Tím se získal produkt ve formě ne zcela bílé pevné látky. NMR protonů a uhlíků a IR spektra byla v souladu s požadovaným produktem. $[\alpha]_{25}^D = +8,7^{\circ}$

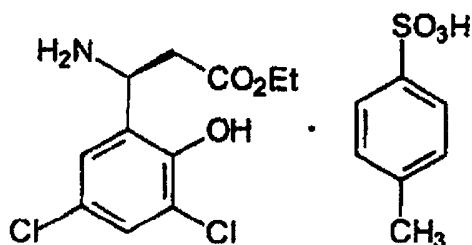
($c = 1,057$, MeOH). Mikroanalýza: vypočteno pro $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{Cl}_2\text{NO}_6$:

C: 58,77%; H: 6,47%; N: 2,72%; Cl: 13,78%

Skutečné hodnoty: C: 58,22%; H: 6,54%; N: 2,70%; Cl: 13,66%

3. krok

Příprava



Roztok surového esteru připravený v 2. kroku [17,40 g, 0,033 mol (teoreticky)] a EtOH (250 ml) se přidal do 1 litrového tří hrdlového reaktoru opatřeného límcem. Roztok se zchladil na 0 °C a v jedné dávce se přidal $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ (14,63 g, 0,033 mol). Po 2 hodinách se přidal 15% roztok NaOH (30 ml) a ethanol se odstranil za sníženého tlaku. Přidal se další díl 15% NaOH (100 ml) a směs se extrahovala MTBE (2×100 ml), promyla H_2O (2×100 ml) a solankou (50 ml), vysušila Na_2SO_4 , přefiltrovala přes celit a zakoncentrovala za sníženého tlaku a získal se oranžový olej (12,46 g), jako homogenní látka po stanovení tlc. Olej se použil bez dalšího přečištění.

B. Olej z kroku A se zředil pomocí EtOH (30 ml) a přidala se kyselina paratoluen-sulfonová (1,3 ekvivalenty, 0,043 mol, 8,18 g). Roztok se zahřál k refluxu na 8 hodin, zchladil na teplotu okolí a zakoncentroval za sníženého tlaku. Zbytek se smíchal s THF (20 ml) a zahřál k refluxu, čímž se vytvořil roztok. Roztok se zchladil na laboratorní teplotu a sloučenina vykristalizovala. Přidal se heptan (30 ml) a THF (10 ml) a vytvořila se tekutá suspenze, která se přefiltrovala. Filtrační koláč se promyl směsí THF/heptan (40 ml, 1/1), dvě hodiny sušil za vakua na tlakovém filtru v atmosféře dusíku a získala se bílá pevná látka (7,40 g).

Protonová a uhlíková NMR a IR spektra byla v souladu s požadovaným produktem v podstatě ve formě jednoho enantiomeru.

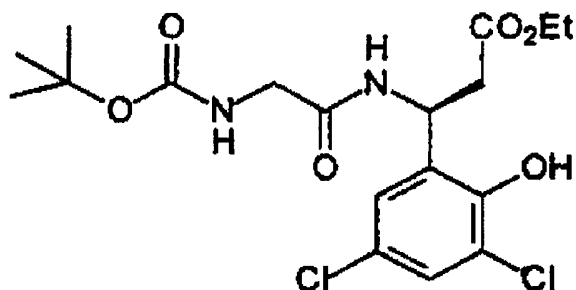
Mikroanalýza: vypočteno pro $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{NO}_6\text{S}$, 0,25 $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$:

C: 48,73%; H: 4,95%; N: 2,99%; Cl: 15,14%

Skutečné hodnoty: C: 48,91%; H: 4,95%; N: 2,90%; Cl: 14,95%

4. krok

Příprava

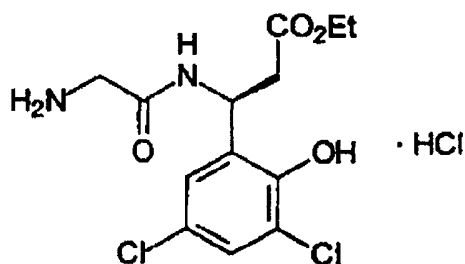


Nádoba (500 ml) s kulatým dnem opatřená magnetickým míchadlem se v dusíkové atmosféře naplnila produktem z 3. kroku (21,7 g, 0,065 mol), esterem N-t-Boc-glycin N-hydroxysukcinimidu (17,7 g, 0,065 mol) a DMF (200 ml). Reakční směs se míchala 3,25 hodiny v dusíkové atmosféře za laboratorní teploty a získal se bledě oranžový roztok. Reakční směs se nalila do ledem zchlazeného ethylacetátu (1,2 l). Organický roztok se promyl 1M HCl (250 ml) a pak solankou (500 ml), vysušil (MgSO_4) a zakoncentrováním za vakua téměř dosucha se získal se olej, který se následně vysušil při 50°C a získal se produkt ve formě bezbarvého oleje (28,12 g, 99% výtěžek). Ze směsi ethylacetát/hexan se připravily zrnité krystaly. Produkt (přibližně 28 g) se rozpustil v ethylacetátu (35 ml) a hexanu (125 ml). Roztok se zrnitými krystaly zkrystalizoval a vytvořil se precipitát. Pevné látky se odfiltrovaly a přes noc vysušily za vakua při 55°C a získala se bezbarvá pevná látka (27,0 g, 95% výtěžek)

^1H - NMR byla v souladu s požadovaným produktem.

5. krok

Příprava

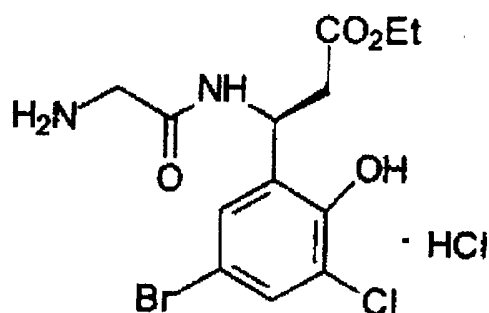


Glycinamid chráněný Boc připravený ve 4. kroku (27,0 g, 0,062 mol) se vysušil přes noc nad P_2O_5 a NaOH se usadil. Pevná látka se rozpustila v dioxanu (40 ml) a roztok se zchladil na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Přidal se ekvivalentní objem 4M směsi HCl/dioxan (0,062 mol) a reakce probíhala 2 hodiny. Za tuto dobu byla konverze 80%, jak bylo stanoveno rphplc. Reakční směs se zahřívala 4 hodiny na laboratorní teplotu. Reakční směs se při $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ zakoncentrovala na pěnu, která se rozmíchala v etheru (200 ml). Vytvořila se bílá pevná látka, která se přefiltrovala a vysušila nad P_2O_5 . Získal se požadovaný ethylester glycin beta-aminokyseliny ve formě soli HCl (20,4%, 88,5% výtěžek po izolaci).

$^1\text{H-NMR}$ a MS byla v souladu se strukturou.

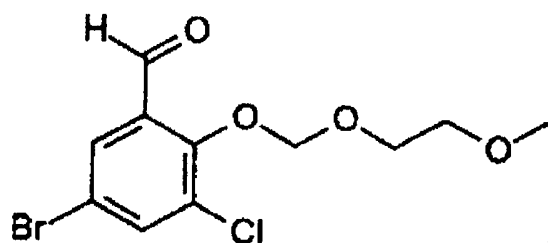
Příklad H

Příprava



1. krok

Příprava



K roztoku 3-chlor-5-bromsalicylaldehydu (35 g, 0,15 mol) v DMF (175 ml) se přidal uhličitan draselný (práškový, vysušený v peci při $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ za vakua, 22,1 g, 0,16 mol) při laboratorní teplotě a získala se světle žlutá suspenze. Pak se přidal MEMCl (čistý, 25,0 g, 0,2 mol) a teplota lázně se udržovala při $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Směs se pak míchala 6 hodin

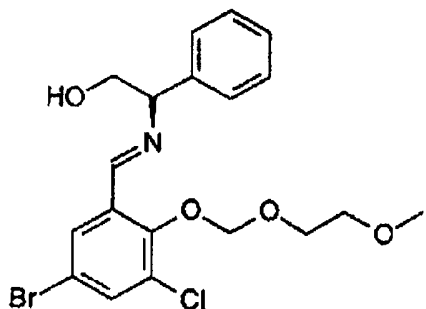
při 22 °C a nalila se do DI vody (1200 ml) a produkt precipitoval. Suspenze se přefiltrovala na tlakovém filtru, filtrační koláč se promyl DI vodou (2 × 400 ml) a vysušením za vakua v dusíkové atmosféře se získal produkt ve formě ne zcela bílé pevné látky (46 g, 95% výtěžek). ^1H - NMR (CDCl_3 , TMS) 3,35 (s, 3H), 3,54 až 3,56 (m, 2H), 3,91 až 3,93 (m, 2H), 5,30 (s, 2H), 7,77 (d, 1H), 7,85 (d, 1H), 10,30 (s, 1H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , TMS)(ppm): 59,05, 70,11, 71,49, 99,50, 117,93, 129,69, 129,78, 132,37, 138,14, 155,12, 188,22. DSC: 48,24 °C (endo 90,51 J/g);

Mikroanalýza: vypočteno pro $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{BrClO}_4$:

C: 40,82%; H: 3,74%; N: 10,95%; Br: 24,69% Skutečné hodnoty: C: 40,64%; H: 3,48%; N: 10,99%; Br: 24,67%

2. krok

Příprava



Produkt získaný v 1. kroku (32,35 g, 0,1 mol) se přidal do 500 ml tříhrdlé nádoby s kulatým dnem opatřené mechanickým míchadlem a následně se přidal THF (160 ml) a (S)-fenylglycinol (13,71 g, 0,1 mol). Po 30 minutách se při 22 °C přidal MgSO_4 (20 g). Směs se míchala 1 hodinu při 22 °C a přefiltrovala přes hrubý filtrační papír. Filtrát se zakoncentroval za sníženého tlaku a získal se bledě žlutý olej (48,0 g) obsahující imin. Surový produkt bez dalšího přečištění se použil přímo ve slučovací reakci.

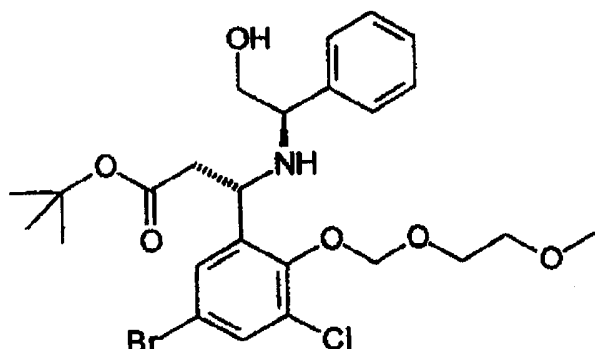
Mikroanalýza: vypočteno pro $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{BrClNO}_4$:

C: 51,54%; H: 4,78%; N: 3,16%; Br: 18,04%; Cl: 8,00%;

Skutečné hodnoty: C: 51,52%; H: 5,02%; N: 2,82%; Br: 16,31%; Cl: 7,61%.

3. krok

Přírava



Do 5l tříhrdlkové nádoby s kulatým dnem opatřené mechanickým míchadlem, se přidalo činidlo z 1. kroku příkladu G (332 g, 0,8 mol) v NMP (660 ml) v dusíkové atmosféře. Roztok se pak zchladil na -10°C . V dusíkové atmosféře se připravil roztok iminu vyrobený v 2. kroku v NMP (320 ml) v dusíkové atmosféře a pak se během 30 minut přidal k výše uvedené reakční směsi, přičemž se teplota udržovala při -5°C . Směs se míchala další hodinu a pak se zchladila na -10°C . Během 10 minut se přidala směs koncentrovaného roztoku NH_4Cl (30 ml/720 ml) nasyceného HCl . Přidal se MTBE (760 ml) a směs se míchala 1 hodinu při 23°C . Míchání se zastavilo a vrstvy se oddělily. Vodná vrstva se extrahovala MTBE (320 ml). Organické vrstvy se smíchaly, důkladně promyly nasyceným roztokem NH_4Cl (320 ml), DI vodou (320 ml) a solankou (320 ml). Roztok se vysušil MgSO_4 (60 g), a přefiltrováním a zakoncentrováním se získal žlutý olej (228 g) obsahující požadovaný produkt ve formě jednoho diastereoisomeru.

DSC: $227,54^{\circ}\text{C}$ (endo. 61,63 J/g);

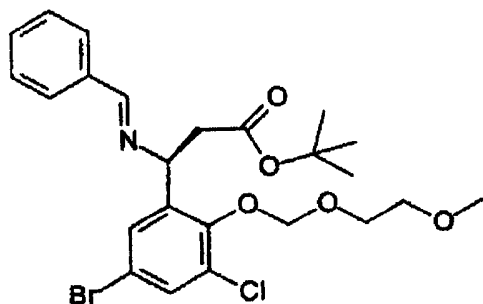
Mikroanalýza: vypočteno pro $\text{C}_{25}\text{H}_{33}\text{BrClNO}_6$:

C: 53,72%; H: 5,95%; N: 2,50%; Br: 14,29%; Cl: 6,33%

Skutečné hodnoty: C: 53,80%; H: 6,45%; N: 2,23%; Br: 12,85%; Cl: 6,12%.

4. krok

Příprava



Roztok surového esteru z 3. kroku (asi 111 g) v ethanolu (1500 ml) se v dusíkové atmosféře přidal do 3l tříhrdlé nádoby s kulatým dnem opatřené mechanickým míchadlem. Reakční směs se zchladila na 0 °C a naráz se přidal tetraacetát olova (88,67 g, 0,2 mol). Reakční směs se míchala 3 hodiny při 0 °C a pak se k reakční směsi při teplotě nižší než 5 °C přidal 15% NaOH (150 ml). Ethanol se odstranil na rotační vakuové odparce. Přidal se další 15% NaOH (600 ml) a reakční směs se extrahovala ethylacetátem (2 × 300 ml), MTBE (2 × 200 ml) a ethylacetátem (2 × 200 ml). Organické vrstvy se smíchaly a promyly DI vodou (2 × 200 ml) a solankou (2 × 100 ml) a vysušily nad MgSO₄ (30 g). Roztok se pak přefiltroval přes celit a zakoncentroval za sníženého tlaku a získal se produkt ve formě oranžového oleje (96 g), který se použil v dalším kroku bez dalšího přečištění.

DSC: 233,60 °C (endo. 67,85 J/g);

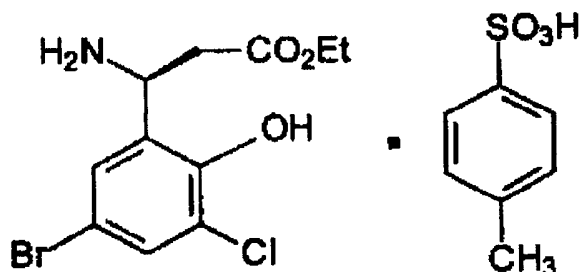
Mikroanalýza: vypočteno pro C₂₄H₂₉BrClNO₅:

C: 54,71%; H: 5,54%; N: 2,65%; Br: 15,16%; Cl: 6,72%;

Skutečné hodnoty: C: 52,12%; H: 5,40%; N: 2,47%; Br: 14,77%; Cl: 6,48%.

5. krok

Příprava



K surovému produktu ze 4. kroku (přibližně 94 g) v absolutním ethanolu (180 ml) se přidal monohydrát kyseliny paratoluensulfonové (50,0 g, 0,26 mol). Reakční směs se zahřála k refluxu na 8 hodin a rozpouštědlo se pak odstranilo za sníženého tlaku. Zbytek pevné látky se smíchal s THF (100 ml) a THF se pak odstranil za sníženého tlaku. Zbytek se rozpustil v ethylacetátu (500 ml) a zchladil na přibližně 5 °C. Výsledná pevná látka se přefiltrovala a promyla v heptanu (2 × 50 ml) a získal se bílá pevná látka. Pevná látka se vysušila na vzduchu a získal se produkt ve formě bílé pevné látky (38 g), jako jediný izomer.

^1H - NMR (DMSO, TMS) (ppm) 1,12 (t, 3H), 2,29 (s, 3H), 3,0 (m, 2H), 4,05 (q, 2H), 4,88 (t, 1H), 7,11 (d, 2H), 7,48 (d, 2H), 7,55 (d, 1H), 7,68 (1H, d); 8,35 (br, s, 3H); ^{13}C NMR (DMSO, TMS) (ppm): 13,82, 20,75, 37,13, 45,59, 60,59, 110,53, 122,47, 125,44, 127,87, 128,06, 129,51, 131,95, 137,77, 145,33, 150,14, 168,98; DSC: 69,86 °C (end., 406,5 J/g), 165,72 °C (end. 62,27 J/g), 211,24 °C (exo. 20,56 J/g) $[\alpha]_{25}^D = +4,2^\circ$ (c = 0,960, MeOH); IR (MIR) (cm^{-1}) 2922, 1726, 1621, 1591, 1494, 1471, 1413, 1376, 1324, 1286, 1237, 1207;

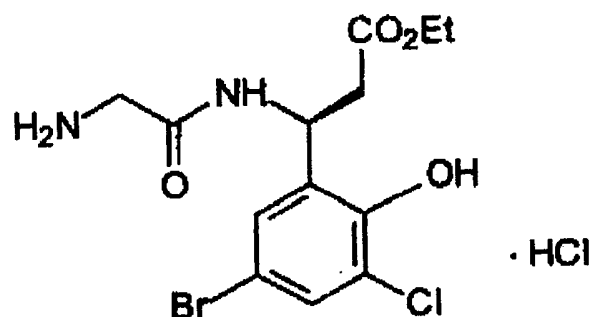
Mikroanalýza: vypočteno pro $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{BrClNO}_6\text{S}$:

C: 43,69%; H: 4,27%; N: 2,83%; Br: 16,15%; Cl: 7,16%; S: 6,48%;

Skutečné hodnoty: C: 43,40%; H: 4,24%; N: 2,73%; Br: 16,40%; Cl: 7,20%; S: 6,54%.

6. krok

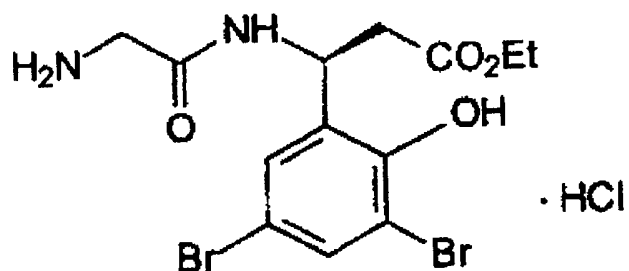
Příprava



Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupů v příkladu G, 4. kroku a 5. kroku, kde bylo nahrazeno ekvivalentní množství meziprojektu připraveného v 5. kroku, ve formě volné báze, nahrazeno meziprojektu z 4. kroku z příkladu G. ¹H-NMR a MS byla v souladu s požadovaným produktem.

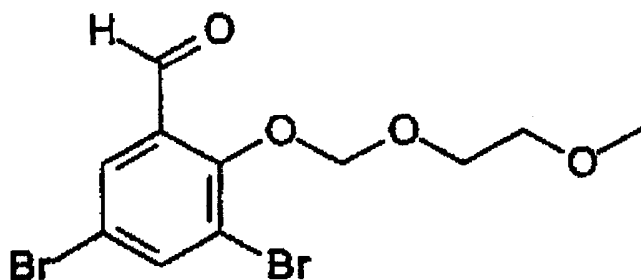
Příklad I

Příprava



1. krok

Příprava



Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu příkladu G, kroku 2A, nahrazením ekvivalentního množství 2-hydroxy-3,5-dibrombenzaldehydu, 3,5-dichlorsalicylaldehydem.

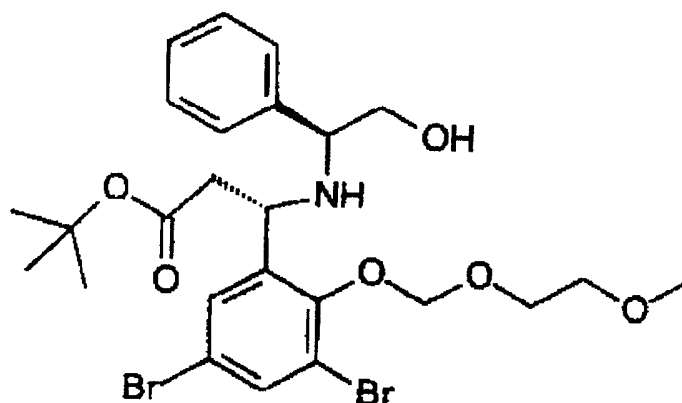
Výtěžek: 88 %; bledě žlutá pevná látka: teplota tání 46 °C až 47°C; $R_f = 0,6$ (EtOAc/hexan 1:1 v/v); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 3,37 (s, 3H), 3,56 (m, 2H), 3,92 (m, 2H), 5,29 (s, 2H), 7,91 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 7,94 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 10,27 (s, 1H); FAB-MS m/z 367.

(M^+) HR - MS vypočteno pro $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{Br}_2\text{O}_4$: 367,9083

Skutečná hodnota: 367,9077.

$^1\text{H-NMR}$ a MS byla v souladu s požadovanou sloučeninou.

2. krok



Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu v příkladu G, kroku 2B a 2C, nahrazením ekvivalentního množství sloučeniny v 1. kroku postupu.

Výtěžek: 90 %; žlutá pevná látka; bod tání 57 °C až 59 °C; $R_f = 0,46$ (EtOAc/hexan 1:1 v/v); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ 1,45 (s, 9H); 2,1 (br, 1H, zaměnitelné), 2,51 (d, 1H, $J_1 = 9,9$ Hz, $J_2 = 15,3$ Hz), 2,66 (d, 1H, $J_1 = 4,2$ Hz, $J_2 = 15,3$ Hz), 3,02 (br, 1H, zaměnitelné), 3,39 (s, 3H), 3,58 - 3,62 (m, 4H), 3,81 (m, 1H), 3,93 (m, 2H), 4,63 (dd, 1H, $J = 4,2$ Hz), 5,15 (s, 2H), 7,17-7,25 (m, 6H), 7,49 (d, 1H); FAB-MS m/z 602 ($\text{M}+\text{H}$)

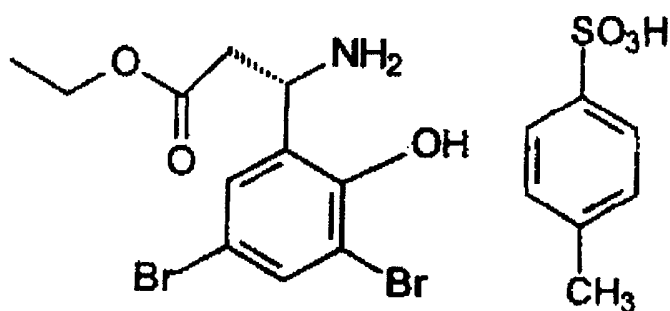
HR-MS vypočteno pro $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{NBr}_2\text{O}_6$: 602,0753

Skutečné hodnoty: 602,0749

$^1\text{H-NMR}$ a MS byla v souladu s požadovanou sloučeninou.

3. krok

Příprava



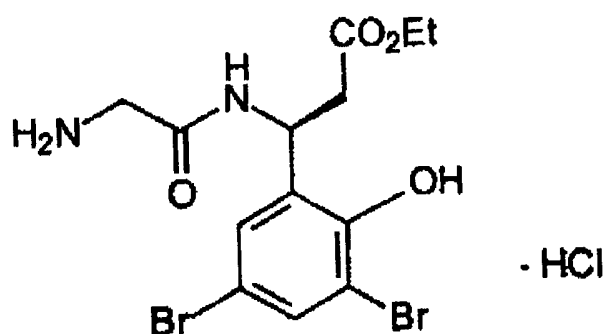
Výše uvedená sloučenina (sůl p-toluensulfonátu) se připravila podle postupu v příkladu G, 3. kroku nahrazením ekvivalentního množství produktu v 2. kroku v příkladu G, krokem 3A. Výtěžek: 62 %; bílá pevná látka; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) δ 1,09 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz); 2,27 (s, 3H), 2,97 (dd, 2H, $J_1 = 3,0$ Hz, $J_2 = 7,2$ Hz); 4,02 (q, 2H, $J_1 = 7,2$ Hz), 4,87 (t, 1H, $J = 7,2$ Hz), 7,08 (d, 2H, $J = 4,8$ Hz), 7,45 (m, 3H), 7,57 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz), 8,2 (br, 3H); FAB-MS m/z 365 ($\text{M}+\text{H}$)
 HR-MS vypočteno pro $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{NBr}_2\text{O}_3$: 365,9340

Skutečné hodnoty: 365,9311

$^1\text{H-NMR}$ a MS byla v souladu s požadovaným produktem.

4. krok

Příprava

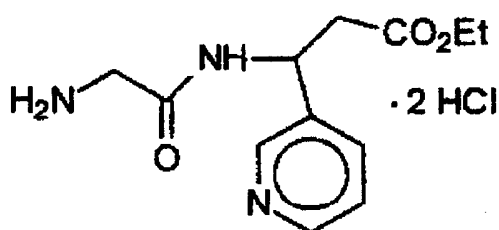


Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu v příkladu G, 4. kroku a nahrazením sloučeniny připravené v 3. kroku pro přípravu meziprojektu chráněného BOC. Výsledný meziprojekt chráněný BOC se přeměnil na požadovanou sloučeninu použitím postupu z příkladu G, 5. kroku.

$^1\text{H-NMR}$ a MS byla v souladu s požadovanou sloučeninou.

Příklad J

Příprava bis hydrochloridové soli ethyl-(β-[(2-aminoacetyl)amino]pyridin-3-propanoátu)



1. krok

K 3-pyridin karboxaldehydu (300 ml) v 2-propanolu (3 litry) se přidal octan amonný (297 g) a následně kyselina malonová (398 g). Reakční směs se míchala 5 hodin za refluxu. Precipitát se zahorka přefiltroval a promyl horkým izopropanolem (2 litry). Výsledná bílá pevná látka se následně vysušila a získala se DL-3-amin-3-(3-pyridyl)propionová kyselina ve formě bílé pevné látky (220 g).

NMR a MS byla v souladu s požadovaným produktem.

2. krok

DL-3-amin-3-(3-pyridyl)propionová kyselina (220 g) z 1. kroku se rozsuspendovala v absolutním EtOH (3,6 litru). Chlorovodík během míchání probublával reakční směsí po dobu 40 minut. Suspenze se pak zahřívala 4 hodiny za refluxu (roztok se vytvořil po 1 až 1,5 hodině). Reakční směs se zchladila na 5 °C v ledové lázni. Po 1,5 hodinovém míchání při 5 °C se výsledný bílý precipitát odfiltroval a důkladně promyl etherem. Po sušení za vakua při 50 °C se získal požadovaný produkt, dihydrochlorid ethyl-(DL-3-amin-3-(3-pyridyl)propionátu) ve formě bílé pevné látky (331,3 g).

NMR a MS byla v souladu s požadovaným produktem.

3. krok

K dihydrochloridu ethyl-(DL-3-amin-3-(3-pyridyl)propionátu) (220,6 g, 0,83 mol) z 2. kroku v bezvodém THF (2 litry) a triethylayminu (167,2 g, 1,65 mol) se po částech přidal ester N-t-BOC-glycin N-hydroxysukcinimidu (225 g, 0,826 mol) (Sigma) při 5 °C až 10 °C. Reakční směs se míchala přes noc při laboratorní teplotě. Výsledný precipitát se přefiltroval a promyl THF. Rozpouštědlo z filtrátu se odstranilo za vakua. Zbytek se rozpustil v ethylacetátu (2,3 litry). Vrstva ethylacetátu se promyla nasyceným roztokem

uhličitanu sodného (2×900 ml) a H_2O (3×900 ml), vysušila nad MgSO_4 a odstranila za vakua. Zbytek se přes noc rozsuspendoval v 10% směsi ethylacetát/hexan (2,5 litru). Precipitát se odfiltróval, promyl 10% roztokem ethylacetát/hexan (1 litr), pak hexanem a po vysušení se získal ethyl-(β -[2-[[1,1-dimethylethoxy)karbonyl]amin]acetyl]-amino]-pyridin-3-propanoát) ve formě bílé pevné látky (233 g).

NMR a MS byla v souladu s požadovaným produktem.

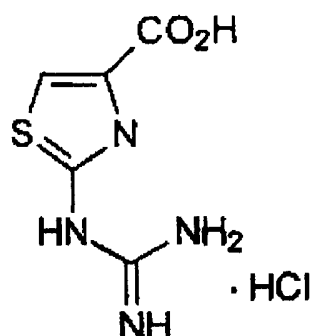
4. krok

Ethyl-(β -[2-[[1,1-dimethylethoxy)karbonyl]amino]acetyl]amino]-pyridin-3-propanoát) (3. krok) (232 g, 0,66 mol) se rozpustil v horkém dioxanu (1 litr). Po zchlazení na laboratorní teplotu se pomalu přidal 4M HCl v dioxanu (1,6 litru) (Aldrich). Po několika minutách se vytvořil bílý precipitát, který se přeměnil na hustou lepivou látku. Za 2 hodiny se rozpouštědlo dekantovalo. Zbytek se rozsuspendoval v etheru a ether se dekantoval až se získala pouze bílá pevná látka. Tato se vysušila za vakua a získala se bis hydrochloridová sůl ethyl-(β -[(2-aminoacetyl)amino]pyridin-3-propanoátu) ve formě bílé hygroskopické pevné látky (224,2 g).

NMR a MS byla v souladu s požadovaným produktem.

Příklad K

Příprava hydrochloridu 2-guanidin-4-karboxy thiazolu



1. krok

K 2-imin-4-thiobiuretu (11,1 g, 0,094 mol) (Aldrich) v absolutním EtOH (100 ml) se za refluxu po částech přidal ethyl-(brompyruvát) (20,0 g, 0,102 mol) (Aldrich). Roztok se míchal za refluxu 2 hodiny. Přidal se další ethyl brompyruvát (2,0 g) a reakce

pokračovala za refluxu další 2 hodiny. Reakce se zchladila na 10°C a přidával se koncentrováný NH_4OH až do $\text{pH} = 10$. Výsledný precipitát se přefiltroval, promyl etherem a vysušením se získal 2-guanidin-4-karboxyethyl thiazol ve formě žluté pevné látky (15,1 g).

MS a $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

K produktu z 1. kroku (5,0 g, 0,23 mol) rozsuspendovaném v H_2O (100 ml) a ethanolu (40 ml) se přidal NaOH (0,93 g, 0,023 mol). Roztok se míchal přes noc při laboratorní teplotě. Do reakční směsi se přidal další ethanol (20 ml) a NaOH (0,93 g) a roztok se míchal 1 hodinu při laboratorní teplotě. pH se pomocí 1M HCl snížilo na 7 a výsledný precipitát se přefiltroval, promyl H_2O a etherem a následným vysušením se získal produkt (4,1 g) ve formě obojetného iontu.

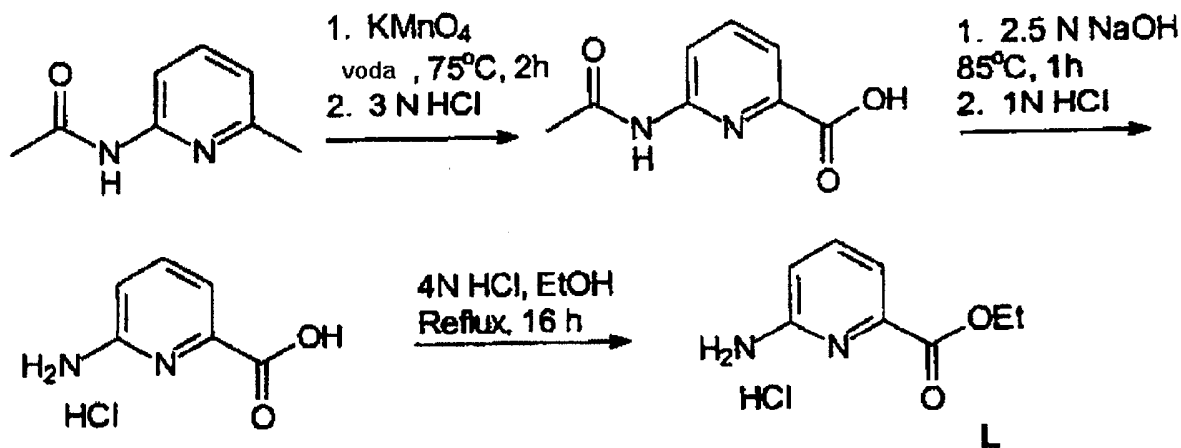
Obojetný iont se rozsuspendoval v H_2O a okyselil koncentrováním roztokem HCl až do rozpuštění. Zmrazením a lyofilizací roztoku se získal hydrochlorid 2-guanidin-4-karboxythiazolu ve formě světle žluté pevné látky (4,33 g).

MS a $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

Příklady L a M byly připraveny podle uvedených schémat z komerčně dostupného 2-amin-6-methylpyridinu a respektive 2-amin-4-methyl-pyridinu.

Příklad L

Příprava 2-aminopyridin-6-karboxylové kyseliny



Krok A

K roztoku 2-acetylamín-6-methylpyridinu (10,0 g) ve vodě (125 ml) se při 75 °C po částech přidal KMnO_4 (21,0 g) a zahřívání pokračovalo další 2 hodiny. Reakční směs se zchladila, přefiltrovala a zbytek se promyl horkou vodou. (2 × 25 ml). Smíchaný vodný filtrát a výplachy se promyly dichlormethanem (3 × 40 ml) a okyselily studenou 3M HCl. Výsledný precipitát se přefiltroval, promyl vodou na neutrální pH a vysušením za vakua se získala kyselina 2-acetylamínopyridin-6-karboxylová (3,8 g, 48% výtěžek). Dichlormethanový extrakt se zakoncentroval na suchý zbytek pro a získal se nezreagovaný 2-acetylamín-6-methylpyridin (3,5 g).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ 8,32 (m, 1H), 7,94 (t, 1H), 7,87 (m, 1H), 2,2 (s, 3H); FAB MS m/z 181 (M+H).

Krok B

Suspenze 2-acetylamínopyridin-6-karboxylové kyseliny (4,1 g) v 2,5 M NaOH (36,5 ml) se zahřívala 1,5 hodiny při 80 °C v dusíkové atmosféře. Výsledný roztok se zchladil a okyselil studenou 3M HCl. Získaný precipitát se přefiltroval, důkladně promyl vodou a acetonitrilem. Získaná bílá pevná látka se vysušila za vakua a získala se kyselina 2-aminopyridin-6-karboxylová (2,4 g, 76% výtěžek).

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 7,57 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz), 7,14 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz), 6,67 (1H, $J = 8,1$ Hz), 6,51 (br, 2H); FAB MS m/z 139 (M+H).

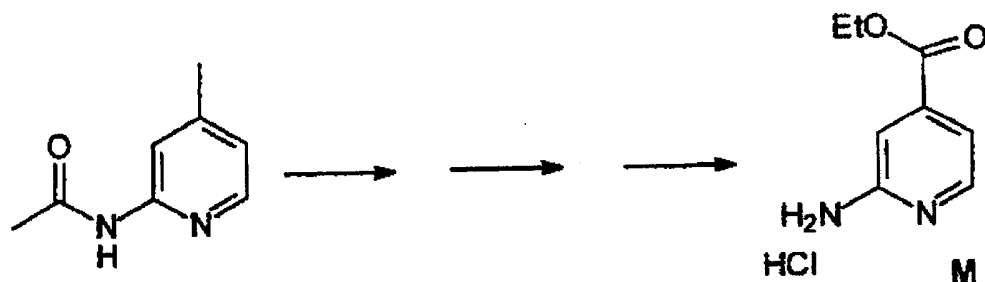
Krok C

Suspenze 2-aminopyridin-6-karboxylové kyseliny (2 g) v EtOH (10,0 ml) a 4M směs HCl/dioxan (10,0 ml) se zahřívala k refluxu 16 hodin za bezvodých podmínek. Reakční směs se pak zakoncentrovala na suchý zbytek a vysušením v exikátoru za vakua se získal hydrochlorid 2-amin-6-karboxypyridin ve formě bílého prášku (1,6 g).

$^1\text{H-NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 8,3 (br), 7,94 (m, 1H), 7,37 (d, 1H, $J = 7,2$ Hz), 7,22 (dd, 1H, $J = 8,7$ Hz), 4,37 (q, 2H, $J = 7,3$ Hz), 1,32 (t, 3H, $J = 7,2$ Hz); FAB MS m/z 167 (M+H).

Příklad M

Příprava hydrochloridu 2-aminopyridin-4-karboethoxypyridinu

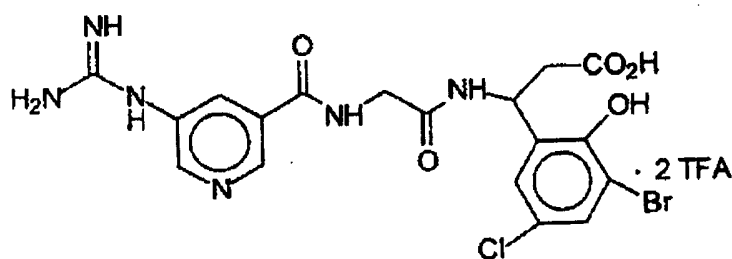


Sloučenina (M) se připravila postupem podobným postupu pro přípravu 2-aminopyridin-6-karboethoxypyridin hydrochloridu z příkladu L z výchozího 2-acetylamin-4-methylpyridinu.

$^1\text{H-NMR}$ a MS byla v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 1

Příprava



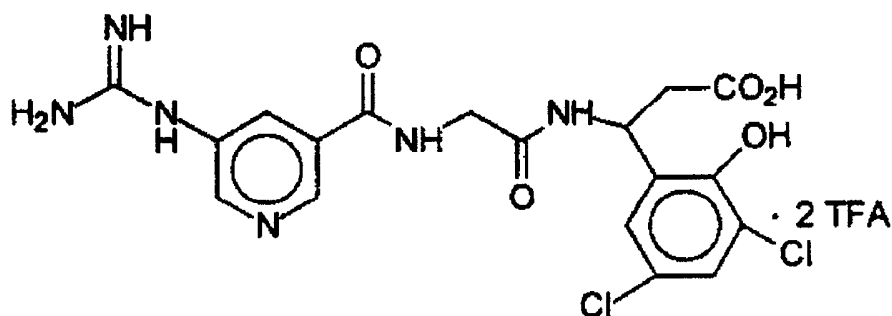
K produktu z příkladu A (0,5 g, 0,002 mol), produktu z příkladu E (0,2 g, 0,002 mol), triethylaminu (0,2 g, 0,002 mol) a DMAP (24 mg) v bezvodém DMA (5 ml) se přidal EDCI (0,38 g, 0,002 mol) při teplotě ledové lázně. Reakce se míchala 2 dny při laboratorní teplotě. Produkt esteru se izoloval pomocí preparační HPLC s „reverzními“ fázemi. K esteru v H_2O (3 ml) a CH_3CN (3 ml) se přidal LiOH (0,51 g,

0,012 mol). Směs se míchala 1 hodinu při laboratorní teplotě. pH se snížilo pomocí TFA na 2 a produkt se izoloval pomocí preparační HPLC s „reverzními“ fázemi a získal se tak (po lyofilizaci) požadovaný produkt ve formě bílé pevné látky (350 mg).

$^1\text{H-NMR}$ a MS byla v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 2

Příprava

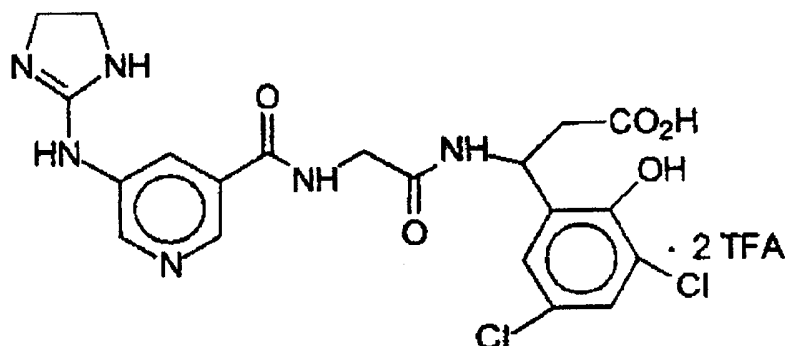


Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu v 1. příkladu, nahrazením ekvivalentního množství produktu z příkladu D produktem z příkladu E a získal se požadovaný produkt ve formě bílé pevné látky (210 mg).

$^1\text{H-NMR}$ a MS byla v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 3

Příprava



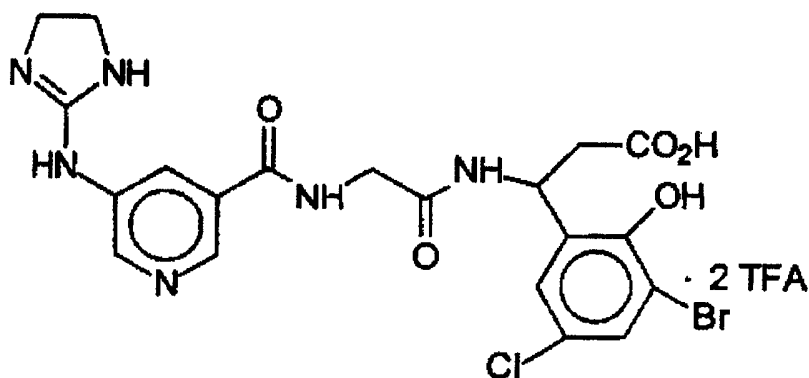
K produktu z příkladu C (19,5 g, 0,045 mol) a N-methylmorfolinu (9,1 g, 0,09 mol) v bezvodém DMA (85 ml) se do plamenem vysušené nádoby v dusíkové atmosféře pomalu přidal při teplotě ledové lázně izobutylchlorformiát (6,2 g, 0,045 mol). Roztok

se míchal 15 minut při teplotě ledové lázně. Poté se při teplotě ledové lázně přidal produkt z příkladu D (15 g, 0,04 mol) a pak se pomalu při téže teplotě přidal N-methylmorfolin (4,1 g, 0,04 mol). Reakční směs se míchala přes noc při laboratorní teplotě. K esteru ve směsi H_2O (50 ml)/ CH_3CN (30 ml) se přidal LiOH (16 g, 0,38 mol). Směs se míchala 1 hodinu při laboratorní teplotě. pH se snížilo pomocí TFA na 2 a produkt se izoloval pomocí preparační HPLC s „reverzními“ fázemi a získal se tak (po lyofilizaci) požadovaný produkt ve formě bílé pevné látky (13,7 mg).

$^1\text{H-NMR}$ a MS byla v souladu s požadovanou strukturou.

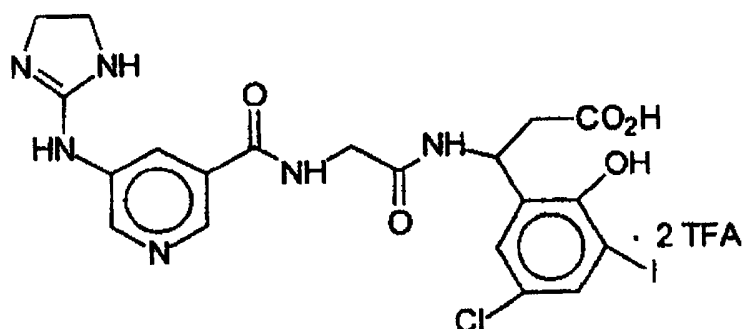
Příklad 4

Příprava



Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu z 3. příkladu, substitucí ekvivalentního množství produktu z příkladu E produktem z příkladu D.

$^1\text{H-NMR}$ a MS byla v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 5

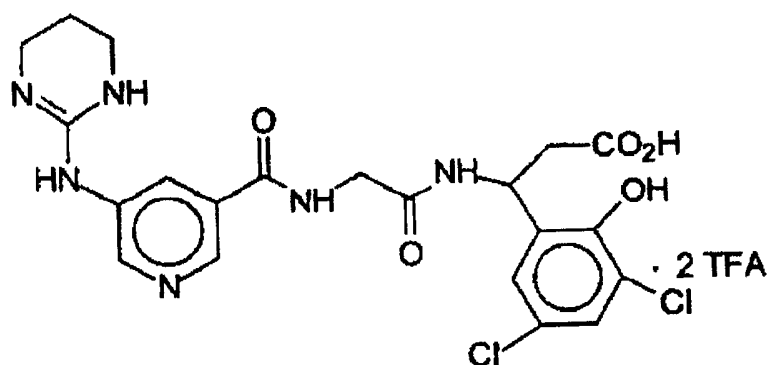
Příprava

Výše uvedená sloučenina se připravila podle popstupu z 3. příkladu, substitucí ekvivalentního množství produktu z příkladu F produktem z příkladu D.

$^1\text{H-NMR}$ a MS byla v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 6

Příprava

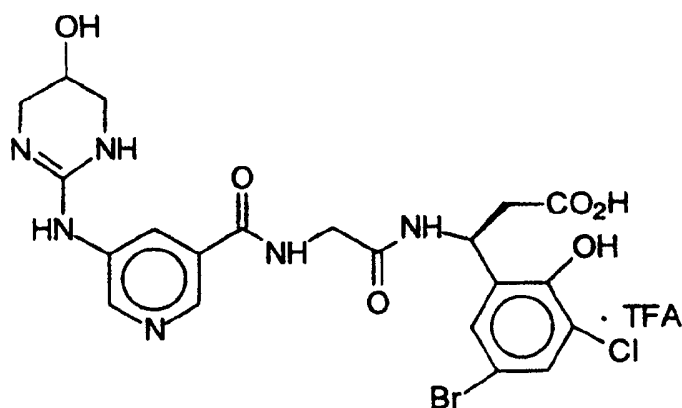


Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu z 3. příkladu, substitucí ekvivalentního množství produktu z příkladu B produktem z příkladu C.

$^1\text{H-NMR}$ a MS byla v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 7

Příprava

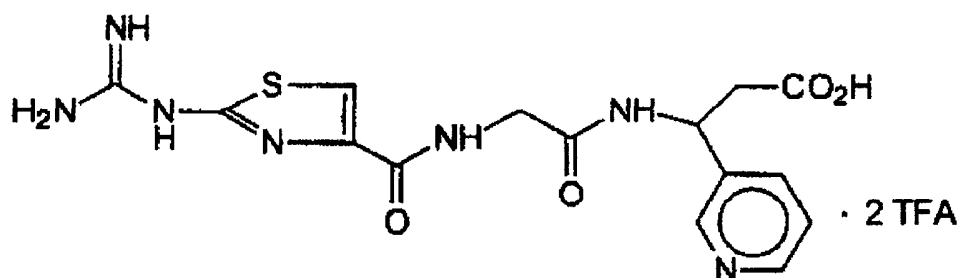


K produktu z 9. příkladu (0,6 g, 0,0019 mol) v bezvodém DMA (4 ml) se při teplotě ledové lázně přidal izobutylchlorformiát (0,27 g, 0,002 mol) a následně N-methylmorfolin (0,4 g, 0,0038 mol). Roztok se míchal 15 minut při teplotě ledové lázně. Pak se při teplotě ledové lázně přidal produkt z příkladu H (0,71 g, 0,0017 mol) s následně N-methylmorfolin (0,17 g, 0,0017 mol). Reakce se míchala přes noc při laboratorní teplotě. Pomocí analýzy HPLC se stanovila přítomnost produktu a významné množství výchozí látky. K reakční směsi se přidal EDCI (0,38 g, 0,002 mol) a DMAP (15 ml) a reakce se pak míchala přes noc při laboratorní teplotě. Produkt esteru se vyizoloval preparativní HPLC. K esteru v H₂O (10 ml) a CH₃CN (5 ml) se přidal LiOH (700 mg, 0,017 mol). Směs se míchala 1 hodinu při laboratorní teplotě. pH se snížilo pomocí TFA na 2 a produkt se izoloval pomocí preparační HPLC s „reverzními“ fázemi a získal se tak (po lyofilizaci) požadovaný produkt ve formě bílé pevné látky (270 mg).

¹H-NMR a MS byla v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 8

Příprava

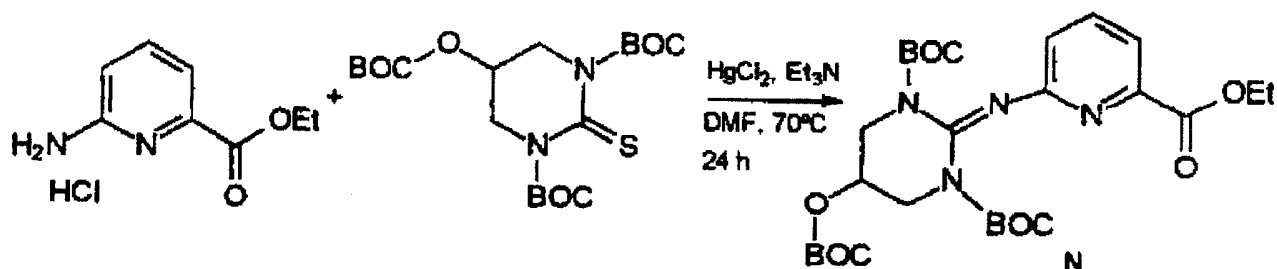


K produktu z příkladu K (0,5 g, 0,0022 mol) a N-methylmorpholinu (0,23 g, 0,0022 mol) v bezvodém DMF (8 ml) se při teplotě ledové lázně přidal izobutylchlorformiát (0,31 g, 0,0022 mol). Po 5 minutovém míchání při teplotě ledové lázně se při stejné teplotě jednorázově přidal produkt z příkladu J (0,73 g, 0,0022 mol) a N-methylmorpholin (0,45 g, 0,0045 mol) v bezvodém DMF (8 ml). Reakční směs se přes noc míchala při laboratorní teplotě. Ester se vyizoloval preparační HPLC s „reverzními“ fázemi (530 mg).

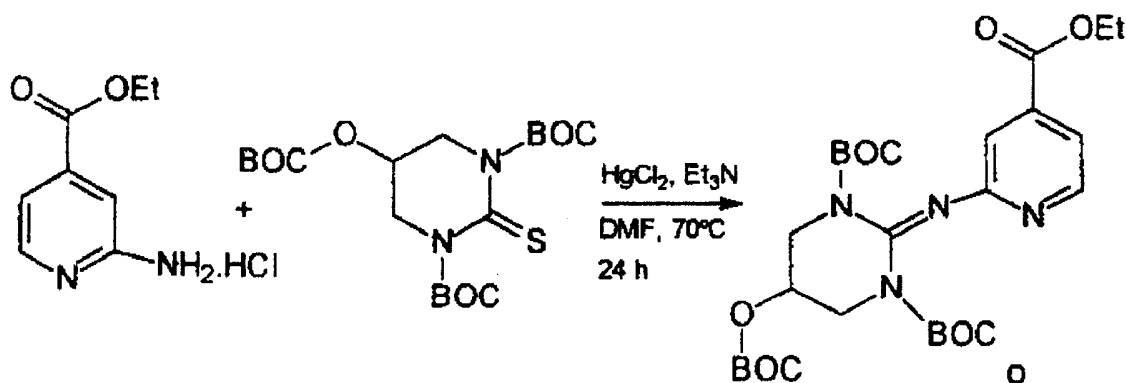
K tomuto esteru (400 mg) se v H₂O (10 ml) přidal LiOH (91 mg). Směs se míchala 1 hodinu při laboratorní teplotě. pH se upravilo pomocí TFA na 3 a produkt se vyizoloval preparační HPLC s „reverzními“ fázemi a získal se (po lyofilizaci) požadovaný produkt ve formě bílé pevné látky (350 mg).

¹H-NMR a MS byla v souladu s požadovanou strukturou.

Za použití tris-BOC se provedla guanidace 2-amin-6-karbethoxypyridin hydrochloridu a 2-amino-4-karbethoxypyridin hydrochloridu, jak je zobrazeno v příkladech N a O (Kim. S.K., Qian, L., Tetrahedron Lett. 34, 7677, 1993)

Příklad N

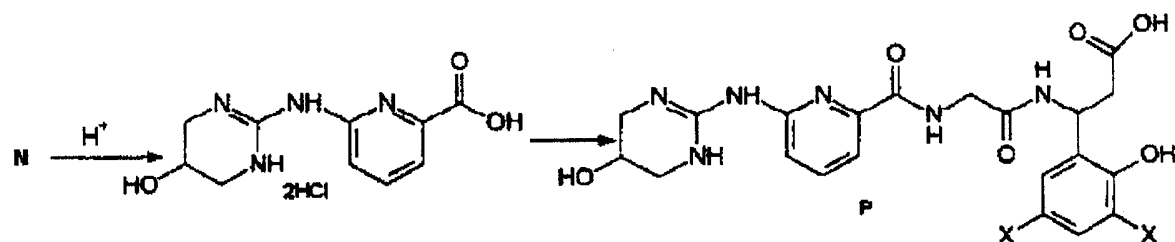
K roztoku 2-amino-6-karbethoxypyridin hydrochloridu (0,56 g, 2,8 mmol) a tris-BOC (91,2 g, 2,8 mmol) v DMF zbaveném plynů (7,0 ml) se přidal chlorid rtuťnatý (0,76 g, 2,8 mmol) a triethylamin (0,79 g, 7,8 mmol). Výsledná směs se zahřívala 24 hodin při 70 °C v dusíkové atmosféře a přefiltrovala. DMF se destiloval za vakua, zbytek se rozmělnil v ethylacetátu a přefiltroval. Oranžově zbarvený filtrát se zakoncentroval a výsledná látka se přečistila mžikovou chromatografií na silikagelu za použití ethylacetátu obsahujícího 1% triethylamin jako eluční činidlo. Příslušné frakce (modře fluoreskující) se smíchaly a zakoncentrováním dosucha za sníženého tlaku se získal žlutý prášek. MS analýza [m/z 565 ($M+H$)] potvrdila tvorbu požadovaného tris-BOC produktu N.

Příklad O

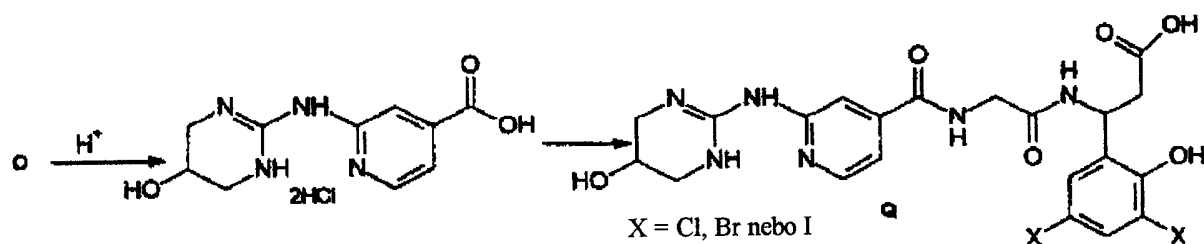
Tato sloučenina (O) se připravila za použití postupu podobného příkladu N. MS analýza [m/z 565 ($M+H$)] potvrdila tvorbu požadovaného tris-BOC produktu O.

Následující sloučeniny P a Q lze připravit podle podmínek uvedených v 3. až 5. kroku 9. příkladu.

Příklad P



Příklad Q



Příklad R

Výše uvedená sloučenina se připravila za použití postupů popsanych v příkladu G. V 2. kroku se místo 3-brom-5-chlorsalicylaldehydu použil 3,5-dichlorsalicylaldehyd.

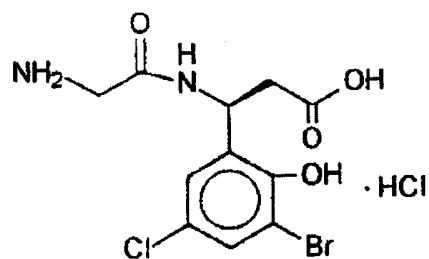
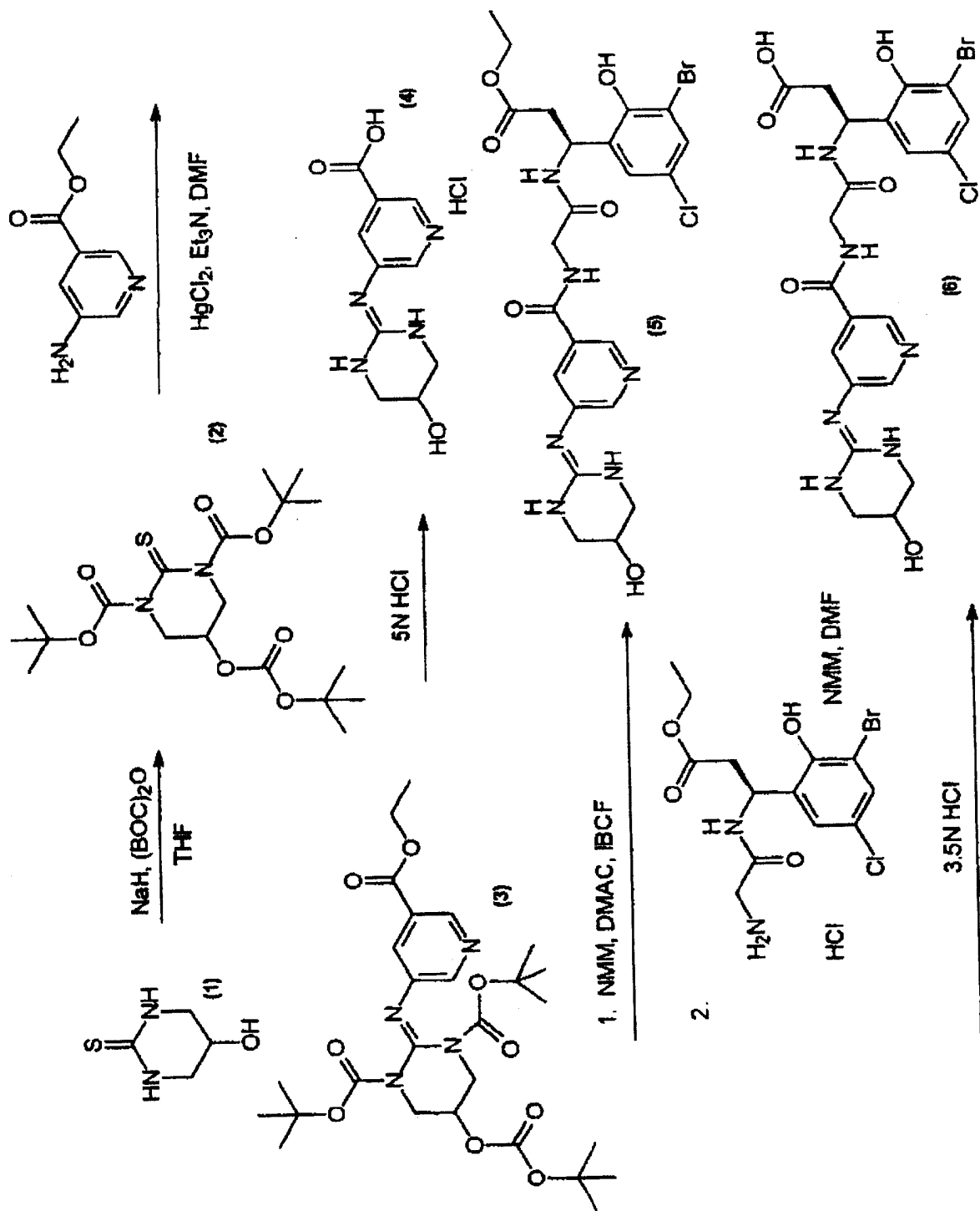


Schéma k příkladu 9



Příklad 9 (schéma ukázané výše)

1. krok

K mechanicky míchané suspenzi činidla **1** (18,68 g) v THF (1l) se při 0 °C během 30 minut přidal hydrid sodný (19 g 60% suspenze v minerálním oleji). Po 30 minutách se přidal čistý di-*tec.* butyldikarbonát (95 g) a reakční směs se 16 hodin mírně zahřívala při refluxu. Směs se zchladila na 0 °C a reakce se ukončila nasyceným roztokem NaHCO₃. Směs se extrahovala ethylacetátem. Organický extrakt se promyl vodou, vysušil (Na₂SO₄) a zakoncentroval. U zbytku se rychle provedla chromatografie za použití malé kolony naplněné silikagelem (60 mm × 180 mm) a získal se tak požadovaný produkt **2** ve formě husté žluté kapaliny (68 g). NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

Míchaná suspenze 3-amino-pyridin-6-karboxylové kyseliny (25 g) v ethanolu (300 ml) se při 0 °C nasýtila plynným chlorovodíkem. Směs se zahřála na 23°C a zahřívala 2 hodiny při refluxu. Získal se čirý roztok. Po zchlazení na 23°C se směs zakoncentrovala za vakua, zneutralizovala vodným NaHCO₃ a extrahovala ethylacetátem. Organická fáze se promyla vodou, vysušila nad MgSO₄ a zakoncentrováním ve vakuu se získal ethyl-(3-amino-pyridin-6-karboxylát) (25,0 g), triethylaminu (27 ml), ethyl 3-amino-pyridin-6-karboxylátu (13 g) a DMF (200 ml) se míchala a zahřívala 30 hodin při 55°C. Reakční směs se zchladila na 23°C, zředila ethylacetátem (500 ml) a přefiltrovala přes celit. Filtrát se promyl vodou (2×), vysušil nad MgSO₄ a zakoncentroval za vakua. U zbytku se provedla chromatografie na silikagelu za použití ethylacetátu v hexanu jako elučního činidla a získal se požadovaný meziprodukt **3**. NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

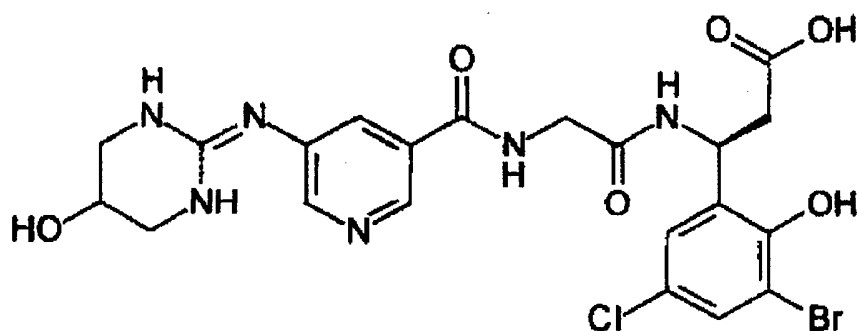
3. krok

Suspenze produktu z 2. kroku (13 g) v 5M kyselině chlorovodíkové (100 ml) se míchala 16 hodin při 23 °C. Směs se zakoncentrovala za vakua. Zbytek se rozsuspendoval s methanolu a bílá pevná látka se přefiltrovala za vzniku požadovaného produktu **4**. NMR a MS byla v souladu s požadovanou strukturou.

4. krok

Produkt z 3. kroku (0,308 g) se rozsuspendoval v DMF (10 ml) a k suspenzi se přidal 4-methylmorfolin (0,2 ml). Směs se míchala 1 hodinu při 23 °C. Po zchlazení reakční směsi na 0 °C se přidal IBCF (0,129 ml). Po půl hodině se přidal roztok produktu z příkladu R (0,416 g) a 4-methylmorfolin (0,11 ml) v DMF (3 ml). Směs se zahřívala další 2 hodiny na 23 °C. Pak se směs přefiltrovala a filtrát se zakoncentroval za vakua. Přečistěním zbytku pomocí HPLC se získal produkt 5. Mikro-analytické výsledky, NMR a MS byla ve shodě s požadovanou strukturou.

5. krok



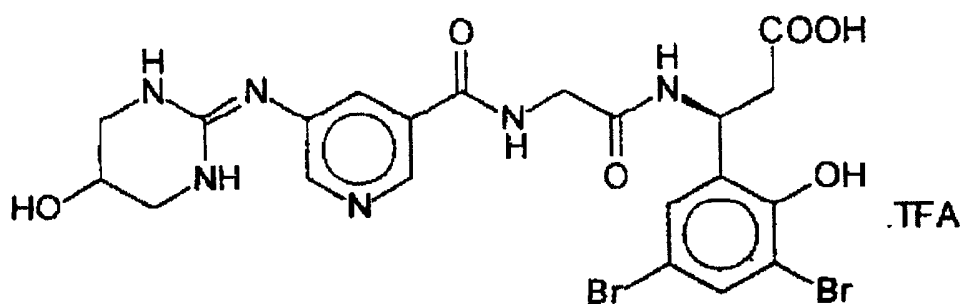
Roztok produktu ze 4. kroku v 3,5M HCl stál 3 hodiny při 23 °C, zakoncentroval se za vakua a přečistěním zbytku pomocí HPLC se získal požadovaný produkt. Mikro-analytické výsledky, NMR a MS byla ve shodě s požadovaným produktem.

Analýza vypočtená pro $C_{21}H_{22}BrClN_6O_6 \cdot 2CF_3CO_2H \cdot H_2O$:

C, 36,80; H, 3,21; N, 10,30

Skutečné hodnoty: C, 36,52; H, 2,90; N, 9,91.

Příklad 10



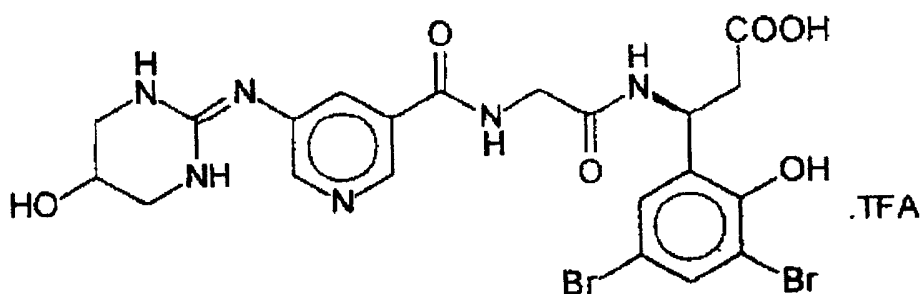
Sloučenina se připravila za použití postupu popsaného v 9. příkladu, s tím rozdílem, že se místo produktu z příkladu R, 4. Kroku, použil produkt z příkladu G.

Analýza vypočtená pro $C_{21}H_{22}Cl_2N_6O_6 \cdot 2CF_3CO_2H \cdot H_2O$:

C, 38,93; H, 3,40; N, 10,89;

Skutečné hodnoty: C, 39,27; H, 3,12; N, 11,09.

Příklad 11



Sloučenina se připravila podle popisu v příkladu 9 za použití produktu z příkladu I, místo produktu z příkladu R ve 4. kroku.

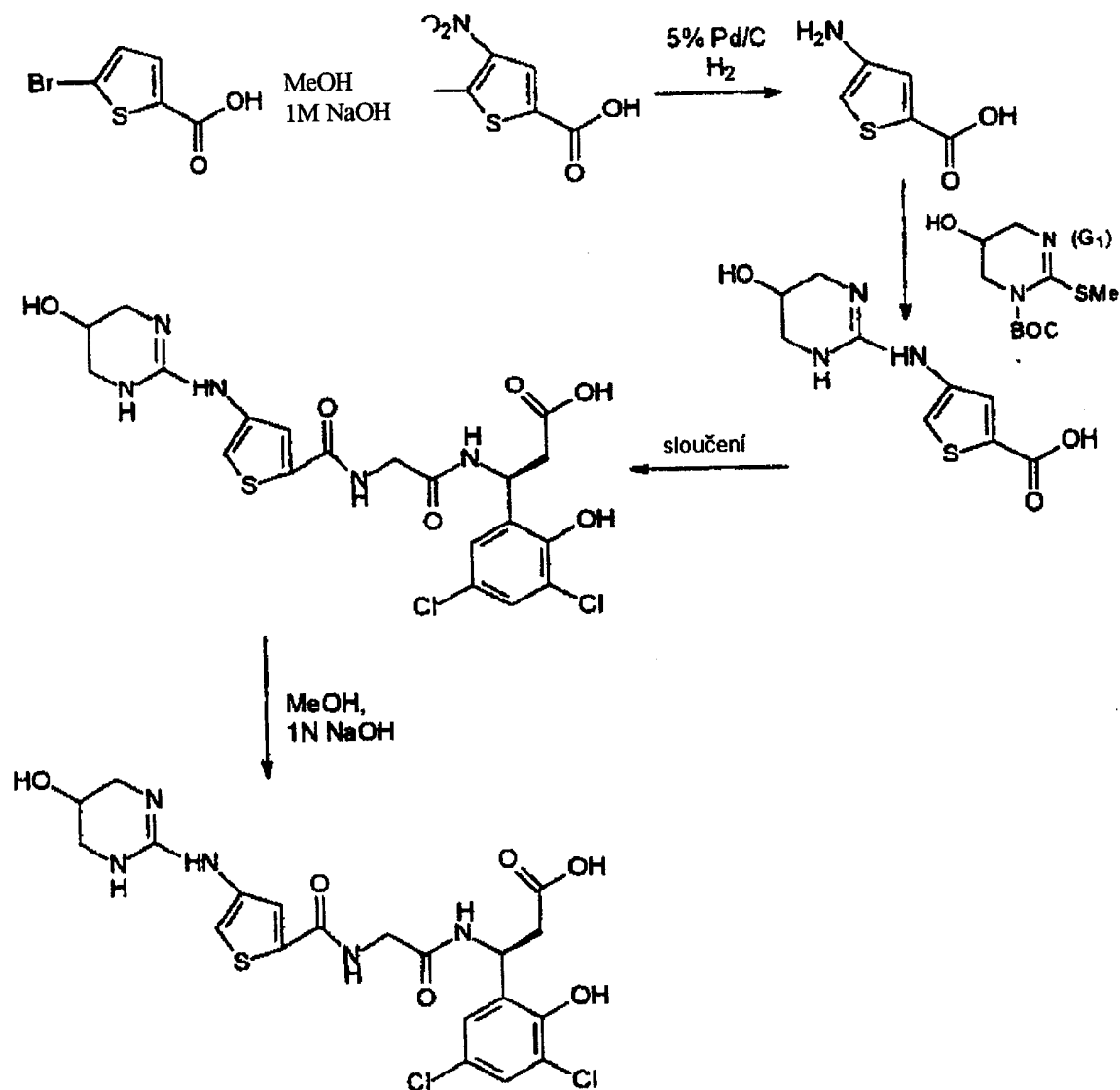
Analýza vypočtená pro $C_{21}H_{22}Br_2N_6O_6 \cdot 2CF_3COOH \cdot H_2O$:

C, 35,65; H, 2,87; N, 9,98

Skutečné hodnoty: C, 35,81; H, 2,79; N, 10,14

Příklad 12

Příprava trifluoroctové soli (3S)-N-[[4-[(1,4,5,6-tetrahydro-5-hydroxy-2-pyrimidinyl)-amino]-2-thienyl]karbonyl]glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfenyl)-β-alaninu



1. krok

Roztok 5-brom-2-thiofen karboxylové kyseliny (5,0 g) v koncentrované kyselině sírové (30 ml) se zchladil na $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ a po kapkách se smíchal s roztokem 70% kyseliny dusičné (7,7 ml) ($d = 1,40$) v koncentrované kyselině sírové (30 ml). Reakční směs se míchala 30 minut při $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ a pak se nalila do suspenze vody s ledem a míchala se několik minut. Precipitovaná látka se přefiltrovala, rekrystalizovala z vody a vysušením se získal bílý prášek (2,3 g). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok:

Roztok produktu z 1. kroku (1,7 g) v THF (25 ml) reagoval s katalytickým množstvím 5% Pd/C v atmosféře vodíku při tlaku 34,5 kPa 16 hodin při laboratorní teplotě. Reakční směs se přefiltrovala a zakoncentrovala. Zbytek se zahřál s ethylacetátem a přefiltrováním se získala hnědá pevná látka (750 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

3. krok

Roztok produktu z 2. kroku (725 mg) s guanylačním činidlem G1 v THF (15 ml) a dimethylacetamidem (10 ml) se refluxoval 16 hodin. Reakční směs se zakoncentrovala a zbytek reagoval s roztokem TFA (5 ml) a CH_2Cl_2 (5 ml). Po hodinovém míchání při laboratorní teplotě se reakční směs zakoncentrovala a zbytek se přečistil pomocí HPLC na reverzní fázi za použití vody (0,5% TFA) a acetonitrilového gradientu jako elučního činidla se získala světle žlutá hustá kapalina (300 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

4. krok

V plamenem vysušené nádobě se v dusíkové atmosféře rozpustil produkt z 3. kroku (275 mg) v 8 ml dimethylacetamidu a N-methylmorpholinu (81 mg). Míchaný roztok se zchladil na 0°C a pak se po kapkách přidal k roztoku izobutylchlorformiátu (109 mg) v dimethylacetamidu (1 ml). Reakční směs se míchala 45 minut při 0°C a pak se po kapkách smíchala s roztokem produktu z příkladu G (286 mg) a N-methylmorpholinem (81 mg) v dimethylacetamidu (2 ml). Reakční směs se zahřála na laboratorní teplotu a míchání pokračovalo dalších 16 hodin. Reakční směs se zakoncentrovala a zbytek se přečistil pomocí HPLC na reverzní fázi podle popisu v 3. kroku a získala se hustá bezbarvá kapalina (262 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

5. krok:

Roztok produktu z 4. kroku (250 mg) v methanolu (8 ml) a 1M roztoku hydroxidu sodného (8 ml) se míchal 16 hodin při laboratorní teplotě. Reakce se zastavila pomocí TFA (0,7 ml) a zakoncentrovala.

Zbytek se přečistil pomocí HPLC na reverzní fázi podle popisu v 3. kroku a získala se bílá pevná látka (144 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

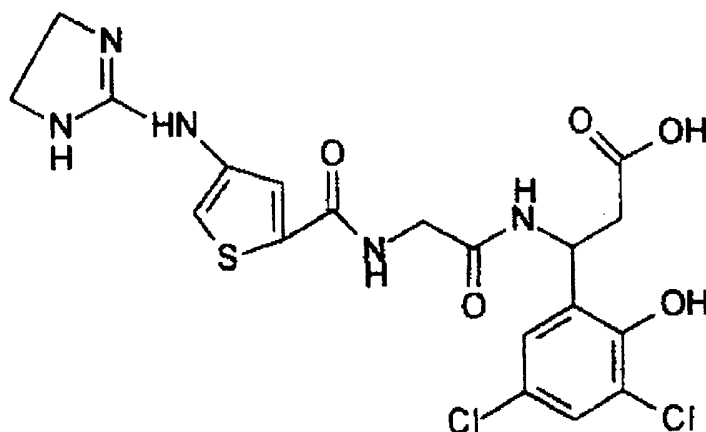
Analýza vypočtená pro $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{BrN}_5\text{O}_6\text{Cl}_2\text{S} \cdot 1,50 \text{ TFA} \cdot 0,25 \text{ H}_2\text{O}$:

C, 39,13; H, 3,28; N, 9,92; S 4,54; Cl, 10,04;

Skutečné hodnoty: C, 38,81; H, 3,17; N, 9,90; S, 4,86; Cl, 10,25.

Příklad 13

Příprava trifluoroctové soli N-[[4-[(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)amino]-2-thienyl]-karbonyl]glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfenyl)- β -alaninu



Výše uvedená sloučenina se připravila podobným sledem reakcí použitých v přípravě sloučeniny popsané v 12. příkladu. Ve 3. kroku 12. příkladu se místo G1 použilo guanylační činidlo popsané v příkladu C

(1. krok). Podobně se místo produktu v příkladu G, ve 4. Kroku, použil produkt z příkladu D.

$^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

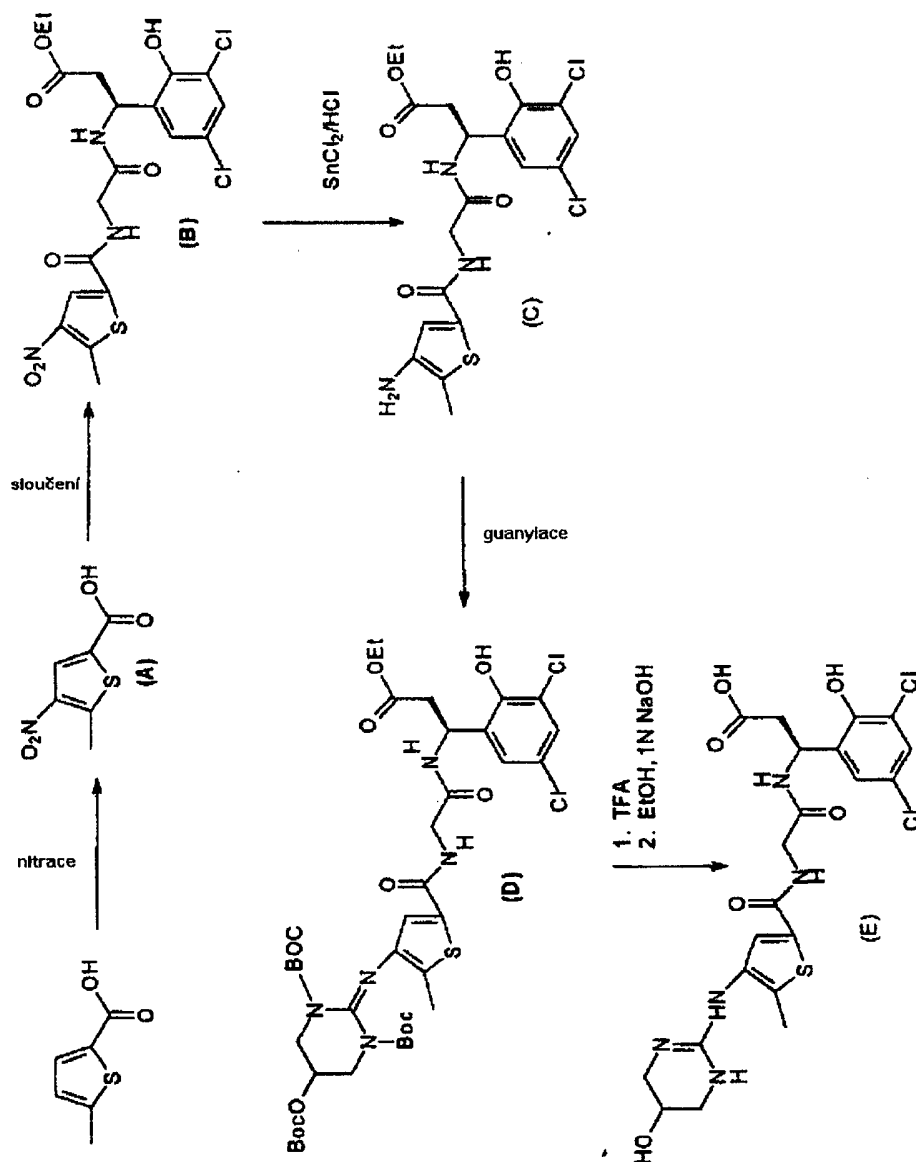
Analýza vypočtená pro $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_5\text{Cl}_2\text{S} \cdot 1,50 \text{ TFA} \cdot 0,50 \text{ H}_2\text{O}$:

C, 38,84; H, 3,18; N, 10,29; S 4,71; Cl, 10,42;

Skutečné hodnoty: C, 38,84; H, 3,01; N, 10,50; S, 5,08; Cl, 11,01.

Příklad 14

Příprava trifluoroctové soli (3S)-N-[[5-methyl-4-[(1,4,5,6-tetrahydro-5-hydroxy-2-pyrimidinyl)amino]-2-thienyl]karbonyl]glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfenyl)-β-alaninu



1. krok

Sloučenina (A) se připravila podle popisu v 1. kroku příkladu 13 za použití 5-methyl-2-thiofen karboxylové kyseliny (5,2 g). Produkt se přečistil extrakcí roztokem zředěného hydroxidu sodného, okyselením zředěnou kyselinou chlorovodíkovou a ex-

trakcí do ethylacetátu. Organický extrakt se vysušil (Na_2SO_4) a zakoncentrováním se získala žlutooranžová pevná látka (2,2 g). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

Sloučenina (B) se připravila za použití produktu z 1. kroku (2,2 g) a za slučovacíh podmínek popsanych ve 4. kroku příkladu 12. Reakce se zakoncentrovala a zbytek se rozdělil mezi ethylacetát a vodu. Organický extrakt se promyl nasyceným roztokem hydroxidu sodného, vysušil (Na_2SO_4) a zakoncentroval. Zbytek rekrystalizoval z ethylacetátu a získala se žlutohnědá pevná látka (3,5 g). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

3. krok

Roztok produktu z 2. kroku (2,8 g) v THF (25 ml) se po kapkách přidával k roztoku dihydrátu chloridu cínatého v koncentrované kyselině chlorovodíkové (1,0 g/2 ml) při laboratorní teplotě až do okamžiku, kdy TLC prokázala úplné vymizení výchozí látky. Organické rozpouštědlo se odstranilo a vodná část se zneutralizovala roztokem uhličitanu sodného. Vodná část se extrahovala CH_2Cl_2 , vysušila (Na_2SO_4) a zakoncentrováním se získal žlutý prášek (1,1 g). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

4. krok

K roztoku produktu popsaného v 3. kroku (375 mg) a produktu z 1. kroku příkladu 9 (519 mg) v DMF (15 ml), se přidal chlorid rtuťnatý (326 mg) a triethylamin (182 mg). Směs se zahřívala 3 hodiny při 95°C až 100°C . Reakční směs se zchladila, smíchala s ethylacetátem (30 ml), míchala 30 minut a pak se přefiltrovala přes celitovou podušku. Filtrát se zakoncentroval a přečistěním zbytku za použití mžikové chromatografie (eluze 97,5% CHCl_3 - 2,5% CH_3OH) se získala žlutohnědá pevná látka (415 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

5. krok

Roztok produktu ze 4. kroku (400 mg) v CH_2Cl_2 (7,5 ml) a TFA (7,5 ml) se míchal 1 hodinu při laboratorní teplotě. Reakce se zakoncentrovala a zbytek se míchal 16 hodin při laboratorní teplotě v roztoku CH_3OH (10 ml) a 1M roztoku hydroxidu sodného

(10 ml). Reakce se zastavila THF (0,8 ml) a zakoncentrovala. Zbytek se přečistil za použití HPLC na reverzní fázi, jak se uvádí výše, a získala se bílá pevná látka (80 mg).

$^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

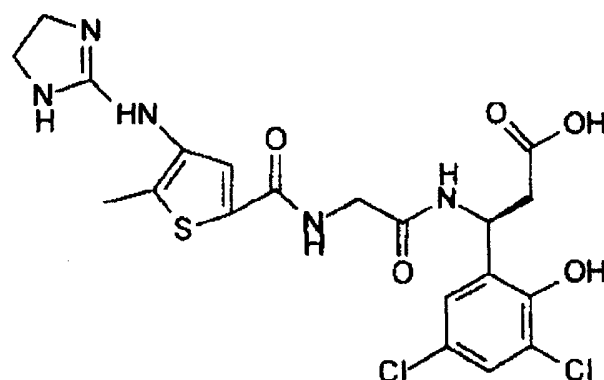
Analýza vypočtená pro $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_6\text{Cl}_2 \cdot 1,50 \text{ TFA} \cdot 0,50 \text{ H}_2\text{O}$:

C, 39,79; H, 3,55; N, 9,67; S 4,43; Cl, 9,79;

Skutečné hodnoty: C, 39,50; H, 3,24; N, 9,58; S, 4,71; Cl, 10,22.

Příklad 15

Příprava trifluoroctové soli (3S)-N-[[4-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)amino]-5-methyl-2-thienyl]karbonyl]glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfenyl)- β -alaninu



Výše uvedená sloučenina se připravila podobným sledem reakcí používaných v přípravě sloučeniny popsané v příkladu 14, kromě toho, že se místo činidla použitého ve 4. kroku příkladu 14, použilo guanylační činidlo popsané v příkladu C (1. krok). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

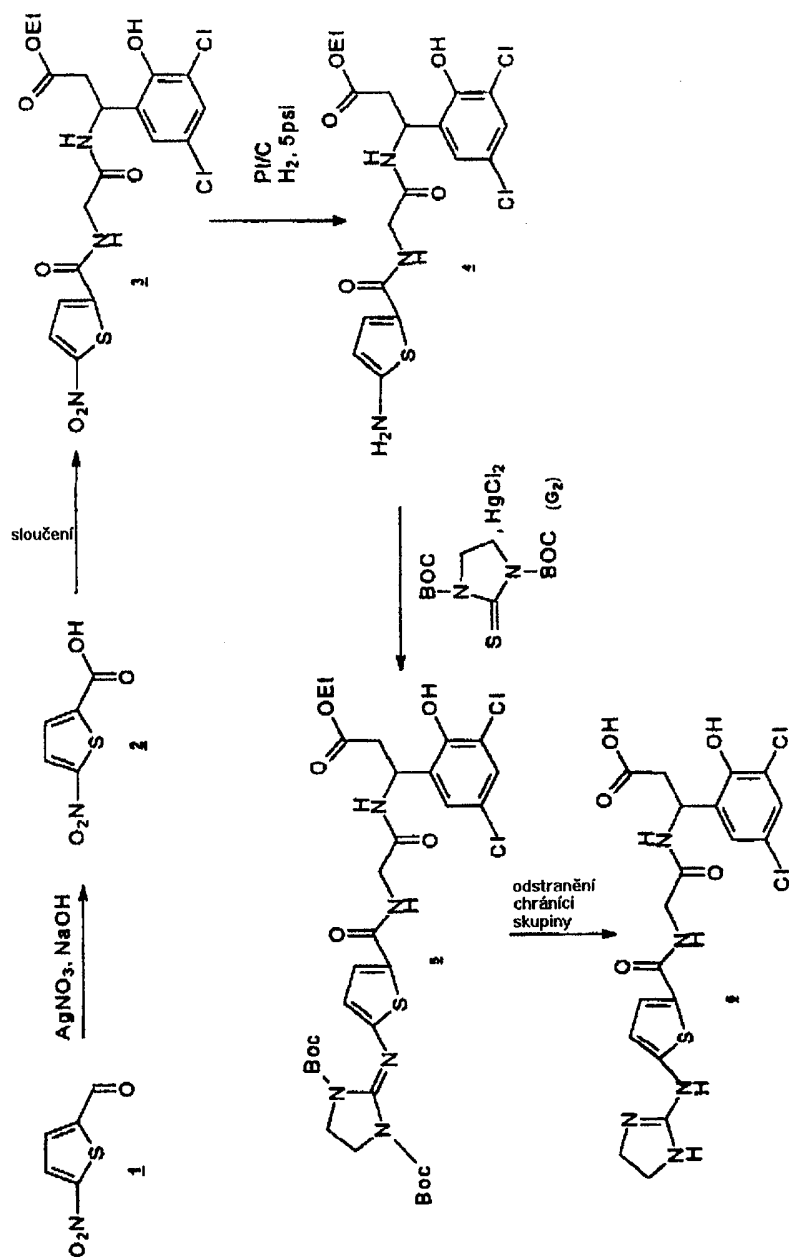
Analýza vypočtená pro $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_5\text{Cl}_2\text{S} \cdot 1,50 \text{ TFA} \cdot 0,25 \text{ H}_2\text{O}$:

C, 40,04; H, 3,36; N, 10,15; S 4,65; Cl, 10,28;

Skutečné hodnoty: C, 39,82; H, 3,19; N, 10,17; S, 4,86; Cl, 10,69.

Příklad 16

Trifluorooctová sůl N-[[5-[(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)amin]-2-thienyl]karbonyl]-glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfenyl)- β -alaninu



Požadovaná sloučenina se syntetizovala z výchozí 2-nitro-5-thiofenkarboxylové kyseliny použitím stejného sledu reakcí, jak je popsáno v příkladu 15. Pro guanylační reakci se použily podmínky popsané v kroku G, příkladu 17.

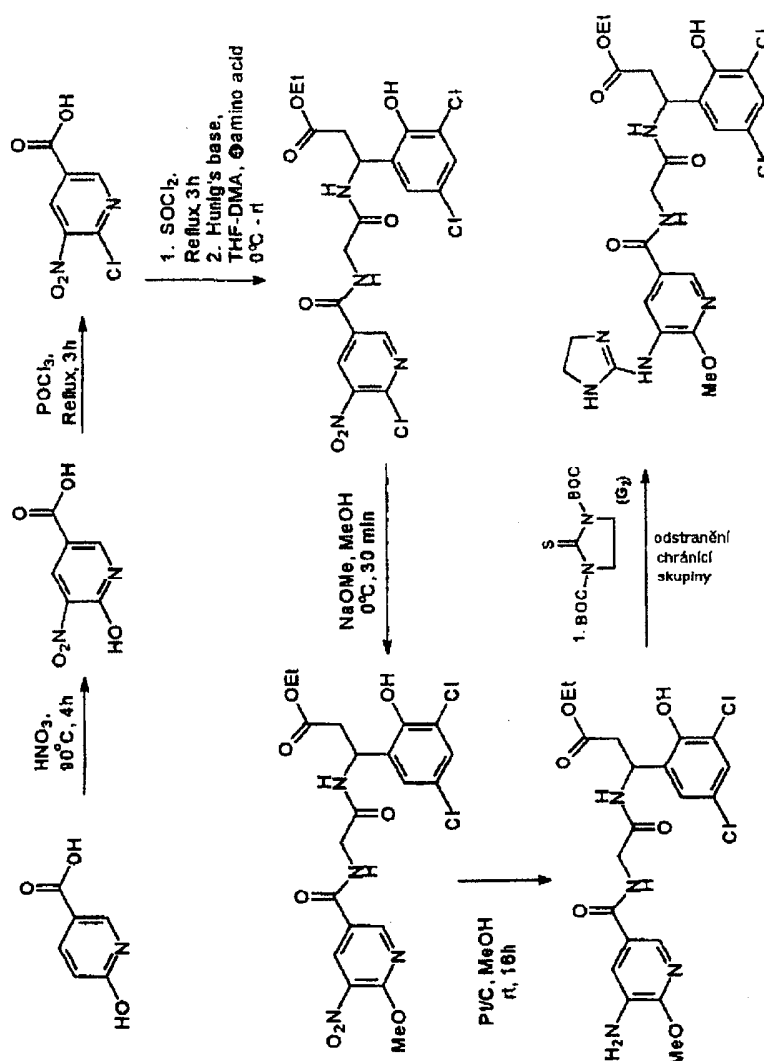
Analýza vypočtená pro $C_{19}H_{19}N_2O_5Cl_2S$. 1,50 TFA:

C, 39,36; H, 3,08; N, 10,43; S 4,78;

Skutečné hodnoty: C, 39,05; H, 2,79; N, 10,37; S, 4,90.

Příklad 17

Bis(trifluorooctová) sůl N-[[5-[(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)amino]-6-methoxy-3-pyridinyl]karbonyl]glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfenyl)-β-alaninu



1. krok

Směs 6-hydroxynikotinové kyseliny (20 g) a bezbarvé dýmající kyseliny dusičné (60 ml) ($d = 1,50$) se zahřívala 3 hodiny při 90 °C až 95 °C. Reakce se zchladila na laboratorní teplotu a za míchání nalila do 1,5 litru suspenze vody s ledem a po 15 minutách se přefiltrovala. Precipitát se promyl vodou a vysušením se získal světle žlutý prášek (9,3 g).

$^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

Analýza vypočtená pro $\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_5$:

C, 39,14; H, 2,19; N, 15,22.

Skutečné hodnoty: C, 39,08; H, 2,17; N, 15,19.

2. krok

Směs produktu z 1. kroku (5,0 g) a oxychlorid fosforitý (15 ml) se 3 hodiny zahřívala k refluxu. Reakční směs se zchladila na laboratorní teplotu, přidala ke směsi vody s ledem a míchala 30 minut. Přidal se další led, aby směs zůstala během této doby zchlazená. Reakční směs se extrahovala směsí THF-ether (1:2), organické extrakty se promyly nasyceným roztokem chloridu sodného, vysušily (Na_2SO_4) a zakoncentrovaly. Zbytek rekrystalizoval ze směsi ether-hexan 1:1 a získal se žlutý prášek (4,0 g).

$^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

3. krok

Roztok produktu z 2. kroku (1,6 g) v thionylchloridu (5,0 ml) se zahříval 3 hodiny v refluxu. Reakce se zchladila na laboratorní teplotu a odpařila v proudu dusíku. Zbytek se vysušil za vakua a použil se bez dalšího přečistění. V nádobě vysušené plamenem se v dusíkové atmosféře produkt z příkladu D (3,0 g) rozpustil v dimethylacetamidu (30 ml) a N,N-diizopropylethylaminu (2,3 g). Roztok se zchladil v ledové lázni a po kapkách se přidal roztok kyseliny chlorovodíkové (získané výše) v THF (20 ml). Reakce se míchala, zahřála na laboratorní teplotu a pak se zastavila vodou (25 ml). Směs se extrahovala ethylacetátem a organické extrakty se promyly nasyceným roztokem chloridu sodného, vysušily (Na_2SO_4) a zakoncentrovaly. Výsledná žlutá pevná látka se rekrystalizovala z ethylacetátu a získal se světle žlutý prášek (3,4 g). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

4. krok

K suspenzi methoxidu sodného (2,2 g) v methanolu (30 ml) se po kapkách přidal při 0 °C roztok produktu z 3. kroku (4,5 g) v methanolu (30 ml). Reakce se míchala 30 minut a pak se zastavila kyselinou octovou (2,3 ml). Reakce se zakoncentrovala a rozdělila mezi ethylacetát a vodu. Organické extrakty se vysušily (Na_2SO_4), reakce se zakoncentrovala a přečistila na koloně naplněné silikagelem (eluze směsí 80% ethylacetát - 20% hexan) a získala se světle žlutá pevná látka (3,5 g).

$^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

5. krok

Roztok produktu popsaný v 4. kroku (1,07 g) v ethanolu (25 ml) reagoval s katalytickým množstvím 3% Pt/C natrávené sírou při tlaku vodíku 34,5 kPa, 4 hodiny při laboratorní teplotě. Reakční směs se přefiltrovala a zakoncentrováním se získala bílá pevná látka (930 mg), která se použila bez dalšího přečistění. $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

6. krok

K roztoku produktu z 5. kroku (330 mg), G_2 (276 mg) v DMF (10 ml) se přidal triethylamin (150 mg) a chlorid rtuťnatý (258 mg) a směs se zahřívala 16 hodin při 85 °C. Reakce se zchladila, smíchala s ethylacetátem (25 ml) a přefiltrovala. Filtrát se zakoncentroval a přečistěním zbytku na koloně naplněné silikagelem s elucí směsí 98% CH_2Cl_2 - 2% methanol se získala bílá pevná látka (325 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

7. krok

Roztok produktu z 6. kroku (114 mg) s TFA (8 ml) a dichlormethanem (8 ml) se míchal 90 minut při laboratorní teplotě. Rozpouštědlo se odpařilo a zbytek reagoval s roztokem 1M hydroxidu sodného (8 ml) a methanolu (8 ml) 16 hodin při laboratorní teplotě. Reakce se zastavila TFA (1 ml) a zakoncentrovala. Zbytek se přečistil za použití HPLC s reverzní fází, jak je popsáno výše, a získala se bílá pevná látka (76 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

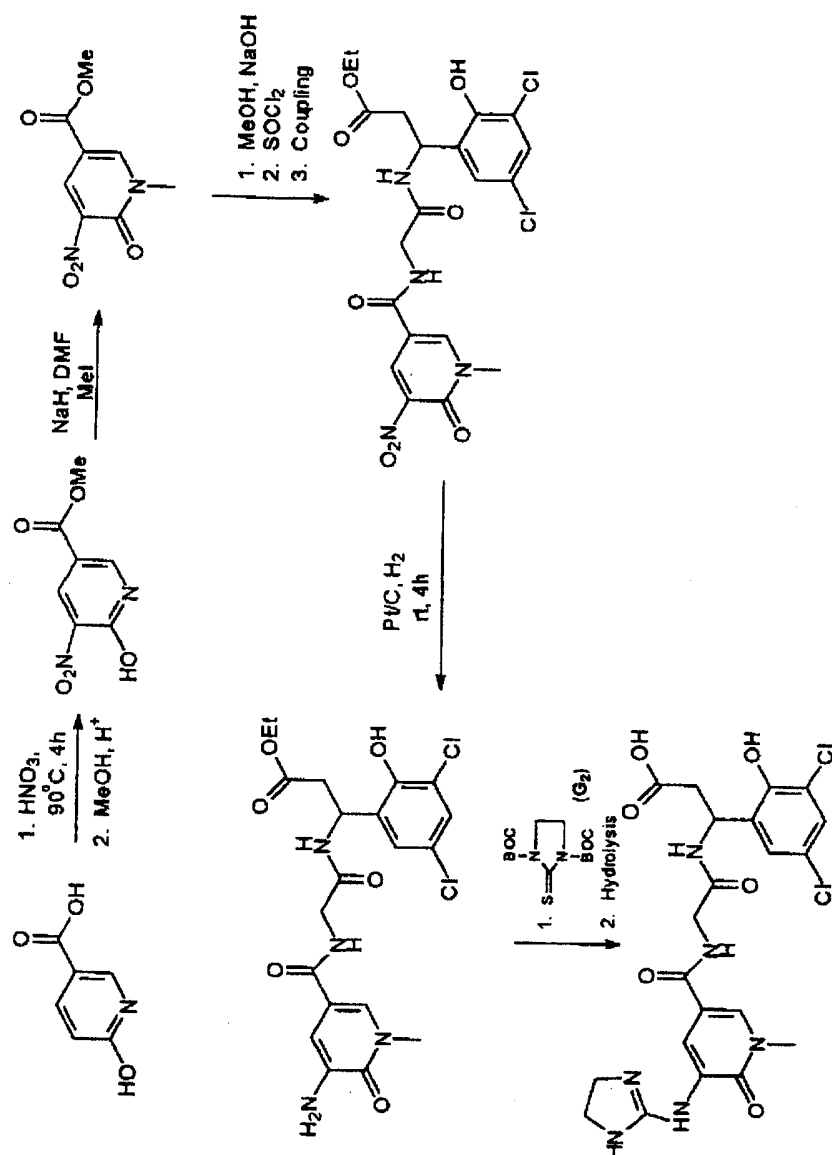
Analýza vypočtená pro $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_6\text{Cl}_2 \cdot 2 \text{ TFA}$:

C, 41,74; H, 3,88; N, 12,70.

Skutečné hodnoty: C, 41,47; H, 3,49; N, 12,85.

Příklad 18

Trifluoroctová sůl N-[[5-[(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)amin]-1,6-dihydro-1-methyl-6-oxo-3-pyridinyl]karbonyl]glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfenyl)-β-alaninu



1. krok

Suspenze produktu z příkladu 17, 1. kroku (12,0 g) v methanolu (200 ml) se smí-
chala s koncentrovanou kyselinou sírovou (1 ml) a zahřála se k refluxu. Po 16 hodinách

refluxu se směs stala homogenním roztokem a zchladila se na laboratorní teplotu. Přibližně polovina rozpouštědla se odstranila a poté produkt krystalizoval z roztoku. Směs se zchladila v ledové lázni, přefiltrovala a vysušením se získal žlutý prášek (16,7 g).

$^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

2.krok

Roztok produktu z 1. kroku (2,6 g) v DMF (40 ml) se zchladil na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ v dusíkové atmosféře a smíchal se s 60% disperzí hydridu sodného v minerálním oleji (655 mg). Směs se míchala 45 minut při $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a pak se naráz smíchala s jodmethanem (2,8 g). Reakce se míchala 16 hodin při laboratorní teplotě a pak se rozdělila mezi ethylacetát a vodu. Vodná složka se několikrát extrahovala dalším množstvím ethylacetátu a pak se smíchané organické extrakty promyly roztokem nasyceného chloridu sodného, vysušily (Na_2SO_4) a zakoncentrovaly. Zbytek se přečistil na koloně naplněné silikagelem (eluze směsí 2% methanol - 98% dichlormethan) se získala žlutá pevná látka (1,9 g).

$^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

3.krok

Roztok produktu z 2. kroku (2,6 g), methanolu (60 ml) a 2M roztoku hydroxidu sodného (60 ml) se míchala 16 hodin při laboratorní teplotě. Reakce se zastavila ledovou kyselinou octovou (6,9 ml) a zakoncentrovala. Zbytek se vysušil za vysokého vakua. Tato látka se pak refluxovala thionyl chloridem (100 ml) 3 hodiny v dusíkové atmosféře. Reakce se pak zchladila, zakoncentrovala a důkladným vysušením za vysokého vakua se získala žlutohnědá pevná látka (2,2 g). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou. V plameni vysušené nádobě se v dusíkové atmosféře rozpustil produkt z příkladu D (3,5 g) v N,N-dimethylacetamidu (35 ml) a diizopropylaminu (2,9 ml). Roztok se zchladil na $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a zreagoval s roztokem chloridu kyseliny (1,9 g) (získaného dříve) v THF (35 ml). Reakce se míchala 30 minut a pak se zakoncentrovala za vysokého vakua pro odstranění rozpouštědla. Zbytek se rozdělil mezi ethylacetát a vodu a vodná část se několikrát extrahovala s dalším ethylacetátem. Smíchané organické extrakty se promyly několikrát vodou a pak se promyly nasyceným roztokem chloridu sodného, vysušily (Na_2SO_4) a zakoncentrováním se získala žlutá pevná látka (1,3 g). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

4. krok

Roztok produktu z 3. kroku (1,0 g) v THF (10 ml) a DMF (10 ml) reagoval s katalytickým množstvím 5% Pt/C při tlaku vodíku 34,5 kPa (5 psi) 4 hodiny při laboratorní teplotě. Reakční směs se přefiltrovala a zakoncentrovala. Zbytek se smíchal s minimálním množstvím THF a pomalu krystalizoval při laboratorní teplotě. Ke zkrystalizované směsi se přidal ekvivalentní objem ethylacetátu, který se nechal působit 15 minut. Směs se zchladila, přefiltrovala a promyla studeným ethylacetátem. Vysušením produktu se získala bílá pevná látka (730 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

5. krok

K roztoku produktu z 4. kroku (720 mg) a G_2 (581 mg) v DMF (25 ml) se přidal triethylamin (304 mg) a chlorid rtuťnatý (544 mg). Směs se zahřívala 1 hodinu při 85 °C v dusíkové atmosféře. Reakční směs se zchladila a přefiltrovala přes celit. Filtrát se zakoncentroval a přečistěním na koloně naplněné silikagelem (eluze směsí 10% methanol - 90% chloroform) se získala bílá pevná látka (375 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

6. krok

Výše uvedená sloučenina se připravila se sloučeniny připravené v 5. kroku (360 mg) za použití postupu popsaného ve 14. příkladu (5. krok). Surový produkt se přečistil za použití HPLC na reverzní fázi, uvedené výše, a získala se bílá pevná látka (223 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

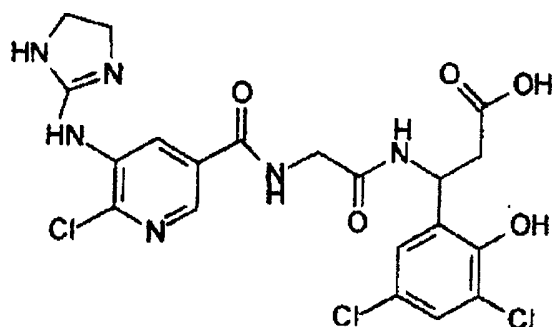
Analýza vypočtená pro $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_6\text{Cl}_2 \cdot 2,5 \text{ TFA} \cdot 0,5 \text{ H}_2\text{O}$:

C, 38,11; H, 3,14; N, 10,26; Cl, 8,65.

Skutečné hodnoty: C, 38,18; H, 3,05; N, 10,79; Cl, 9,34.

Příklad 19

Monohydrát trifluorctové soli $\text{N-}[[6\text{-chlor-5-}[(4,5\text{-dihydro-1H-imidazol-2-yl)amino]}\text{-3-pyridinyl]karbonyl-glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfenyl)-}\beta\text{-alaninu}$



1. krok

Připravil se roztok chloridu cínatého (6,3 g) v koncentrované kyselině chlorovoídkové (10 ml) a po kapkách se přidal k roztoku produktu z 3. kroku, příkladu 17 (1,0 g) v THF (15 ml). Reakce se 15 minut míchala a pak se reakce zchladila na laboratorní teplotu. Organické rozpouštědlo se odstranilo a získal se precipitát gumovité konzistence. Vodná složka se dekantovala a gumovitý precipitát se rozdělil mezi ethylacetát a roztok zředěného hydrogenuhličitanu sodného. Vodná složka se několikrát extrahovala dalším ethylacetátem a smíchané organické extrakty se pak promyly vodou a nasyceným roztokem chloridu sodného, vysušily (Na_2SO_4) a zakoncentrovaly. Zbytek se vysušil za vakua a získal se žlutohnědý prášek (375 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

Sloučenina popsaná v 1. kroku (365 mg) se guanylovala podle postupu použitého v 5. kroku příkladu 18. Surový produkt se přečistil na koloně naplněné silikagelem (eluze směsí 2% methanol - 98% chloroform) a získala se nahnědlá hustá kapalina (205 mg).

$^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

3. krok

Výše uvedená sloučenina se připravila za použití produktu z 2. kroku (200 mg) a následoval postup popsáný v 7. kroku, příkladu 17. Surový produkt se přečistil za použití HPLC na reverzní fázi, jak je popsáno výše, a získala se bílá pevná látka (53 mg).

$^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

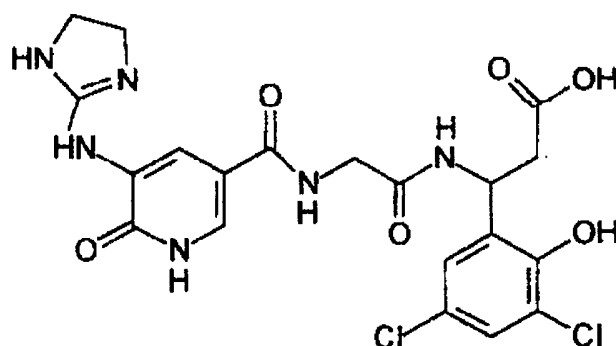
Analýza vypočtená pro $C_{20}H_{19}N_6O_5Cl_3 \cdot 1,7 \text{ TFA} \cdot 0,5 \text{ H}_2\text{O}$:

C, 37,90; H, 3,09; N, 11,33; Cl, 14,34.

Skutečné hodnoty: C, 37,53; H, 2,71; N, 11,33; Cl, 15,01.

Příklad 20

Trifluoroctová sůl N-[[5-[(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)amino]-1,6-dihydro-6-oxo-3-pyridinyl]karbonyl]glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfenyl)-β-alaninu



Výše uvedená sloučenina se připravila rozpuštěním produktu z příkladu 17, 6. kroku (353 mg) v 6M roztoku kyseliny chlorovodíkové (50 ml) při laboratorní teplotě po dobu 48 hodin. Reakce se zakončila a přečištěním zbytku HPLC s reverzní fází, jak je popsáno dříve, se získala bílá pevná látka (115 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

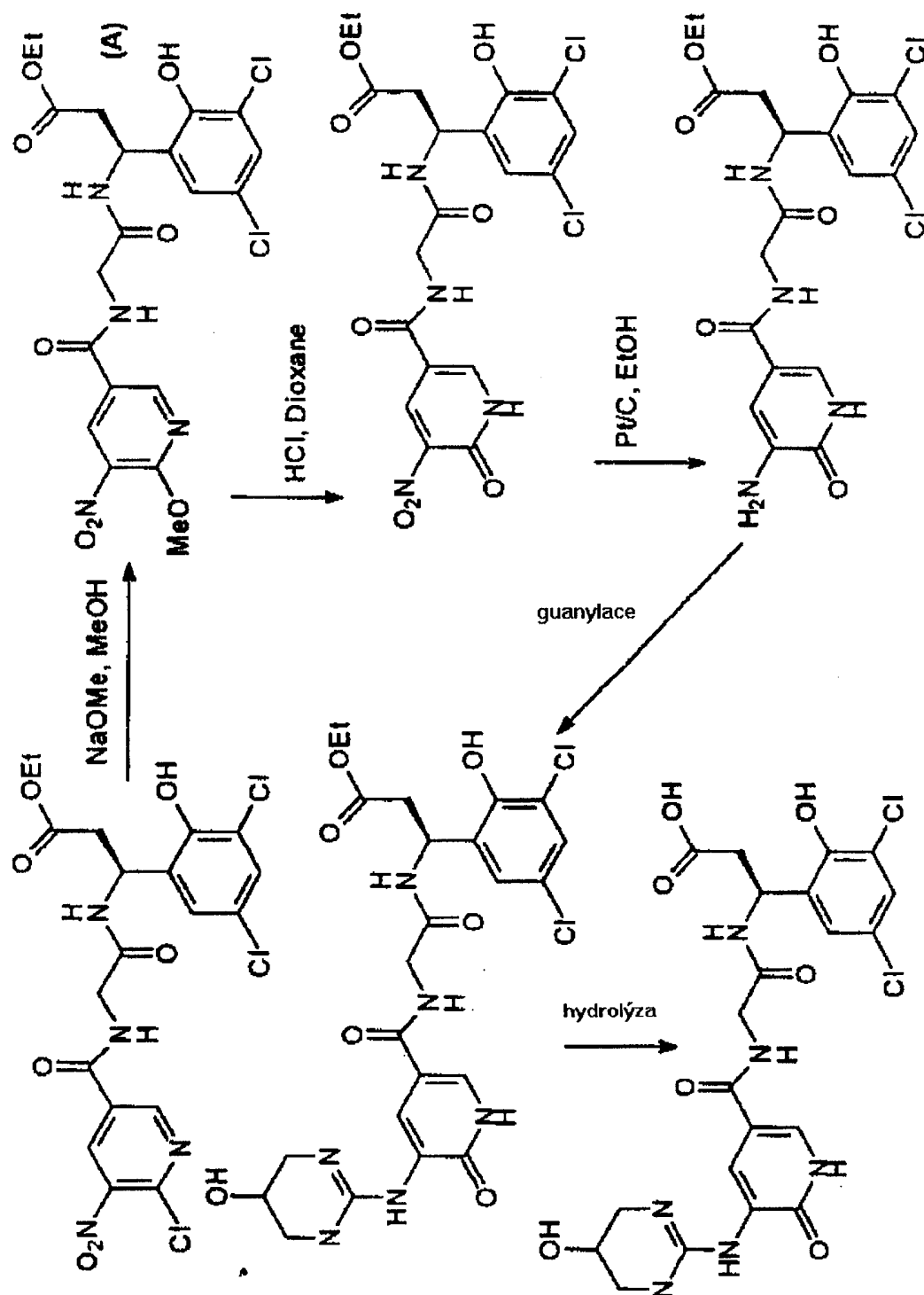
Analýza vypočtená pro $C_{20}H_{20}N_6O_6Cl_2 \cdot 1,25 \text{ TFA}$:

C, 41,33; H, 3,28; N, 12,85.

Skutečné hodnoty: C, 41,57; H, 3,29; N, 12,92.

Příklad 21

Příprava trifluoroctové soli (3S)-N-[[1,6-dihydro-6-oxo-5-[(1,4,5,6-tetrahydro-5-hydroxy-2-pyrimidinyl)amino]-3-pyridinyl]karbonyl]glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfenyl)-β-alaninu



Výchozí látka použitá v přípravě uvedené sloučeniny se připravila podle sledu reakcí popsaných v příkladu 17 (1. až 3. kroku). Místo produktu v příkladu D se ve slučovací reakci uvedené v 3. kroku použil chirální meziprodukt z příkladu G.

1. krok

Sloučenina (A) se připravila podle postupu uvedeného ve 4. kroku, příkladu 17.

$^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

Roztok sloučeniny z 1. kroku (2,7 g) ve 4M bezvodé směsi HCl /dioxan (100 ml) se zahříval 72 hodin při 45°C v dusíkové atmosféře. Zakoncentrováním dosucha se získala světle hnědá pevná látka (2,6 g).

$^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

3. krok

Roztok produktu z 2. kroku (1,85 g) a ethanolu (50 ml) zreagoval s katalytickým množstvím 5% Pt/C pod tlakem vodíku 34,5 kPa, 2 hodiny za laboratorní teploty. Reakční směs se přefiltrovala a zakoncentrovala a přečistěním zbytku pomocí HPLC na reverzní fázi se získala bílá pevná látka (507 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

4. krok

K roztoku produktu z 3. kroku (500 mg) a produktu z 1. kroku příkladu 4 (650 mg) v DMF (15 ml) se přidal triethylamin (304 mg) a chlorid rtuťnatý (408 mg) a směs se 2 hodiny zahřívala při 100°C v dusíkové atmosféře. Reakční směs se zchladila na laboratorní teplotu, míchala 15 minut s ethylacetátem a pak se přefiltrovala. Filtrát se zakoncentroval a zbytek reagoval 1 hodinu při laboratorní teplotě s roztokem TFA (7 ml) a CH_2Cl_2 (7 ml). Směs se zakoncentrovala, zbytek se přečistil pomocí HPLC s reverzní fází, jak je popsáno výše, a získala se bílá pevná látka (400 mg).

$^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

5. krok:

Roztok produktu ze 4. kroku (200 mg) se míchal 16 hodin při laboratorní teplotě s 1M hydroxidem sodným (8 ml) a methanolem (8 ml). Reakce se zastavila TFA (1 ml) a zakoncentrovala. Zbytek se přečistil pomocí HPLC s reverzní fází, jak je popsáno výše a získala se bílá pevná látka (79 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

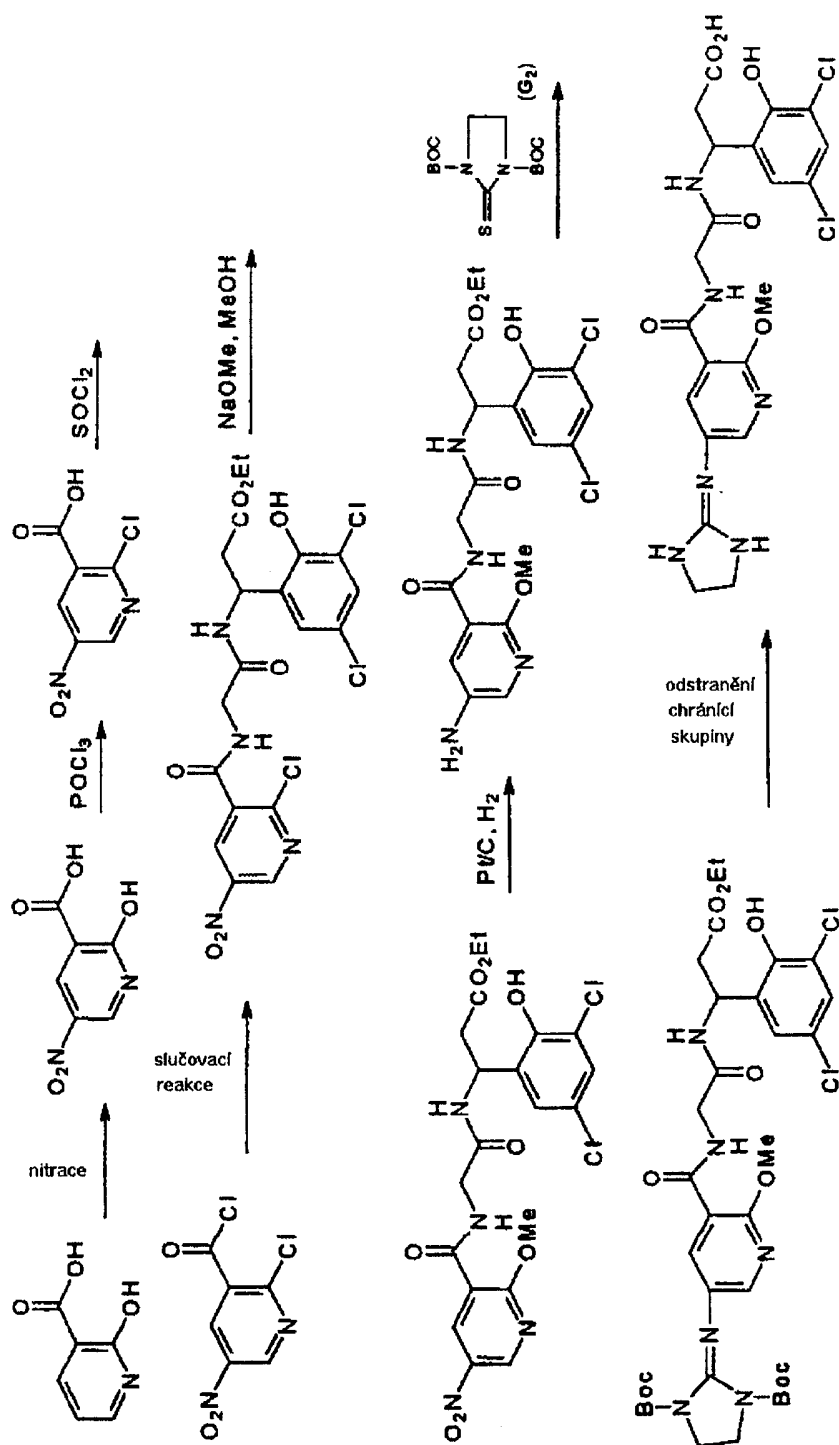
Analýza vypočtená pro $C_{21}H_{22}N_6O_7Cl_2 \cdot 1,5 \text{ TFA}$:

C, 40,46; H, 3,32; N, 11,80.

Skutečné hodnoty: C, 40,12; H, 3,57; N, 12,26.

Příklad 22

Příprava trifluoroctové soli N-[[5-[(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)amino]-2-methoxy-3-pyridinyl]karbonyl]glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfernyl)-β-alaninu.



1. krok

K roztoku 2-hydroxynikotinové kyseliny (10,0 g, 71,9 mmol) v koncentrované kyselině sírové (28,6 ml) se po kapkách přidala dýmavá kyselina dusičná (7,1 ml). Reakční směs se zahřívala 4 hodiny při 55 °C. Zchlazená reakční směs se nalila do vody s ledem. Produkt precipitoval ve formě žluté pevné látky. Precipitovaná pevná látka se odstranila filtrací, promyla vodou a vysušením na vzduchu se získal požadovaný produkt (7,2 g, 54% výtěžek). NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok:

Roztok produktu z 1. kroku (5,0 g, 27,2 mmol) v oxychloridu fosforitém (13,5 g) se refluxoval 4,5 hodiny. Zchlazená reakční směs se nalila do ledové vody (200 g). Výsledná směs se míchala 30 minut a extrahovala směsí tetrahydrofuran/ethylacetát (2/1). Organická vrstva se promyla solankou, vysušila nad Na_2SO_4 a přefiltrovala. Zkoncentrováním filtrátu se získal olej. Smícháním oleje se směsí hexan/ether (4/1) se získal požadovaný produkt ve formě jasně žlutého prášku (5,0 g, 91% výtěžek). NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

3. krok

Roztok produktu z 2. kroku (3,1 g, 15,3 mmol) v thionylchloridu (8,1 ml) se refluxoval 4,5 hodiny. Zbylý thionylchlorid se odstranil z reakční směsi za sníženého tlaku a získal se světle hnědý olej. Vysušením oleje za vakua se získal produkt ve formě žluté pevné látky (2,7 g, 79% výtěžek). NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

4. krok

K roztoku produktu z příkladu D (5,5 g, 14,8 mmol) v N,N-dimethylacetamidu (40 ml) a tetrahydrofuranu (15 ml) se přidal diizopropylethylamin (3,7 g, 4,9 ml) a reakční směs se zchladila na -5 °C. K reakční směsi se během 15 minut přidal roztok produktu z 3. kroku (3,1 g, 14,1 mmol) v tetrahydrofuranu (25 ml). Reakční směs se míchala 30 minut při -5°C a pak se zahřála na laboratorní teplotu. Po 3 hodinách se z reakční směsi za sníženého tlaku odstranil tetrahydrofuran. Reakční směs se nalila do ledové vody. Precipitovaná pevná látka se oddělila filtrací, promyla vodou a vysušením na vzduchu se získal produkt ve formě žluté pevné látky (6,2 g, 85 % výtěžek). NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

5. krok:

Roztok produktu z 4. kroku (4,0 g, 7,7 mmol) se míchal 4 hodiny při 0 °C s methoxidem sodným (1,67 g, 30,8 mmol) v methanolu (45 ml). Reakce se zneutralizovala kyselinou octovou. Z reakční směsi se odstranil methanol a přečistěním surového produktu chromatografií (silikagel, směs ethylacetát-toluen, 6/4) se získal požadovaný produkt ve formě žluté pevné látky (2,5 g, 67% výtěžek). NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

6. krok

Směs produktu z 5. kroku (0,99 g, 1,9 mmol), 3% platiny na uhlíku a methanolu reagovala 16 hodin s H₂ při tlaku 34,5 kPa a laboratorní teplotě. Platinový katalyzátor se odstranil filtrací. Methanol se odstranil za sníženého tlaku a získal se požadovaný produkt ve formě žluté pevné látky (0,62 g, 70% výtěžek). Tento produkt se použil v následující reakci bez dalšího přečistění. NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

7. krok

Směs produktu z 6. kroku (0,26 g, 0,54 mmol), G₂ (0,18 g, 0,59 mmol), triethylaminu (0,25 g, 1,78 mmol), chloridu rtuťnatého (0,16 g, 0,59 mmol) a N,N-dimethylaformamidu (15 ml) se zahřívala 16 hodin při 90 °C až 95 °C. Zchlazená reakční směs se přefiltrovala přes krátkou klonu naplněnou celitem s ethylacetátem (40 ml) a pak dichlormethanem (30 ml). Po zpracování surové směsi chromatografií (silikagel, CH₂Cl₂-CH₃OH-NH₄OH, 95/5/0,5) se získal produkt ve formě žluté pevné látky (0,31 g, 76% výtěžek). NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

8. krok

Roztok produktu ze 7. kroku (0,31 g, 0,41 mmol) se míchal 2 hodiny při laboratorní teplotě s kyselinou trifluorooctovou (3,5 ml) a dichlormethanem (7,0 ml). Kyselina trifluorooctová a dichlormethanem se odstranila za sníženého tlaku a surová směs reagovala 18 hodin při laboratorní teplotě s methanolem (5 ml) a roztokem hydroxidu sodného (2M, 2,5 ml). Přidáním kyseliny octové se zneutralizoval hydroxid sodný. Odstraněním methanolu se získala surová směs. Surová směs se přečistila za použití

HPLC s reverzní fází a získala se výše uvedená sloučenina ve formě bílé pevné látky (0,10 g, 36% výtěžek).

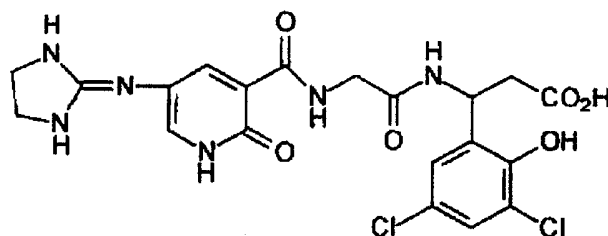
Analýza vypočtená pro $C_{21}H_{22}N_6O_6Cl_2 \cdot 1,3 CF_3COOH \cdot 0,25H_2O$:

C, 41,80; H, 3,54; N, 12,39, Cl, 10,46;

Skutečné hodnoty: C, 42,12; H, 3,84; N, 11,87; Cl, 10,99.

Příklad 23

Příprava trifluoroctové soli N-[[5-(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)amino]-1,2-dihydro-2-oxo-3-pyridinyl]-karbonyl]glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfenyl)-β-alaninu



Roztok produktu ze 7. kroku (0,21 g, 0,28 mmol), příkladu 22, v dioxanu (4 ml) reagovala s 6M HCl (6 ml) 72 hodin při laboratorní teplotě. Rozpouštědlo se odstranilo za sníženého tlaku a přečistěním surové směsi pomocí HPLC s reverzní fází za použití směsi acetonitril-voda, jako elučního činidla, se získala požadovaná sloučenina ve formě ne zcela bílé pevné látky (0,052 g, 27% výtěžek).

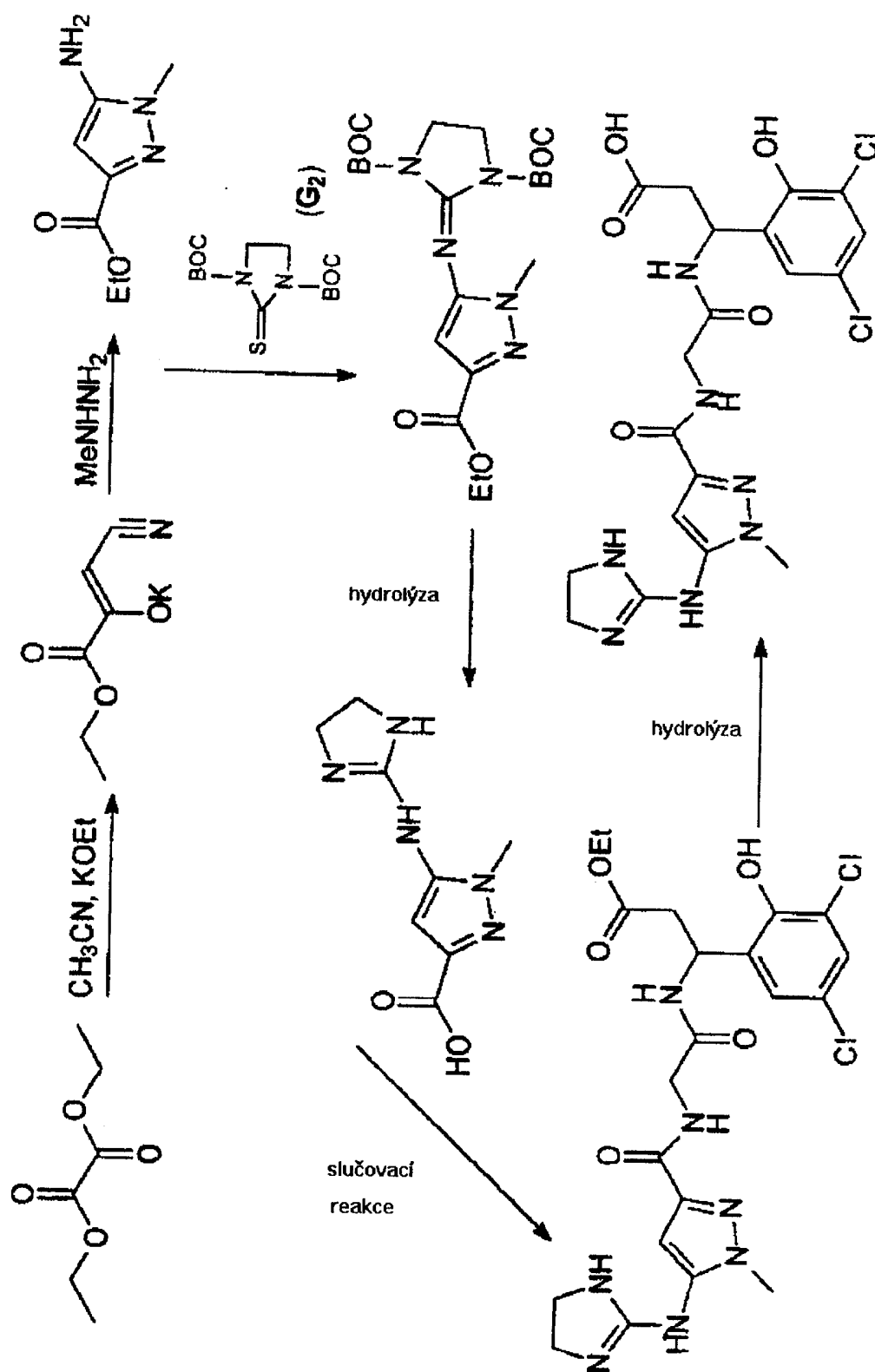
Analýza vypočtená pro $C_{20}H_{20}N_6O_6Cl_2 \cdot 1,6 CF_3COOH$:

C, 40,17; H, 3,14; N, 12,11;

Skutečné hodnoty: C, 40,10; H, 3,22; N, 11,84;

Příklad 24

Příprava trifluoroctové soli N-[[5-[(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)amino]-1-methyl-1H-pyrazol-3-yl]karbonyl]glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfenyl)-β-alaninu



1. a 2. krok syntézy cílové sloučeniny se prováděl podle postupů uvedených v literatuře (Justus Liebigs. Ann. Chem, 512, 97, 1934 a respektive J.Heterocyclic Chem. 21, 737, 1994).

3. krok

K roztoku produktu z 2. kroku (0,9 g, 5,3 mmol) a G_2 (1,9 g, 5,9 mmol) v DMF (25 ml), se přidal triethylamin (2,5 ml, 17,6 mmol) a chlorid rtuťnatý (1,6 g, 5,9 mmol). Po 18 hodinovém chlazení na 80 °C až 85 °C se reakční směs zchladila a přefiltrovala přes kolonu s celitem. Zbytek se promyl dichlormethanem a smíchané frakce se zakoncentrovaly. Zbytek se rozpustil v dichlormethanu a promyl vodou a solankou. Po vysušení nad síranem sodným se směs přefiltrovala a zakoncentrovala. Surová oranžová pevná látka (1,8 g) se přečistila chromatograficky na silikagelu (hexan/ethylacetát 1/1) a získal se N-Boc chráněný produkt ve formě ne zcela bílé pevné bílé látky (1,4 g).

4. krok

K roztoku produktu z 3. kroku (2,4 g, 5,5 mmol) v ethanolu (50 ml) se přidal vodný hydroxid lithný (526 mg v 5 ml vody). Reakční směs se míchala 24 hodin při laboratorní teplotě. K reakční směsi se přidala kyselina octová (22 ml) a směs se míchala 15 minut. Po odstranění rozpouštědla za sníženého tlaku se surová směs přečistila HPLC s reverzní fází (acetonitril/voda obsahující trifluoroctovou kyselinu) a získal se produkt ve formě soli TFA jako husté bílé kapaliny. Zbytek se smíchal s kyselinou chlorovodíkovou a (4M roztok v dioxanu) a míchal 10 minut. Reakce se zakoncentrovala kvůli odstranění rozpouštědla a opakováním celého procesu dvakrát se získal požadovaný produkt ve formě bílé pevné látky (3,9 g). Produkt se použil v následujícím kroku bez dalšího přečistění.

5. krok:

K roztoku produktu ze 4. kroku (0,9 g, 3,7 mmol) v DMF (15 ml) se při 0 °C přidal N-methylmorfolin (605 ml, 5,5 mmol) a následně izobutylchlorformiát (475 ml, 3,7 mmol). Po 5 minutovém míchání se do reakce injekčně přidal roztok produktu z kroku D v DMF (10 ml) obsahující N-methylmorfolin (605 ml, 5,5 mmol). Směs se následně míchala 1 hodinu při 0 °C a 36 hodin za laboratorní teploty. Rozpouštědlo se odstranilo za

sníženého tlaku a přečistěním zbytku HPLC s reverzní fází (acetonitril/voda obsahující trifluoroctovou kyselinu) se získal produkt (525 mg) ve formě soli TFA.

6. krok

K roztoku produktu z 5. kroku (540 mg, 1 mmol) v ethanolu (50 ml) se přidal vodný hydroxid lithný (144 mg v 10 ml vody). Reakční směs se míchala 24 hodin při laboratorní teplotě. Do reakční směsi se pak přidala se kyselina octová (305 ml) a směs se míchala 15 minut. Po odstranění rozpouštědla za sníženého tlaku se surová směs přečistila HPLC s reverzní fází (acetonitril/voda obsahující trifluoroctovou kyselinu) se získal požadovaný produkt (486 mg, 75% výtěžek) ve formě soli TFA.

Analýza vypočtená pro $C_{19}H_{21}N_7O_5Cl_2 \cdot 1,5 CF_3CO_2H$:

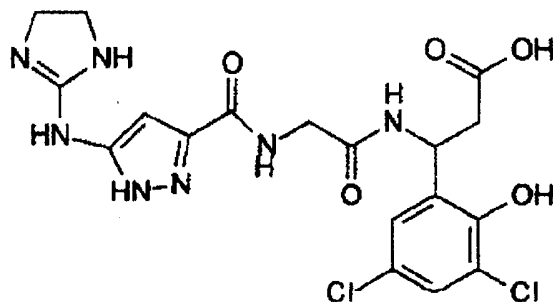
C, 39,48; H, 3,39; N, 14,65.

Skutečné hodnoty: C, 39,29; H, 3,14; N, 14,72.

NMR a MS byly v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 25

Příprava trifluoroctové soli N-[[5-[(4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)amino]-1H-pyrazol-3-yl]karbonyl]-glycyl-3-(3,5-dichlor-2-hydroxyfenyl)-β-alaninu

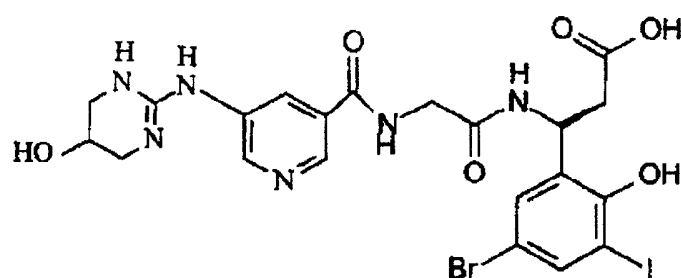


Sloučenina se připravila podle příkladu 24 použitím benzyldihydrazinu místo methylhydrazinu v 2. kroku. Z výsledné sloučeniny N-benzalpyrazolu se odstranila chránící skupina v posledním kroku za podmínek katalytické hydrogenace (5% Pd/C, 138 kPa, laboratorní teplota, 26 hodin). Tato reakce se prováděla za použití směsi kyselina octová-trifluoroctová (4/1) jako rozpouštědla.

Analýza vypočtená pro $C_{18}H_{19}N_7O_5Cl_2 \cdot 1,75 CF_3CO_2H \cdot 1,25H_2O$:

Skutečné hodnoty: C, 36,35; H, 2,96; N, 14,28.

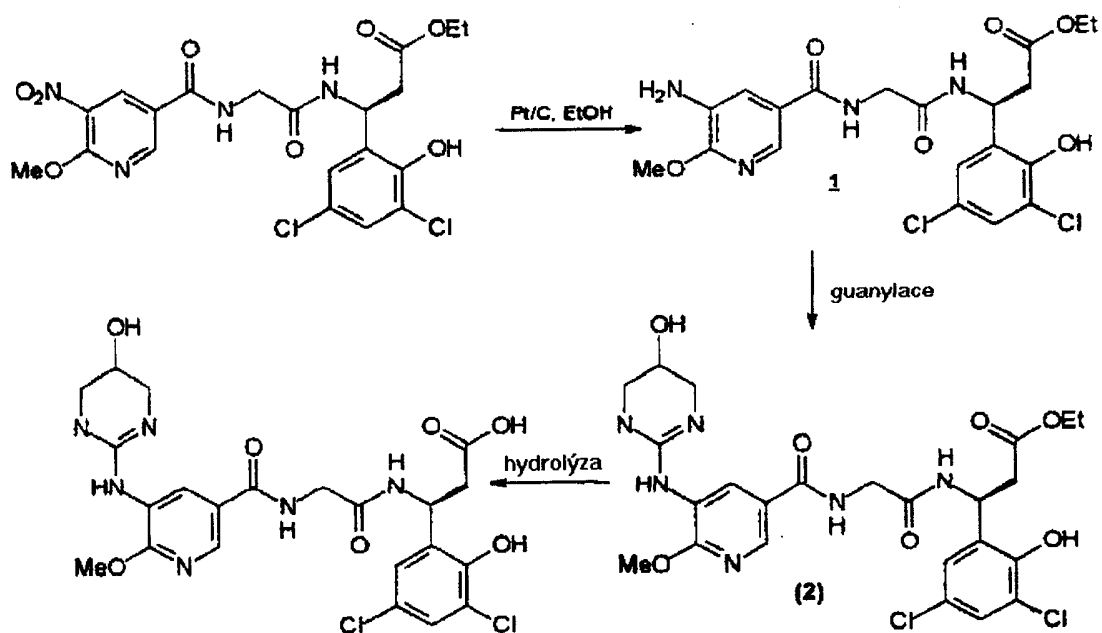
Příklad 26



Analýza vypočtená pro $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{BrIN}_6\text{O}_6 \cdot 2 \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H} \cdot 0,25 \text{H}_2\text{O}$

C, 33,60; H, 2,76; N, 9,40

Příklad 27



Výchozí látka nezbytná v této přípravě se vyrobila podle postupu v příkladu 21, 1. kroku.

1. krok

Roztok výchozí látky (1,4 g) v ethanolu (50 ml) reagoval 5 hodin při laboratorní teplotě s katalytickým množstvím 5% Pt/C při tlaku 34,5 kPa. Reakční směs se přefiltrovala, zakoncentrovala, a vysušením se získala bílá pevná látka (1,1 g). ^1H -NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

Sloučenina 2 se připravila podle experimentálního postupu v 21. příkladu, 4. kroku. ^1H -NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

3. krok

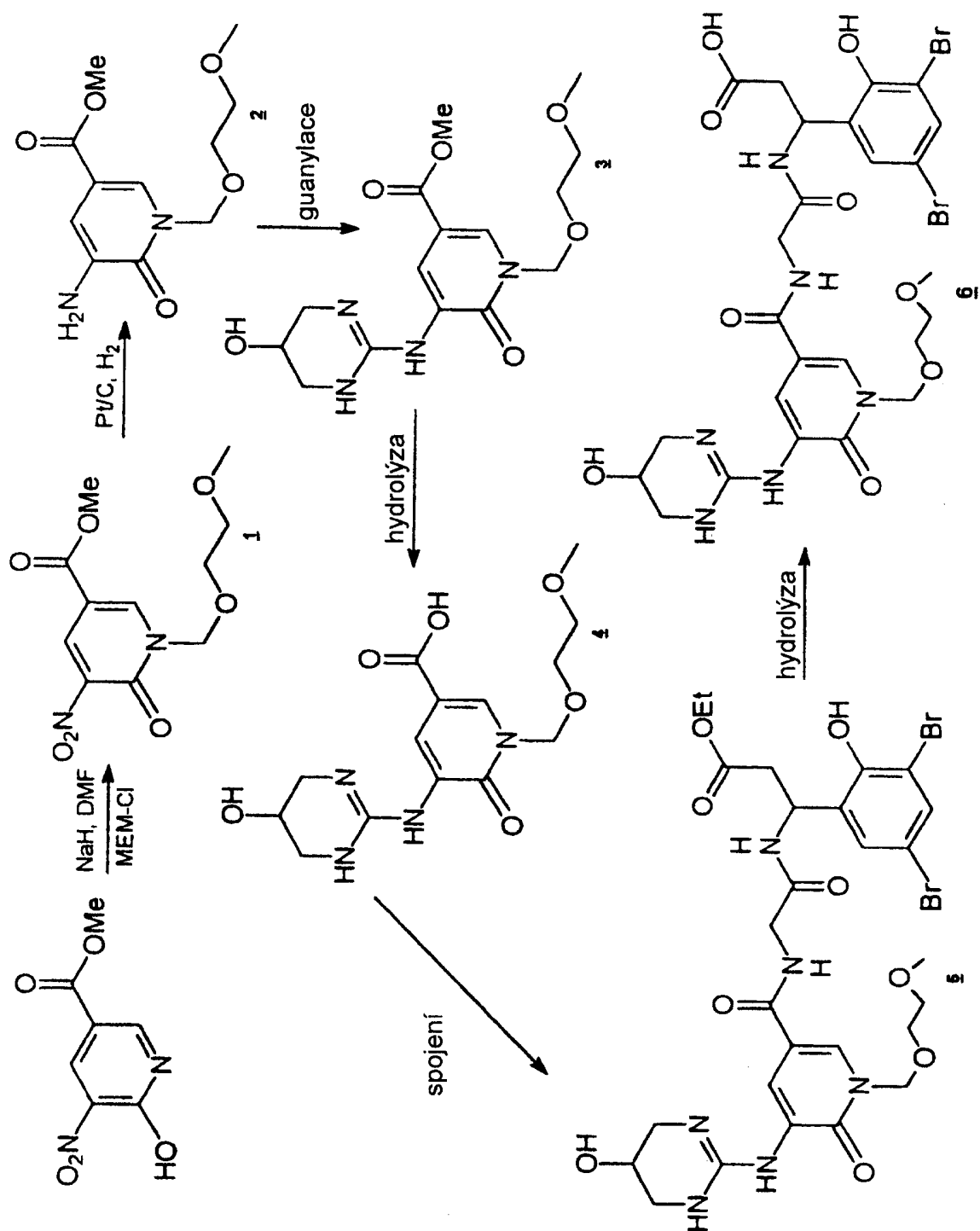
Esterová skupina ve sloučenině 2 se hydrolyzovala podle experimentálního postupu v 21. příkladu, 5. kroku. ^1H -NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

Analýza vypočtená pro $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_7\text{Cl}_2 \cdot 1,50 \text{ TFA} \cdot 0,25 \text{ H}_2\text{O}$:

C, 41,08; H, 3,59; N, 11,50.

Skutečné hodnoty: C, 41,03; H, 3,69; N, 11,45.

Příklad 28



Výchozí látka, nezbytná v této přípravě, se připravila podle popisu v příkladu 18, 1. kroku.

1. krok

Sloučenina 1 se připravila podle postupu uvedeném v příkladu 18, 2. kroku, s tím rozdílem, že jako alkylační činidlo se místo jodmethanu použil 2-methoxyethoxymethylchlorid. $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

Roztok produktu popsaného v 1. kroku (4,6 g) v methanolu (50 ml) reagoval 2 hodiny při laboratorní teplotě s katalytickým množstvím 5% Pt/C při tlaku vodíku 34,5 kPa. Reakční směs se přefiltrovala, zakoncentrovala a vysušením se získal viskózní olej (4,3 g). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

3. krok

Část produktu z 2. kroku (2,0 g) se guanylovala za použití reakčních podmínek popsaných v 4. kroku příkladu 21 a získal se produkt 3 ve formě viskózního oleje zlaté barvy (890 mg). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

4. krok

Esterová skupina produktu 3 se hydrolyzovala za použití experimentálního postupu uvedeného v příkladu 21, 5. kroku. $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

5. krok

Produkt ze 4. kroku se sloučil s produktem z příkladu I a následoval postup uvedený v příkladu 12, 4. kroku. $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

6. krok

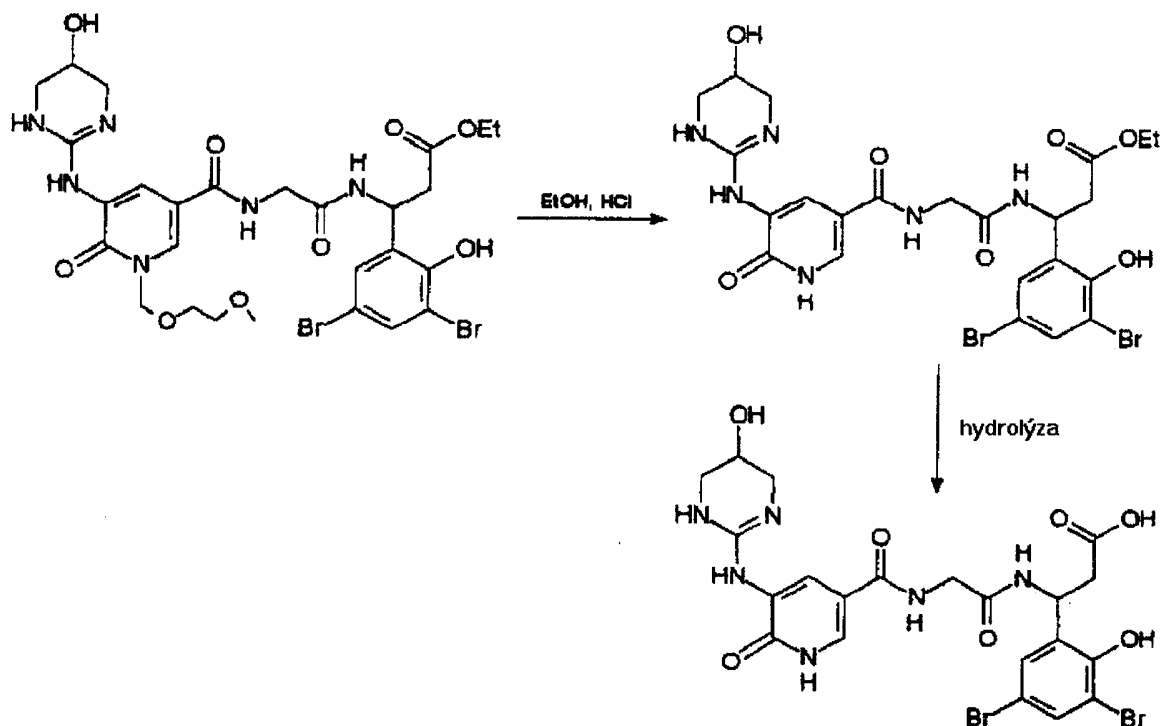
Esterová skupina produktu z 5. kroku se hydrolyzovala za použití experimentálního postupu uvedeného v příkladu 21, 5. kroku. $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou

Analýza vypočtená pro $C_{25}H_{31}N_6O_9Br_2 \cdot 1,75 \text{ TFA} \cdot 0,25 \text{ H}_2\text{O}$:

C, 37,07; H, 3,63; N, 9,10.

Skutečné hodnoty: C, 36,86; H, 3,66; N, 9,39.

Příklad 29



Produkt z příkladu 28, 5. kroku se použil jako výchozí látka v tomto postupu.

1. krok

Část výchozí látky (425 mg) reagovala čtyři hodiny při laboratorní teplotě s nasycenou bezvodou HCl v ethanolu (10 ml). Reakční směs se zakoncentrovala na suchý zbytek a produkt se použil v následujícím kroku bez přechistění.

2. krok

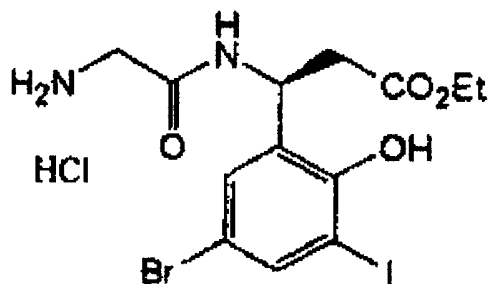
Esterová skupina surového produktu z 1. kroku se hydrolyzovala podle postupu v 5. kroku 21. příkladu. $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

Analýza vypočtená pro $C_{21}H_{22}N_6O_7Br_2 \cdot 1,75 \text{ TFA} \cdot 0,25 \text{ H}_2\text{O}$:

C, 35,27; H, 2,93; N, 10,07.

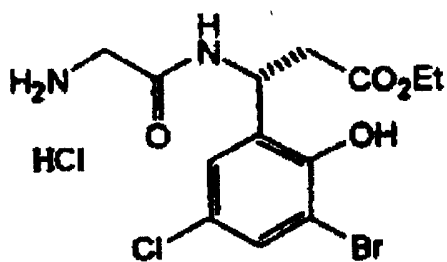
Skutečné hodnoty: C, 35,21; H, 3,16; N, 10,27.

Příklad S

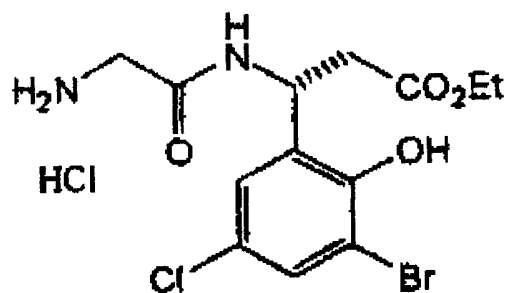


Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu popsaného v příkladu G. V kroku 2A se místo 3,5-dichlorsalicylaldehydu použil 3-jod-5-bromsalicylaldehyd.

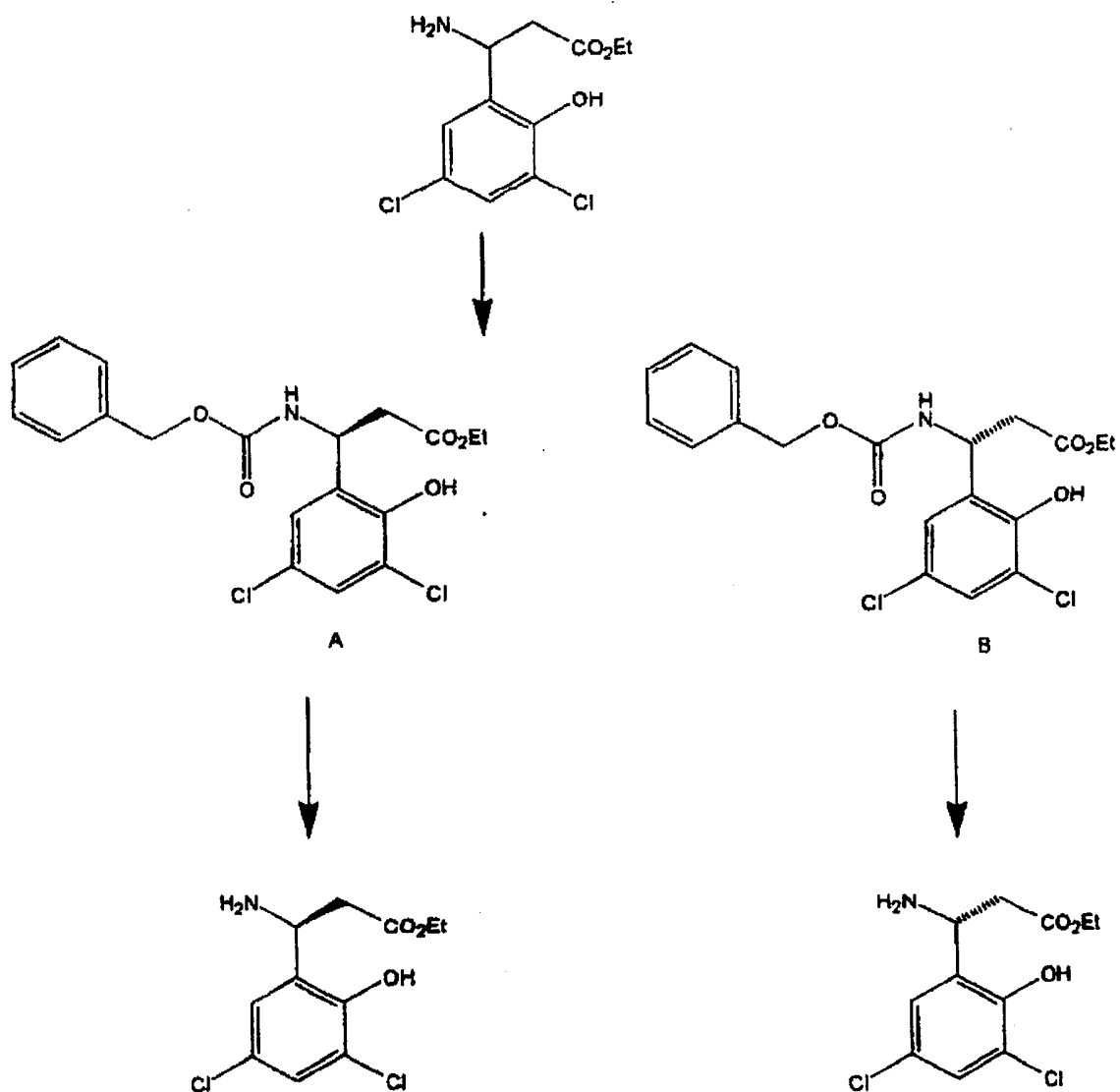
Příklad T



Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu popsaného v příkladu G. V kroku 2A se místo 3,5-dichlorsalicylaldehydu použil 3-brom-5-chlorsalicylaldehyd. Podobně, v kroku 2B se použil místo S-fenylglycinolu R-fenylglycinol.

Příklad U

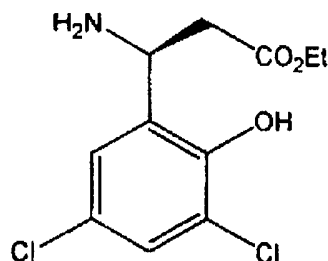
Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu popsáno v příkladu D.
Racemická směs získaná v 2. kroku se rozpustila, jak je popsáno níže.



1. krok:

K racemickému aminoesteru hydrochloridu (50,0 g, 158,9 mmol), získaného v 2. kroku příkladu D, v CH_2Cl_2 (500 ml) a vodě (380 ml) se přidal NaHCO_3 (38,2 g, 454,5 mmol). Směs se míchala 10 minut při laboratorní teplotě za prudkého vývoje plynu. Během 20 minut se za rychlého míchání přidal roztok benzylchlorformiátu (43,4 g, 222,8 mmol) v CH_2Cl_2 (435 ml). Po 40 minutách se reakční směs nalila do oddělené nálevky a oddělil se organický roztok. Vodná fáze se promyla CH_2Cl_2 (170 ml). Smíchaný organický roztok se vysušil (MgSO_4) a zakoncentroval se za vakua. Výsledná pevná látka gumovité konzistence se rozsuspendovala v hexanu a oddělila filtrací. Žlutohnědá pevná látka se vysušila ve vakuu a získal se požadovaný racemický produkt, (62,9 g, 96% výtěžek). Pomocí HPLC s reverzní fází za použití chirální kolony se oddělily jednotlivé enantiomery, A a B. Použila se kolona Whelk-O (R,R), částice o velikosti 10 μm a mobilní fáze 90:10 heptan:ethanol. Optická čistota byla stanovena >98% použitím analytické HPLC s podobným rozpouštědlem a za obdobných podmínek. $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

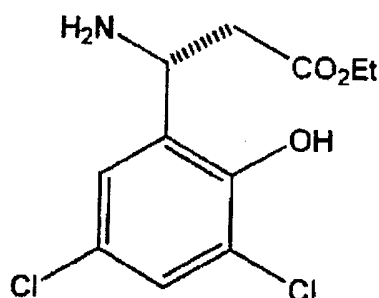
Krok 2A



K roztoku enantiomeru A, 1. krok (57,9 g, 140,4 mmol) v CH_2Cl_2 (600 ml) se pomocí hadičky přidal trimethylsilyljodid (33,7 g, 168,5 mmol) v CH_2Cl_2 (125 ml). Oranžový roztok se míchal 1 hodinu při laboratorní teplotě. Po kapkách se během 15 minutového míchání k roztoku přidával methanol (27,3 ml, 674,1 mmol). Zakoncentrováním reakčního roztoku za vakua se získal oranžový olej. Zbytek se rozpustil v methyl t-butyletheru (670 ml) a extrahoval s 1M HCl (420 ml) a vodou (1 $\times$ 230 ml, 1 $\times$ 130 ml). Vodné extrakty se znovu promyly s MTBE (130 ml). K vodnému roztoku se po malých částech přidal pevný NaHCO_3 (52,9 g, 630 mmol). Zásaditá vodná směs se extrahovala MTBE (1 $\times$ 1,2 l, 2 $\times$ 265 ml). Smíchaný organický roztok se promyl solankou a zakon-

centrováním ve vakuu se získal požadovaný produkt (28,6 g, 73% výtěžek). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

Krok 2B



K roztoku enantiomeru B, z 1. kroku sloučený z příkladu 1 (38,5 g, 93,4 mmol) v CH_2Cl_2 (380 ml), se pomocí hadičky přidal trimethylsilyljodid (25,0 g, 125,0 mmol) v CH_2Cl_2 (80 ml). Oranžový roztok se míchal 1,5 hodiny při laboratorní teplotě. Po kapkách se pak přidal methanol (20,0 ml, 500,0 mmol) a roztok se míchal 20 minut. Zakoncentrováním reakčního roztoku za vakuu se získal oranžový olej. Zbytek se rozpustil v diethyletheru (450 ml) a extrahoval 1M HCl (320 ml) a vodou (1 × 200 ml, 1 × 100 ml). Vodné extrakty se opět promyly diethyletherem (100 ml). K vodnému roztoku se po malých částech přidal pevný NaHCO_3 (40,1 g, 478 mmol). Zásaditá vodná směs se extrahovala diethyletherem (1 × 1,0 l, 2 × 200 ml). Smíchaný organický roztok se promyl solankou a zakoncentrováním ve vakuu se získal požadovaný produkt (20,8 g, 80% výtěžek).

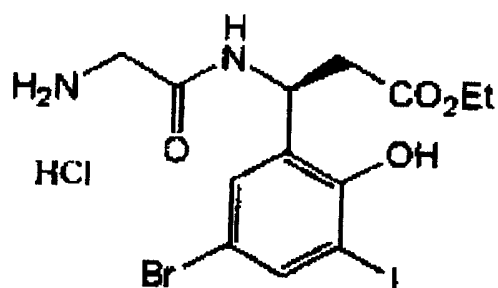
Analýza vypočtená pro $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{NO}_3$:

C, 47,50; H, 4,71; N, 5,04.

Skutečné hodnoty: C, 47,11; H, 4,66; N, 4,93.

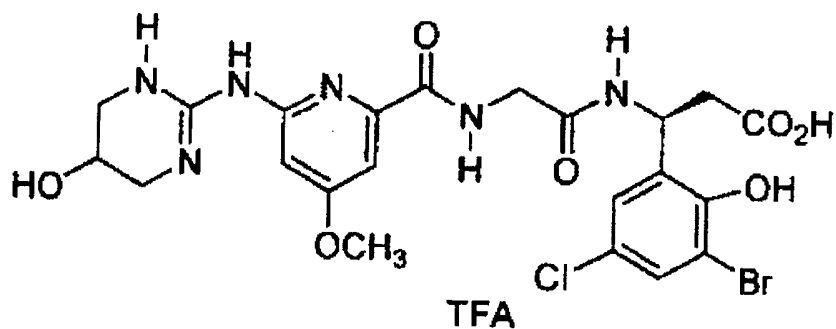
Produkt z kroku 2B se přeměnil na požadovaný meziprodukt za použití reagensů a podmínek popsaných ve 4. a 5. kroku příkladu G.

Příklad V



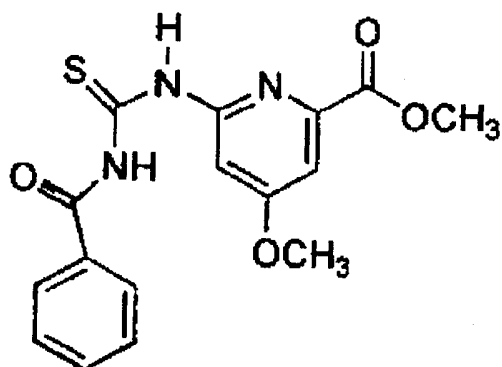
Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu popsaneho v příkladu G. V kroku 2A se místo 3,5-dichlorsalicylaldehydu použil 5-brom-3-jodbenzaldehyd.

Příklad 30



1. krok

Příprava

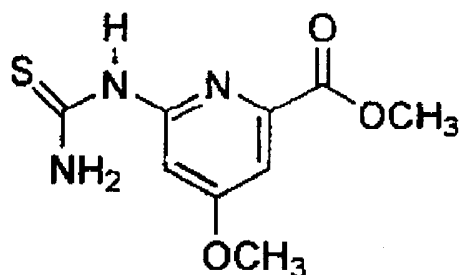


K míchanému roztoku methyl-(4-methoxy-2-aminopikolinátu) (602 mg, 3,3 mmol) (JACS, 78, 4130, 1956) v CH_2Cl_2 (20 ml) se přidal benzoylizothiokyanát (1 ml, Aldrich) a reakční směs se míchala 90 minut při laboratorní teplotě. Směs se zředila etherem

(20 ml). Směs se zchladila v ledové lázni, pevná látka se přefiltrovala, promyla etherem a vysušením se získala požadovaná sloučenina (828 mg, 73,27% výtěžek) ve formě pevné bílé látky: ^1H NMR: 300MHz bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

2. krok

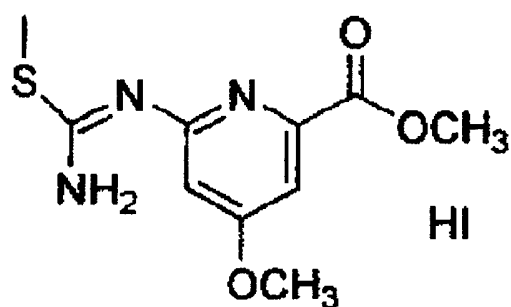
Příprava



K míchanému roztoku produktu z 1. kroku (750 mg, 2,17 mmol) v methanolu (30 ml) se v dusíkové atmosféře přidal NaOMe (538 mg). Reakční směs se míchala 2 hodiny za laboratorní teploty. Reakce se zastavila ledovou kyselinou octovou (0,575 ml) a míchala se 15 minut za laboratorní teploty. Pevná látka se přefiltrovala za vakua, promyla ledovým methanolem a vysušením se získala požadovaná sloučenina (385 mg, 73% výtěžek) ve formě bílé pevné látky: ^1H NMR: 300MHz bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

3. krok

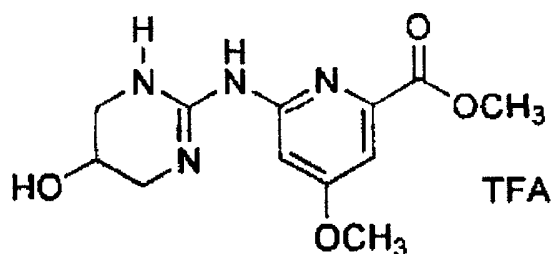
Příprava



K míchanému roztoku produktu z 2. kroku (364 mg, 1,5 mmol) v methanolu (20 ml) se přidal jodmethan (0,25 ml). Reakční směs se zahřívala za refluxu 2 hodiny. Směs se zchladila na laboratorní teplotu a zakoncentrováním se získala požadovaná sloučenina (560 mg) ve formě bílé pevné látky: ^1H NMR: 300MHz bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

4. krok

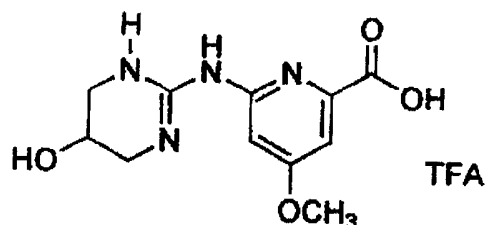
Příprava



K míchanému roztoku produktu z 3. kroku (500 mg, 1,30 mmol) v N,N-dimethylacetamidu (10 ml) se přidal 1,3-diamino-2-hydroxypropan (123 mg, 1,37 mmol). Reakční směs se zahřívala 2 hodiny při 90 °C. Zakoncentrováním směsi za vakua se získal surový produkt, jehož přechistěním HPLC s reverzní fází se získala požadovaná sloučenina (228 mg) ve formě bílé pevné látky. ^1H NMR: 300MHz bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

5. krok

Příprava

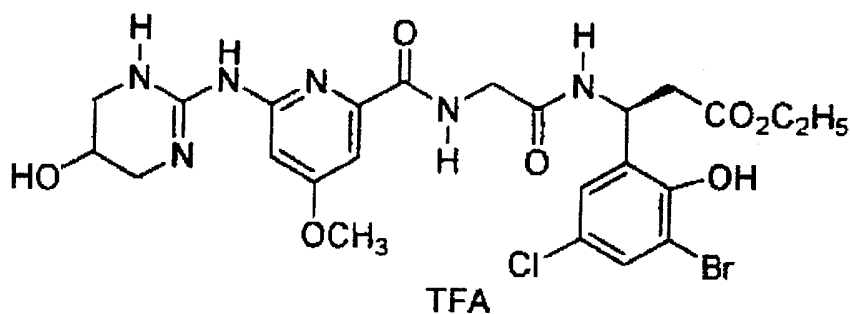


K míchanému roztoku produktu z 4. kroku (200 mg) v methanolu (3 ml) a THF (3 ml) se přidal roztok 1M NaOH (3 ml). Reakční směs se míchala 1 hodinu při laboratorní teplotě. Zakoncentrováním směsi za vakua se získal olej gumovité konzistence, který se smíchal s vodou (2 ml) a zneutralizoval se 1M HCl (3 ml). Směs se zakoncentrovala za vakua a získal se surový produkt, jehož přečištěním HPLC s reverzní fází se získala požadovaná sloučenina (228 mg) ve formě bílé pevné látky.

^1H NMR: 300MHz bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

6. krok

Příprava

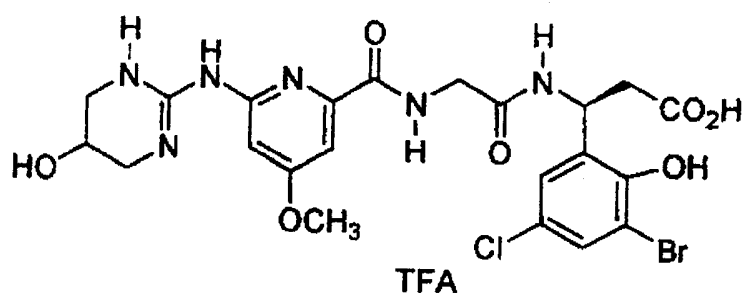


K míchanému roztoku produktu z 5. kroku (151,25 mg, 0,5 mmol) v N,N-dimethylacetamidu (5 ml) se přidal 4-methylmorfolin (202 mg, 2 mmol) a 1-hydroxybenzotriazol (67 mg, 0,5 mmol) a produkt aminoesteru z příkladu R (208,5 mg, 0,5 mmol). Směs se míchala 5 minut při laboratorní teplotě. Reakční směs pak reagovala s 1-[3-(dimethylamino)propyl]-3-ethylkarbodiimidem (96 mg, 0,5 mmol) a 4-(dimethylamin)pyridinem (10 mg). Reakční směs se míchala 72 hodin při laboratorní

teplotě v atmosféře dusíku. Reakční směs se zastavila vodou (1 ml) a zakoncentrováním za vakua se získal surový produkt, jehož přečistěním HPLC s reverzní fází se získala požadovaná sloučenina (42 mg) ve formě bílé pevné látky. ^1H NMR: 400MHz bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

7. krok

Příprava

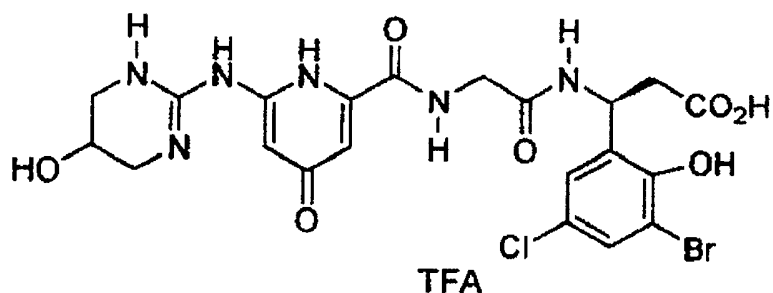


K míchanému roztoku produktu 6. kroku (35 mg) v methanolu (3 ml) a THF (3 ml) se přidal roztok 1M NaOH (3 ml). Reakční směs se míchala 1 hodinu při laboratorní teplotě. Směs se zakoncentrovala za vakua, získal se olej gumovité konzistence, který se smíchal s vodou (2 ml) a zneutralizoval 1M HCl (3 ml). Směs se zakoncentrovala za vakua a získal se surový produkt, jehož přečistěním HPLC s reverzní fází se získala požadovaná sloučenina (22 mg) ve formě bílé pevné látky. ^1H NMR: 400MHz bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

Analýza vypočtená pro $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_7\text{BrCl} \cdot 2\text{TFA}, 0,5\text{H}_2\text{O}$:

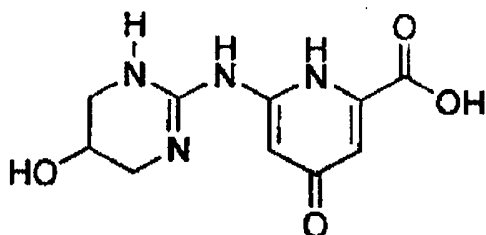
C, 37,22; H, 3,25; N, 10,04.

Skutečné hodnoty: C, 36,91; H, 3,17; N, 10,02.

Příklad 31

1. krok

Příprava

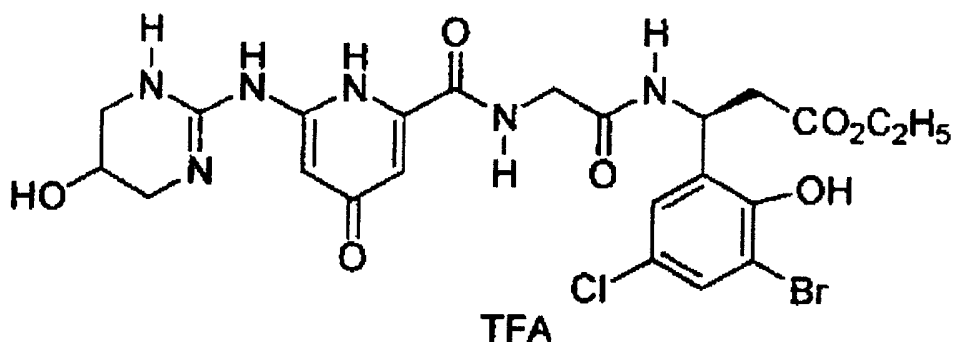


K míchanému roztoku produktu z 4. kroku příkladu 30 (900 mg) v ledové kyselině octové (10 ml) se přidal 48% HBr (10 ml). Reakční směs se zahřívala 3 hodiny za refluxu. Směs se zchladila na laboratorní teplotu a míchala 18 hodin za laboratorní teploty. Směs se zakoncentrovala za vakua a získal se surový produkt, jehož přečištěním HPLC s reverzní fází se získala požadovaná sloučenina (720 mg) ve formě oleje gumovité konzistence.

^1H NMR: 300MHz bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

2. krok

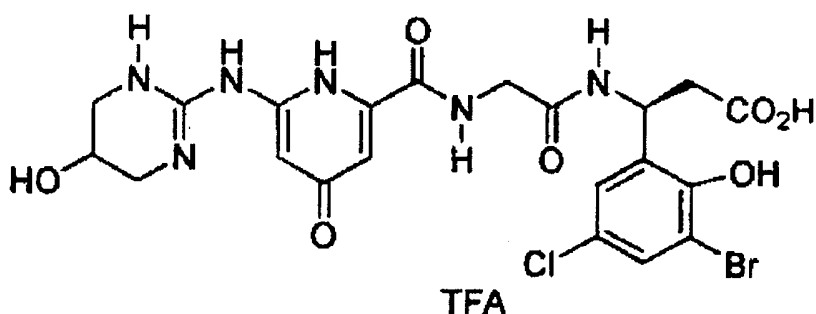
Příprava



K míchanému roztoku produktu z 1. kroku (720 mg, 1,7 mmol) v N,N-dimethylacetamidu (10 ml) se přidal 4-methylmorfolin (520 mg, 5,2 mmol) a 1-hydroxybenzotriazol (221 mg, 1,71 mmol) a produkt aminoesteru z příkladu R (710 mg, 1,71 mmol). Směs se míchala 5 minut při laboratorní teplotě. Reakční směs reagovala s 1-[3-(dimethylamin)propyl-3-ethylkarbodiimidem (211 mg, 1,7 mmol) a 4-(dimethylamin)pyridinem (10 mg). Reakční směs se míchala 72 hodin při laboratorní teplotě v dusíkové atmosféře. K reakční směsi se pak přidala voda (1 ml) a zakoncentrováním za vakua a získal se surový produkt, jehož přečistěním HPLC s reverzní fází se získala požadovaná sloučenina (182 mg) ve formě bílé pevné látky. ^1H NMR: 300MHz bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

3. krok

Příprava



K míchanému roztoku produktu z 2. kroku (100 mg) v methanolu (3 ml) a THF (3 ml) se přidal 1M roztok NaOH (3 ml). Reakční směs se míchala 1 hodinu při laboratorní

teplotě. Zakoncentrováním směsi za vakua se získal olej gumovité konzistence, ke kterému se přidala voda (2 ml), a zneutralizoval se 1M HCl (3 ml). Zakoncentrováním za vakua a získal se surový produkt, jehož přečištěním HPLC s reverzní fází se získala požadovaná sloučenina (42 mg) ve formě bílé pevné látky.

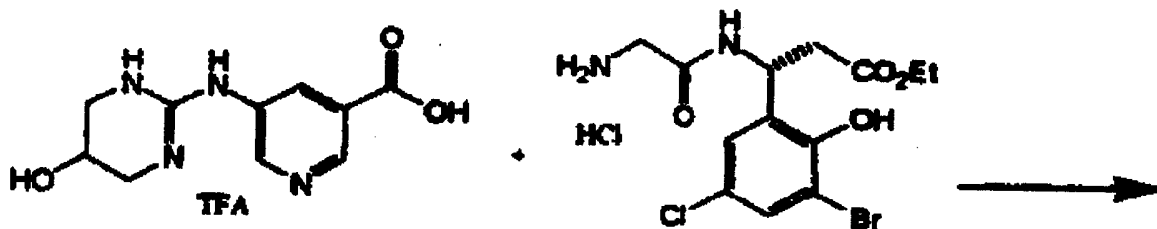
^1H NMR: 300MHz bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

Analýza vypočtená pro $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_7\text{BrCl}$. 1,5TFA, 0,5 H_2O :

C, 37,64; H, 3,22; N, 10,97.

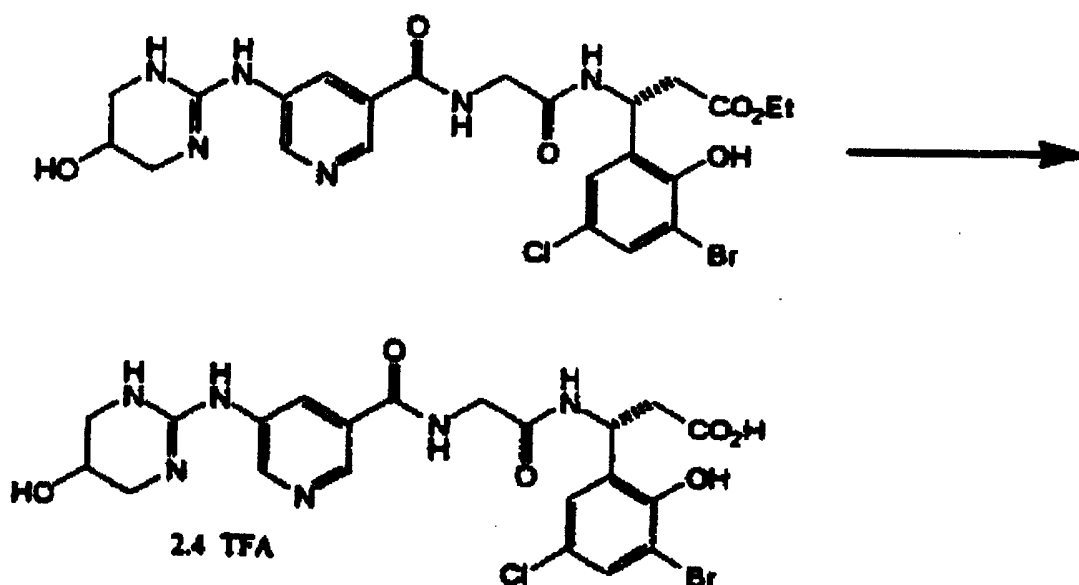
Skutečné hodnoty: C, 37,56; H, 3,05; N, 10,99.

Příklad 32



Sloučenina A

Sloučenina B



2.4 TFA

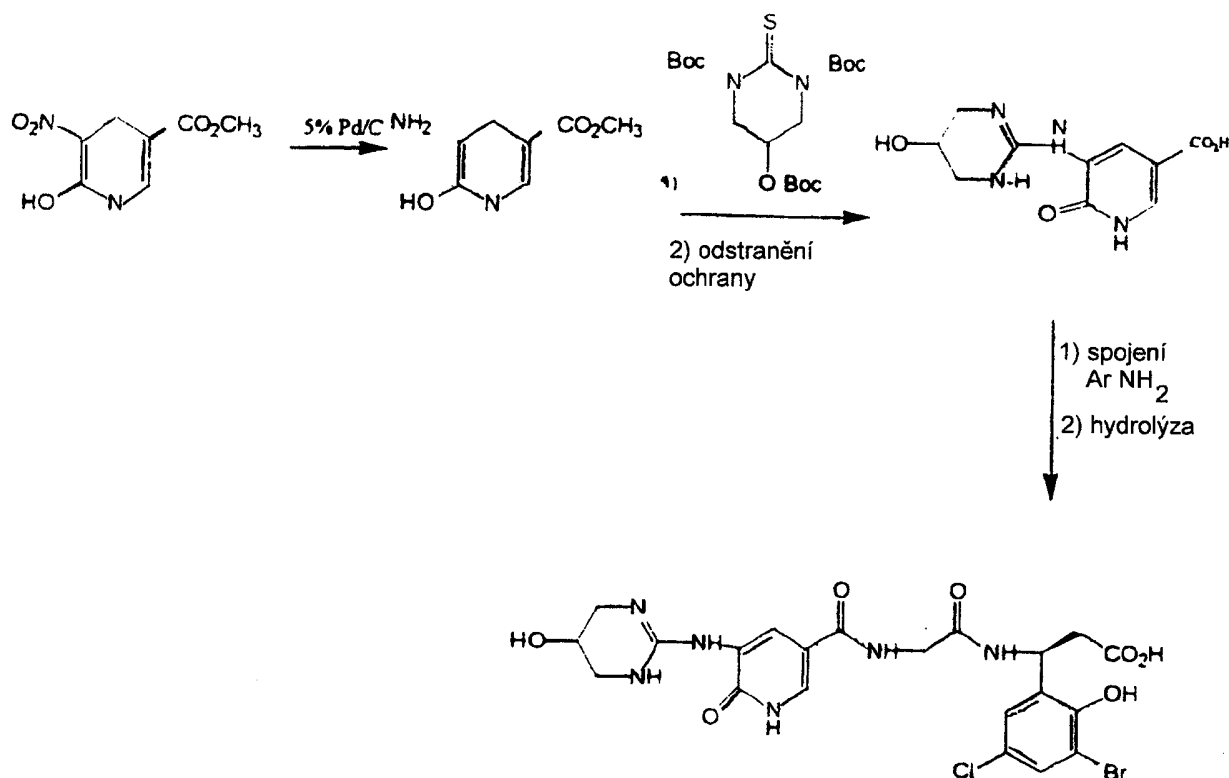
K roztoku produktu z 3. kroku, příkladu 9 (860 mg, 2,45 mmol) a produktu z příkladu T (1,0 g, 2,41 mmol) v dimethylacetamidu (24 ml) se při 0 °C přidal HOBT (358 mg, 2,64 mmol) a následně N-methylmorfolin (0,6 ml, 5,15 mmol). Reakční roztok se míchal 15 minut a pak se přidal EDC (470 mg, 2,45 mmol). Směs se zahřívala přes noc na laboratorní teplotu. Pak se zakoncentrovala za vakua a zbytek se rozdělil mezi ethylacetát a vodu. Vodný roztok se extrahoval ethylacetátem a smíchané organické vrstvy se vysušily (Na_2SO_4) a zakoncentrovaly. Zbytek se přečistil RP HPLC (s výchozím gradientem 90:10 voda/TFA:MeCN, retenční čas 22,5 min) a získal se požadovaný sloučený produkt zahrnující obnovenou sloučeninu B (480 mg). K této látce (sloučenina B) se přidal 1M vodný NaOH (6 ml) a směs se míchala 3 hodiny. Roztok se okyselil pomocí TFA na pH 4. Přečistěním směsi RT HPLC (s výchozím gradientem 95:5 voda/TFA:MeCN, retenční čas 24,5 min) se získal požadovaný produkt (160 mg, 8% výťažek pro dva kroky).

Analýza vypočtená pro $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{BrCl N}_5\text{O}_6 + 2,4 \text{ TFA}$:

C, 36,74; H, 2,92; N, 9,96.

Skutečné hodnoty: C, 36,83; H, 3,07; N, 9,88.

^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

Příklad 33

1. krok

Roztok látky z 2. kroku příkladu 18 (5,72 g) v THF (80 ml) reagoval s katalytickým množstvím 5% Pd/C při tlaku vodíkové atmosféry 34,5 kPa, 2 hodiny za laboratorní teploty. Reakční směs se přefiltrovala a zbytek se promyl DMF (250 ml). Filtrát se zakonzentroval, zbytek se promyl etherem, přefiltroval a vysušením na vzduchu se získal hnědý prášek (4,9 g), který se použil přímo v následujícím kroku bez dalšího přečištění.

^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

2. krok

Látka z 1. kroku (500 mg) se guanylovala za použití tris BOC činidla a podmínek popsanych v 4. kroku příkladu 21, čímž se získal požadovaný produkt (128 mg) ve formě zlaté sklovité látky.

^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

3. krok

Esterová skupina produktu z 2. kroku se hydrolyzovala za použití experimentálního postupu uvedeného v 5. kroku příkladu 21. ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

Analýza vypočtená pro $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_4 \cdot 1,5 \text{ TFA}$:

C, 38,45; H, 3,57; N, 12,81

Skutečné hodnoty: C, 38,32; H, 3,77; N, 12,80.

4. krok

Požadovaná sloučenina se připravila použitím stejného postupu popsaného ve 4. kroku příkladu 12 sloučením produktu popsaného v 3. kroku s produktem z příkladu R. ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

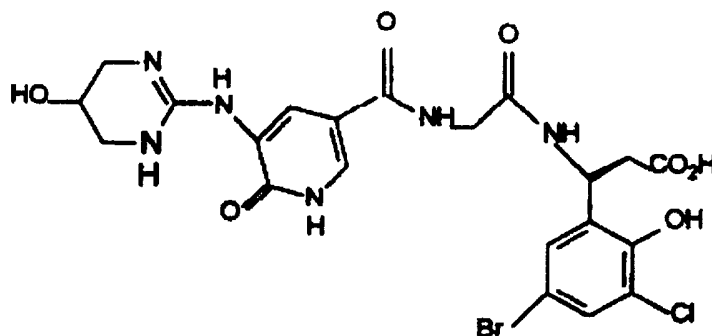
5. krok

Esterová skupina produktu ve 4. kroku se hydrolyzovala podle postupu popsaného u 5. kroku 12. příkladu. ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

Analýza vypočtená pro $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_7\text{BrCl} \cdot 1,5\text{TFA} \cdot 0,25 \text{ H}_2\text{O}$:

C, 37,86; H, 3,18; N, 11,04; Cl, 4,66; Br, 10,50.

Skutečné hodnoty: C, 37,60; H, 3,26; N, 11,20; Cl, 4,79; Br, 10,19

Příklad 34

Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu popsaného v příkladu 33.

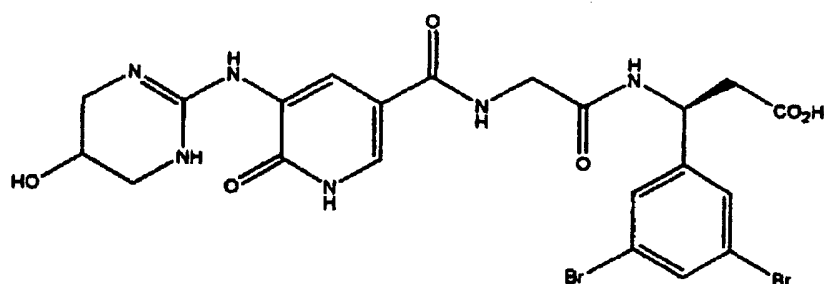
Ve 4. kroku se produkt příkladu H použil místo produktu příkladu R.

Analýza vypočtená pro $C_{21}H_{22}N_6O_7BrCl \cdot 2,0 \text{ TFA} \cdot 0,5H_2O$:

C, 36,49; H, 3,06; N, 10,21

Skutečné hodnoty: C, 36,10; H, 2,83; N, 10,29.

Příklad 35



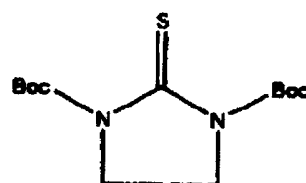
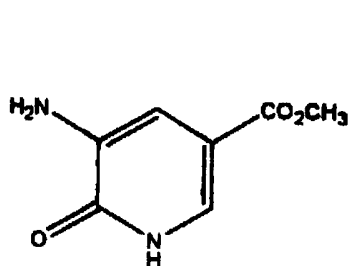
Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu popsaného v příkladu 33. Ve 4. kroku se místo produktu příkladu R použil produkt příkladu V.

Analýza vypočtená pro $C_{21}H_{22}N_6O_6Br_2 \cdot 1,75 \text{ TFA}$:

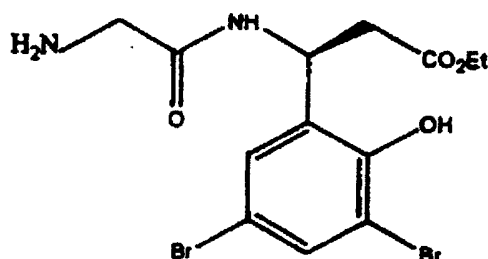
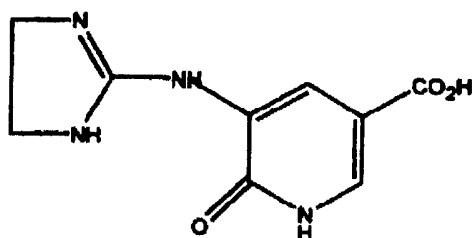
C, 35,76; H, 3,03; N, 10,21

Skutečné hodnoty: C, 35,58; H, 3,07; N, 10,61.

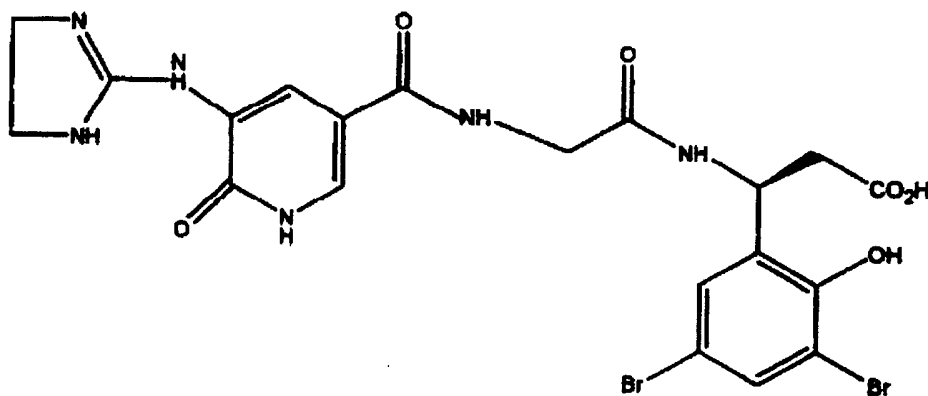
Příklad 36



1) 
 2) hydrolyza



1) 
 2) NaOH



1. krok

Produkt z 1. kroku příkladu 33 (261 mg) se guanyloval za použití bis-boc činidla G_2 a reakčních podmínek popsanych v 5. kroku příkladu 18. Získal se produkt ve formě bílé pevné látky (207 mg). Látka se pak saponifikovala za použití experimentálních podmínek popsanych v 5. kroku, příklad 21. 1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

2. krok

Požadovaná sloučenina se připravila použitím stejného postupu popsaného ve 4. kroku příkladu 12. Produkt popsany v 1. kroku se sloučil s produktem příkladu I. 1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

3. krok

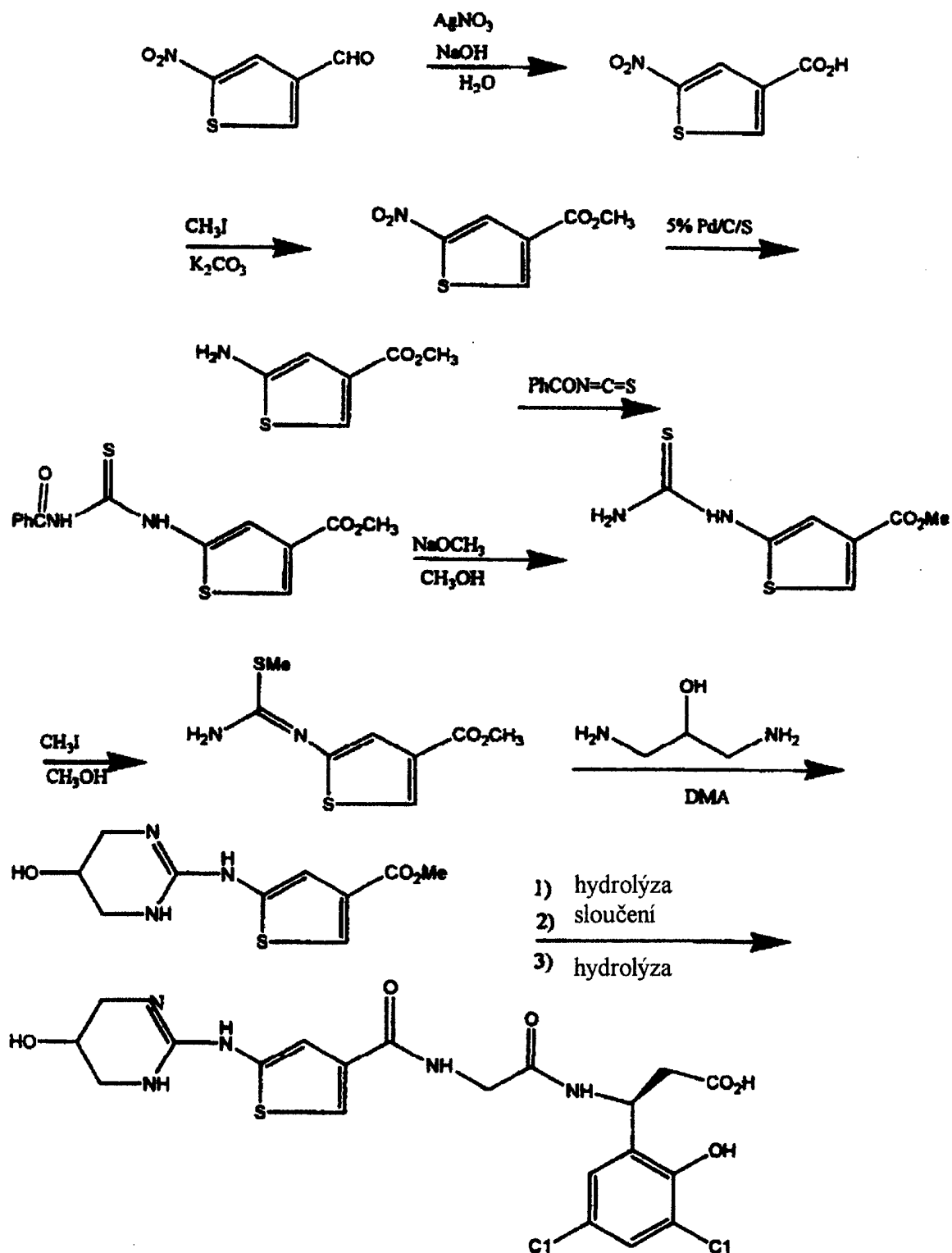
Esterová skupina z produktu ve 2. kroku se hydrolyzovala za použití stejných podmínek popsanych v 5. kroku příkladu 12. Produkt popsany v kroku 1 byl spojen s produktem příkladu I. 1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

Analýza vypočtená pro $C_{20}H_{20}N_6O_6Br_2 \cdot 1,75 TFA \cdot 0,25 H_2O$:

C, 35,10; H, 2,79; N, 10,45

Skutečné hodnoty: C, 34,85; H, 2,59; N, 10,62.

Příklad 37



1. krok

2-Nitrothiofen-4-karboxaldehyd (5,0 g) se při laboratorní teplotě rozsuspendoval ve vodě (100 ml) a naráz se přidal roztok hydroxidu sodného (5,2 g) ve vodě (50 ml). Černě zbarvená reakční směs se míchala 1 hodinu při laboratorní teplotě a pak se přefiltrovala přes celitovou podušku. Filtrát se okyselil 1M roztokem HCl a pak se extrahoval ethylacetátem. Smíchané organické extrakty se promyly nasyceným roztokem hydroxidu sodného, vysušily (Na_2SO_4) a zakoncentrováním se získala světle žlutá pevná látka (5,0 g), která se použila bez dalšího přečistění. ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

2. krok

Produkt z 1. kroku (2,5 g) se míchal s uhlíčitánem draselným (2,0 g) a methyljodidem (2,2 g) v DMF (30 ml) 16 hodin za laboratorní teploty. Reakční směs se rozdělila mezi ethylacetát a vodu a vrstvy se oddělily. Vodná vrstva se extrahovala dalším množstvím ethylacetátu a pak se smíchané organické extrakty promyly vodou, roztokem nasyceného chloridu sodného, vysušily (Na_2SO_4) a zakoncentrovaly. Tmavě zbarvený zbytek se přečistil na koloně naplněné silikagelem za eluce směsí 15% ethylacetát - 85% hexan a získala se žlutá pevná látka (950 mg). ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

3. krok

Produkt získaný v 2. kroku (2,0 g) se rozpustil v methanolu (50 ml) a reagoval s katalytickým množstvím 5% Pd/C při tlaku 344,7 kPa ve vodíkové atmosféře 32 hodin při 60 °C. Reakční směs se zchladila, přefiltrovala a filtrát se zakoncentroval. Zbytek se přečistil na koloně naplněné silikagelem za eluce směsí 25% ethylacetát - 75% hexan a získala se žlutá pevná látka (920 mg). ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

4. krok

Roztok produktu z 3. kroku (900 mg) se rozpustil v ethylacetátu (20 ml) a smíchal se s benzoylizothiokyanátem (947 mg) přidaným naráz při laboratorní teplotě. Re-

akční směs se míchala 30 minut, precipitát se přefiltroval, promyl ethylacetátem a vysušením na vzduchu se získala světle žlutá pevná látka (1,51 g). ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

5. krok

Produkt získaný ve 4. kroku příkladu 35 se rozpustil v methanolu (70 ml) a při laboratorní teplotě zreagoval s methoxidem sodným (1,3 g) přidaným po částech. Reakční směs se míchala 30 minut a pak se zastavila ledovou kyselinou octovou (1,4 g). Reakční směs se zakoncentrovala a zbytek se rozdělil mezi ethylacetát a vodu. Vodná vrstva se extrahovala dalším množstvím ethylacetátu a pak se smíchané organické extrakty promyly roztokem nasyceného chloridu sodného, vysušily (Na_2SO_4) a zakoncentrováním se získal světle žlutý prášek (900 mg).

^1H -NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

6. krok

Produkt z 5. kroku (900 mg) se rozpustil v methanolu (20 ml) a reagoval s methyljodidem (1,4 g). Reakce se 2 hodiny refluxovala, pak se zchladila a zakoncentrovala. Zbytek se smíchal s etherem, přefiltroval a vysušením na vzduchu se získala bílá pevná látka (1,27 g). ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

7. krok

Produkt z 6. kroku (1,2 g) se zahříval 8 hodin při 95°C až 100°C s 1,3--diamin-2-hydroxypropanem (469 mg) a DMA (20 ml). Reakce se zchladila a rozpouštědlo se odstranilo za vysokého vakua. Zbytek se přečistil pomocí HPLC s reverzní fází za eluce v gradientu voda (0,5%TFA) - acetonitril a získal se požadovaný produkt (255 mg). ^1H NMR byla v souladu s předpokládanou strukturou.

8. krok

Požadovaná sloučenina se připravila za použití látky vyrobené v 7. kroku za podmínek popsanych v 5. kroku, příkladu 21. ^1H NMR byla v souladu s předpokládanou strukturou.

9. krok

Požadovaná sloučenina se připravila stejným postupem jak je uvedeno ve 4.kroku příkladu 12 sloučením produktu 8. kroku s látkou z příkladu G. ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

10. krok

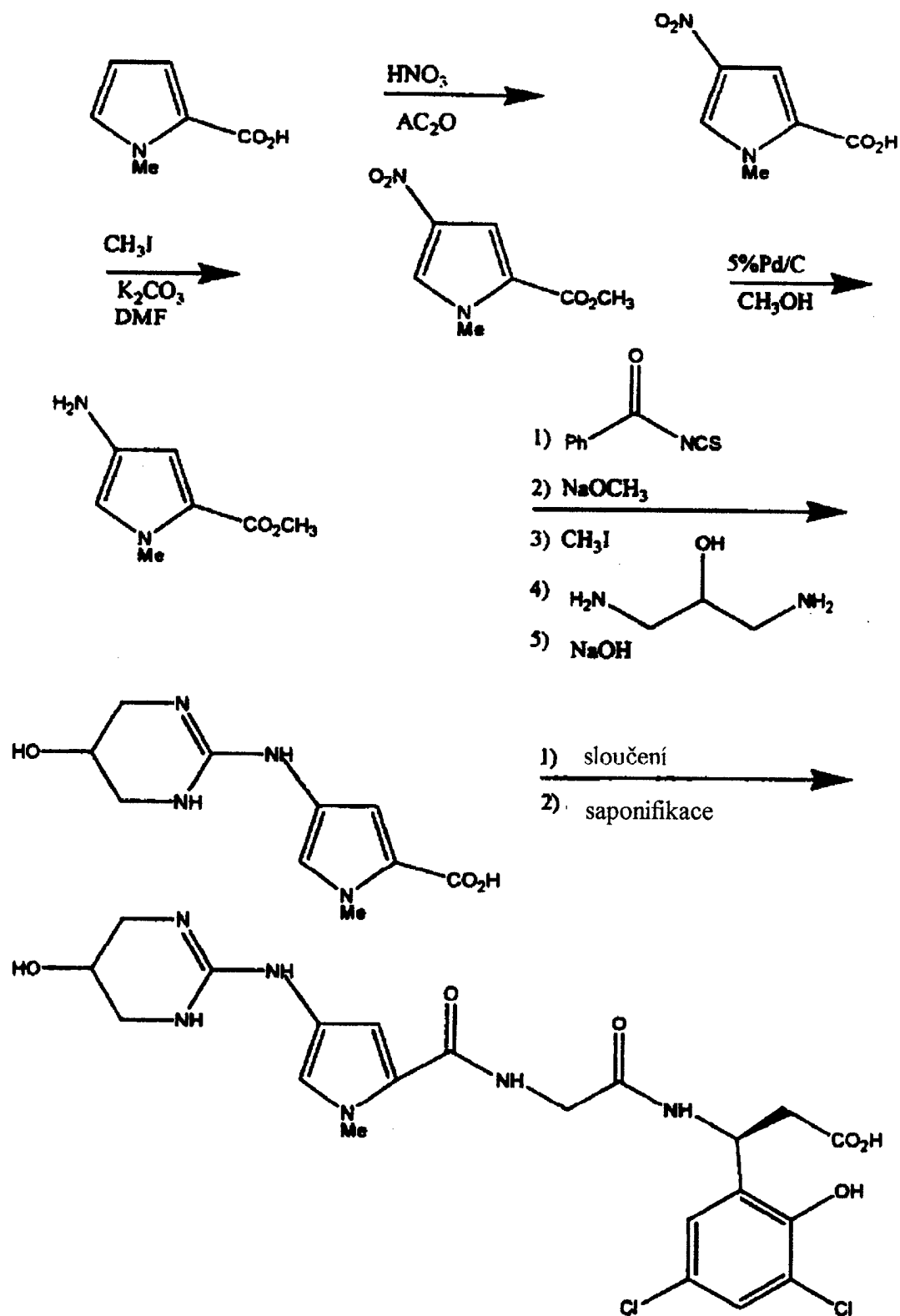
Esterová skupina produktu 9. kroku se hydrolizovala podle postupu popsaného v 5. kroku příkladu 12. ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

Analýza vypočtená pro $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_6\text{C}_{12}\text{S}$. 1,75 TFA.

C, 38,43; H, 3,19; N, 9,54; S, 4,37.

Skutečné hodnoty: C, 38,43; H, 3,39; N, 9,73; S, 4,27.

Příklad 38



1. krok

Anhydrid kyseliny octové (20 ml) se při laboratorní teplotě smíchal s 70% kyselinou dusičnou (4ml). Tento roztok se pak po kapkách přidal k míchané směsi N-methyl pyrol-2-karboxylové kyselině (5,0 g) v acetanhydridu (30 ml) při -30 °C. Reakce se míchala a pak se zahřívala 30 minut na laboratorní teplotu. Reakce se pak opět zchladila na -25 °C, pak se přefiltrovala přes studený filtr, promyla studeným hexanem a vysušením na vzduchu se získal žlutý prášek (1,5 g). ^1H NMR bylo v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

Požadovaná sloučenina se připravila podle postupu popsaného v 2. kroku, příkladu 37 použitím produktu připraveného v 1. kroku. Surový produkt se přečistil chromatograficky na koloně naplněné silikagelem za eluce směsí 40% ethylacetát - hexan. ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

3. krok

Produkt z 2. kroku (1,0 g) se rozpustil v methanolu (25 ml) a reagoval 3 hodiny s katalytickým množstvím 5% Pd/C při tlaku 34,5 kPa v atmosféře vodíku. Reakční směs se přefiltrovala a zakoncentrováním se získala tmavě červená kapalina (1,0 g), která se použila bez dalšího přečistění. ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

4. krok

Požadovaná sloučenina se připravila použitím produktu popsaného v 3. kroku podle postupu 4. až 8. kroku popsaného v příkladu 37. ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

5. krok

Roztok produktu z 4. kroku (425 mg), 2-chlor-4,6-dimethoxytriazinu (201 mg) a N-methylmorfolinu (263 mg) v DMA (10 ml) se míchal v ledové lázni v dusíkové atmosféře. Reakce se míchala a 3 hodiny zahřívala na laboratorní teplotu. Připravil se roztok produktu z příkladu G (386 mg) a N-methylmorfolin (105 mg) v DMA (5 ml) se naráz přidal při laboratorní teplotě k reakční směsi. Reakce se míchala 15 hodin, zastavila se TFA (1,5 ml) a pak se zakoncentrovala za vysokého vakua. Zbytek se přečistil pomocí

HPLC s reverzní fází za eluce v gradientu voda (0,5% TFA) - acetonitril a získala se bílá pevná látka (706 mg). $^1\text{H-NMR}$ bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

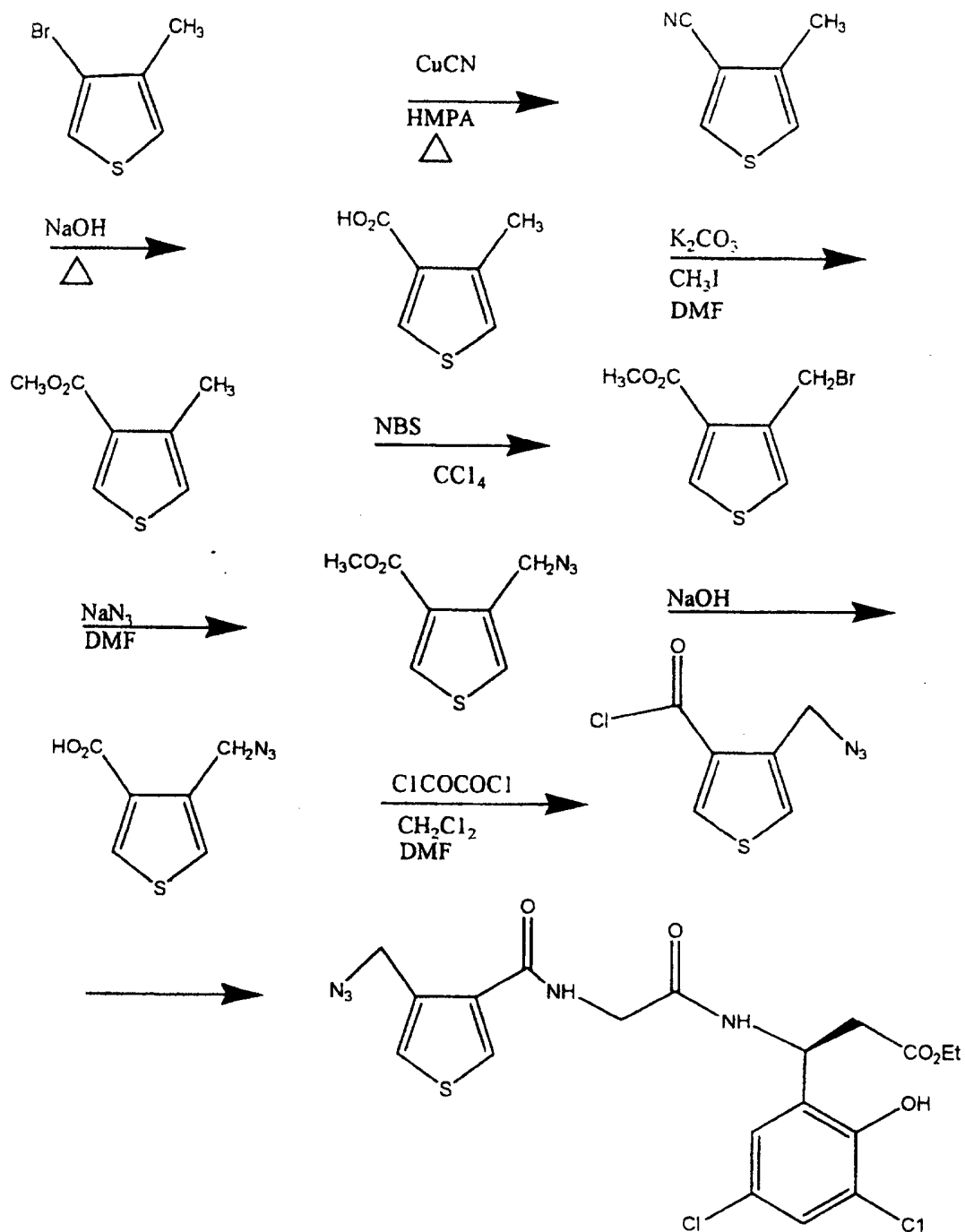
6. krok

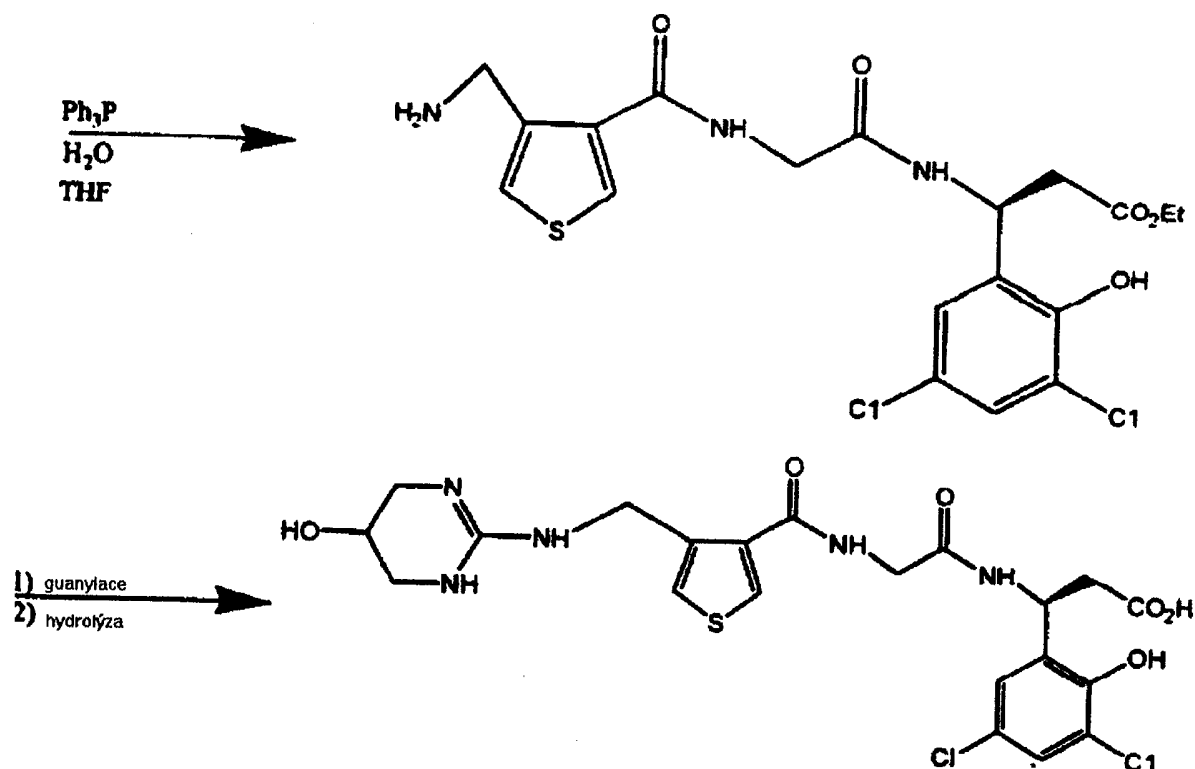
Esterová skupina produktu z 5. kroku se hydrolyzovala podle postupu popsaného v 5. kroku příkladu 12. $^1\text{H NMR}$ bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

Analýza vypočtená pro $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_6\text{C1}_2 \cdot 1,5 \text{ TFA} \cdot 0,5 \text{ H}_2\text{O}$

C, 40,75; H, 3,78; N, 11,88; C1, 10,02.

Skutečné hodnoty: C, 40,40; H, 3,68; N, 12,10; C1, 10,20.





1. krok

Směs 3-brom-4-methylthiofenu, (10 g) kyanidu měďného (11,3 g) a HMPA (15 ml) se zahřívá 18 hodin při 130 °C až 140 °C. Směs se zchladila, nalila do míchaného roztoku kyanidu sodného (18,8 g) ve vodě (28 ml) a míchala 1 hodinu. Hustá směs hnědé barvy se rozpustila v dalším množství vody a extrahovala etherem. Smíchané etherové extrakty se promyly vodou, nasyceným roztokem chloridu sodného, vysušily (Na_2SO_4) a zakoncentrovaly. Zbytek se přečistil na koloně silikagelu za eluce směsí 90% hexan - 10% ethylacetát a získala se světle žlutá kapalina (5,2 g).

^1H -NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

2. krok

Směs nitrilu připravená v 1. kroku (1,5 g) s roztokem 2M hydroxidu sodného (150 ml) se refluxovala 1 hodinu. Reakce se zchladila a okyselila 2M kyselinou chlorovodíkovou na pH asi 2 a extrahovala etherem. Smíchané etherové extrakty se vysušily

(Na_2SO_4) a zakoncentrováním se získala bílá pevná látka (16,4 g), která se použila bez dalšího přečistění.

$^1\text{H-NMR}$ bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

3. krok

Produkt z 2. kroku (16,4 g) se esterifikoval podle popisu v 2. kroku příkladu 37 a po přečistění na koloně naplněné silikagelem za eluce směsí 90% hexan - 10% ethylacetát se získal požadovaný prosukt (13,6 g).

$^1\text{H-NMR}$ bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

4. krok

Směs N-bromsukcinimidu (6,3 g) a dibenzoylperoxidu (100 mg) v chloridu uhlíčitým (25 ml) se během 90 minut přidala k refluxujícímu roztoku produktu z 3. kroku (5,0 g) a dibenzoylperoxidu (100 mg) v CCl_4 (25 ml). Po 2 hodinách refluxu se reakční směs zchladila, přefiltrovala a zakoncentrovala a přečistěním zbytku na koloně naplněné silikagelem za eluce směsí 90% hexan - 10% ethylacetát se získala požadovaná sloučenina (4,3 g). $^1\text{H-NMR}$ bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

5. krok

Směs produktu popsaného v 4. kroku (4,2 g), azidu sodného (2,9 g) a DMF (50 ml) se zahřívala 5 hodin při $55\text{ }^\circ\text{C}$ v dusíkové atmosféře. Reakční směs se zchladila a rozdělila mezi vodu a ethylacetát. Vrstvy se oddělily a vodná část se extrahovala dalším množstvím ethylacetátu. Smíchané organické extrakty se promyly nasyceným roztokem chloridu sodného, vysušily (Na_2SO_4) a zakoncentrováním se získal olej zlaté barvy (3,5 g), který se použil bez dalšího přečistění. $^1\text{H-NMR}$ bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

6. krok

Roztok produktu popsaného v 5. kroku (1,0 g), 1M roztok hydroxidu sodného (15 ml) a methanolu (15 ml) se míchal 16 hodin při laboratorní teplotě. Reakce se pak smíchala s ledovou kyselinou octovou (2 ml) a zakoncentrovala. Zbytek se rozdělil mezi vodu a ethylacetát. Vrstvy se oddělily a vodná složka se extrahovala dalším množstvím ethylacetátu. Smíchané organické extrakty se promyly vodou, nasyceným roztokem

chloridu sodného, vysušily (Na_2SO_4) a zakoncentrovaly. Vysušením zbytku 2 hodiny při 61°C za vysokého vakua se získala bílá pevná látka (860 mg).

^1H -NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

7. krok

Roztok produktu popsaného v 6. kroku (850 mg) v dichlormethanu (10 ml) se zchladil v ledové lázni a smíchal se s roztokem 2M oxalyl chloridu (5 ml) v methylen chloridu přidaném naráz a následně 2 kapkami DMF. Reakce se míchala 2 hodiny a pak se zahřála na laboratorní teplotu. Roztok se zakoncentroval a vysušením za vysokého vakua při laboratorní teplotě po dobu 16 hodin se získala žlutohnědá pevná látka (785 mg). ^1H NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

8. krok

Do nádoby vysušené plamenem se v dusíkové atmosféře dal roztok diizopropylethylaminu (1,3 ml), produkt z příkladu G (1,4 g) a DMA (10 ml). Roztok se zchladil v ledové lázni a po kapkách se přidal roztok kyseliny chlorovodíkové ze 7. kroku (770 mg) v DMA (5 ml). Reakce se míchala 30 minut až do ukončení přídavku, a pak se rozdělila mezi ethylacetát a vodu. Vrstvy se oddělily a vodná část se extrahovala dalším množstvím ethylacetátu. Přechistěním smíchaných organických extraktů na koloně naplněné silikagelem za eluce směsí 50% ethylacetát - 50% hexan se získala bílá pevná látka (1,0 g). ^1H -NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

9. krok

Roztok produktu z 8. kroku (806 mg) v ethanolu (20 ml) se zahříval s katalytickým množstvím 5% Pt/C při tlaku 13,8 kPa, vodíkové atmosféře a laboratorní teplotě po dobu 21 hodin. Reakce se přefiltrovala a zakoncentrovala a zbytek se přechistil pomocí HPLC s reverzní fází a eluce v gradientu voda (0,5% TFA) - acetonitril a získala se bílá pevná látka (480 mg). ^1H -NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

10. krok

Produkt popsaný v 9. kroku (550 mg) se guanyloval a přechistil za podmínek popsaných v 4. kroku příkladu 21 a získala se bílá pevná látka (206 mg). ^1H -NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

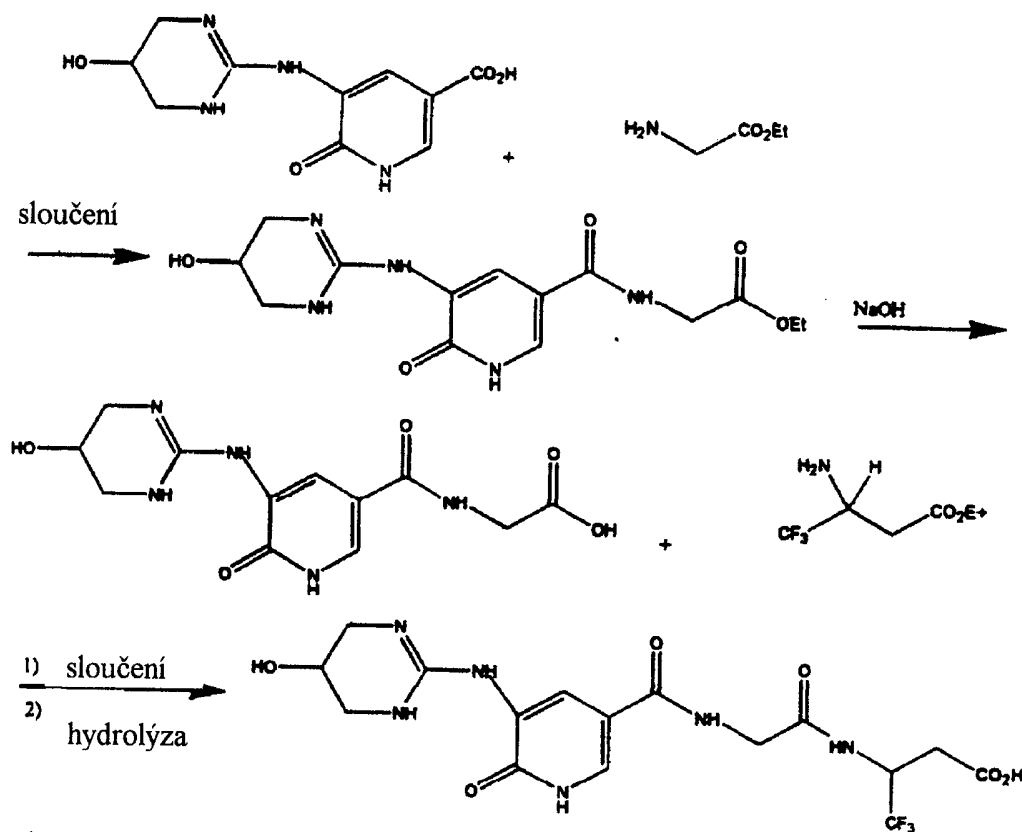
11. krok

Esterová skupina produktu v 10. kroku se hydrolyzovala podle stejného postupu uvedeného v 5. kroku příkladu 12. $^1\text{H-NMR}$ bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

Analýza vypočtená pro $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_5\text{C}_1\text{S} \cdot 1,5 \text{ TFA} \cdot 0,5 \text{ H}_2\text{O}$

C, 39,79; H, 3,55; N, 9,67; C1, 9,79; S, 4,43

Skutečné hodnoty: C, 39,91; H, 3,58; N, 9,94; C1, 10,06; S, 4,52

Příklad 40

1. krok

Produkt připravený ve 3. kroku příkladu 33 (1,0 g) se sloučil s glycin ethylester hydrochloridem podle postupu popsaného v 5. kroku příkladu 38 a po podobném způsobu přečištění se získala žlutá pevná látka (1,1 g).

$^1\text{H-NMR}$ bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

2. krok

Produkt popsaný v 1 kroku (1,0 g) se hydrolyzoval podle postupu popsaného v 5. kroku příkladu 21 a získala se bílá pevná látka (910 mg).

¹H-NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

3. krok

Produkt z 2. kroku se spojil s ethylester hydrochloridem 3-amino-4,4,4-trifluor-máselné kyseliny podle postupu popsaného v 5. kroku příkladu 38. ¹H-NMR bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

4. krok

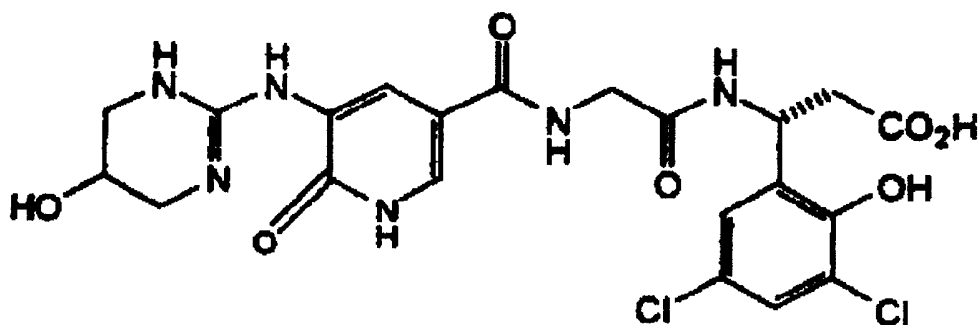
Esterová skupina produktu v 3. kroku se hydrolyzovala podle stejného postupu uvedeného v 5. kroku příkladu 12. $^1\text{H-NMR}$ bylo v souladu s předpokládanou strukturou.

Analýza vypočtená pro $C_{17}H_{20}N_5O_6F_3 \cdot 1,5 \text{ TFA}$

C, 38,01; H, 3,67; N, 11,08

Skutečné hodnoty: C, 37,88; H, 3,64; N, 11,02

Příklad 41



1. krok

Produkt z 3. kroku příkladu 33 (527 mg, 1,3 mmol) a CDMT (244 mg, 1,4 mmol) se rozpustil v DMAC (8 ml) v argonové atmosféře. Roztok se chladil 3 hodiny na 0 °C a pak se po kapách přidal NMM (0,15 ml, 1,3 mm). Roztok se míchal 3 hodiny při 0 °C a pak se přidal produkt z příkladu U a NMM (0,15 ml) v DMAC (10 ml). Reakce se zahřála na laboratorní teplotu a míchala přes noc při laboratorní teplotě. Reakce se za-

stavila TFA (2 ml) a zakoncentrovala za vakua. Surový produkt žluté pevné látky se přečistil pomocí RT-HPLC s elucí v gradientu 90:10 H₂O/TFA:CH₃CN (λ = 254 nm). Produkt se vyizoloval ve formě bílé pevné látky (725 mg, 75% výtěžek).

Analýza vypočtená pro C₂₃H₂₆N₆O₇Cl₂ · 1,5 TFA

C, 42,12; H, 3,74; N, 11,35

Skutečné hodnoty: C, 42,26; H, 3,87; N, 11,45

H.R.M.S. M+1 vypočteno pro C₂₃H₂₇N₆O₇Cl₂ 569,1318. Skutečná hodnota 569,1323.

2. krok

Produkt z 1. kroku (725 mg, 0,98 mmol) se rozpustil v THF (5 ml)/1CH₃OH) a přidal se 1M NaOH (6,5 ml). Reakce se míchala při laboratorní teplotě přes noc a pak se přidal 1M HCl (6,5 ml). Po zakoncentrování ve vakuu se žlutá pená látka v surovém stavu přečistila pomocí RT-HPLC za eluce v gradientu 95:5 H₂O/TFA:CH₃CN (λ =254 nm). Produkt se vyizoloval ve formě bílé pevné látky (589 mg, 79% výtěžek).

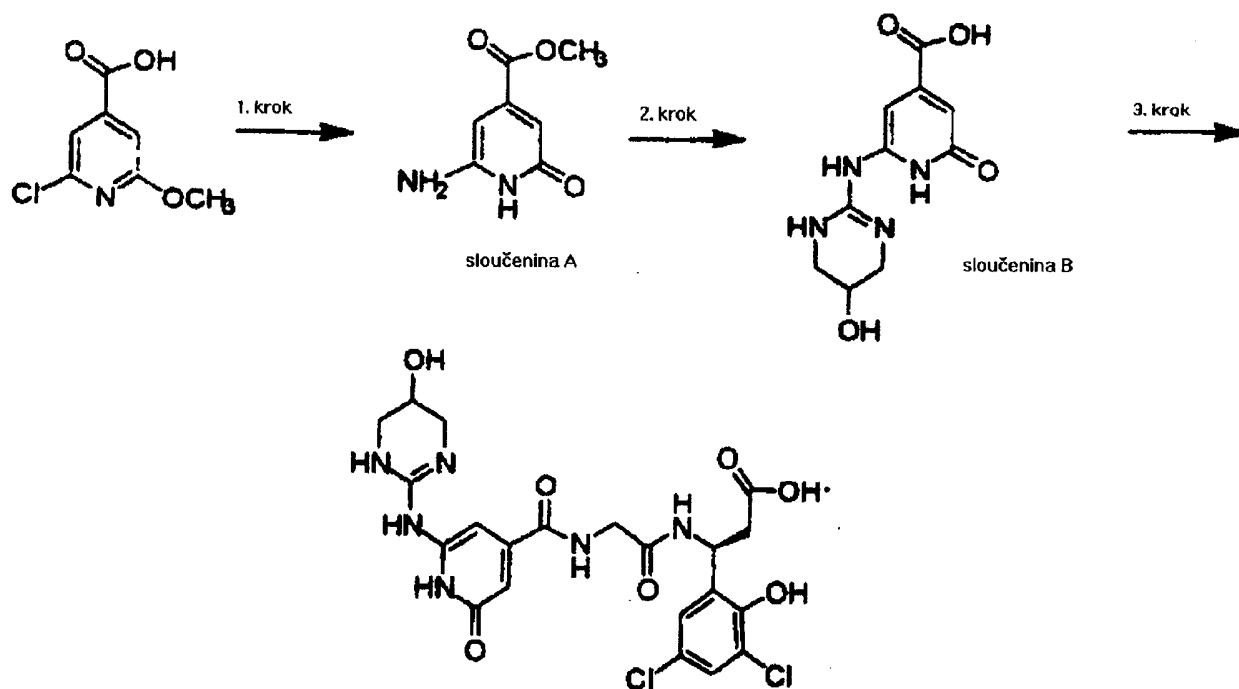
Analýza vypočtená pro C₂₁H₂₂N₆O₇Cl₂ · 1,9 TFA

C, 39,30; H, 3,18; N, 11,09

Skutečné hodnoty: C, 39,22; H, 3,16; N, 11,39

H.R.M.S. M+1 vypočteno pro C₂₁H₂₃N₆O₇Cl₂ 541,1005. Skutečná hodnota 541,1000.

Příklad 42



1. krok

2-Methoxy-6-chlorpyridinkarboxylová kyselina (10 g; 0,053 mol) se rozpustila v přebytku koncentrovaného vodného hydroxidu amonného ve vysokotlakém reaktoru a zahříváním 24 hodin při 175 °C se dosáhlo tlaku 3447,5 kPa. Roztok se odpařil dosucha za sníženého tlaku a přeměnil na kyselinu reakcí s 2M HCl při 25 °C po dobu 2 dnů a pak se odpařil dosucha za vysokého vakua při teplotě 60 °C. Po 12 hodinách se zbývající voda azeotropicky odstranila s absolutním ethanolem, zbytek se smíchal s methanolem a třikrát odpařil za sníženého tlaku. Výsledný zbytek se rozpustil v methanolu (250 ml), k roztoku se přidal 4M HCl v dioxanu (25 ml) a pak se refluxoval 2,5 dne. Rozpouštědlo se odstranilo odpařením za sníženého tlaku a zbytek v surovém stavu se přečistil HPLC s reverzní fází (gradient, 95/5 0,1% TFA v H₂O/CH₃CN-60/40 0,1% TFA v H₂O/CH₃CN). Požadovaný produkt se rozpustil v methanolu, smíchal s pevným uhlíčitánem sodným, přefiltroval a rozpouštědlo se odpařilo. Výsledná pevná látka se rozsuspendovala ve směsi ethylacetát/hexan 50/50 a oddělením pevné látky filtrací se získala požadovaná pevná látka hnědého zbarvení (1,7 g, 20% výtěžek).

2. krok

Sloučenina z 1. kroku (300 mg; 1,8 mmol) se rozpustila v DMF (7,1 ml), přidal se produkt z 1. kroku příkladu 9 (927 mg; 2,1 mmol), triethylamin (0,44 ml, 325 mg; 3,2 mmol) a chlorid rtuťnatý (326 mg; 1,2 mmol). Reakční směs se míchala 3,5 hodiny při 25 °C a pak se zahřívala 16 hodin při 60 °C. K reakci se po zchlazení na laboratorní teplotu přidal ethylacetát (7 ml) a heterogenní roztok se přefiltroval přes celit. Celit se důkladně promyl směsí ethylacetát/ethanol 97/3. Rozpouštědla se odstranila za sníženého tlaku a výsledný červeně zbarvený olej se v surovém stavu rozpustil v dichlormethanu (30 ml), smíchal s kyselinou trifluoroctovou (2,77 ml) a refluxoval 1 hodinu. Reakce se zchladila a odstraněním rozpouštědla za sníženého tlaku se získal olej hnědé barvy. Přečistěním vzorku HPLC s reverzní fází (C18, gradient 90/10 0,1%TFA/H₂O) se získala nepřečistěná sloučenina, která se rozpustila v methanolu (2 ml), smíchala se s 1M NaOH (0,15 ml) a vysušením dosucha se získal tmavě hnědý olej. Tento olej se přečistil HPLC s reverzní fází (C18, gradient 99/1 0,1% TFA/H₂O/CH₃CN) a získala se žlutohnědá pevná látka (36 mg).

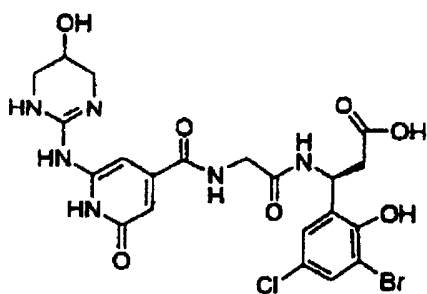
3. krok

Sloučenina z předchozího kroku (74 mg; 0,18 mmol) se sušila přes noc za vakua a rozpustila v DMF (1ml) (uchováno nad molekulovým sítem) a zchladila se na 0 °C. Pak se přidal N-methylpiperidin (27 ml; 22 mg; 0,22 mmol), následně izobutylchlorformiát (47 ml; 49 mg; 0,36 mmol) a směs se míchala 5 minut. Přidal se roztok produktu z příkladu G (0,2 ml) v DMF a zbytkový β-aminoester se promyl dalším množstvím DMF (0,2 ml). Přidal se další N-methylpiperidin (22 ml; 18 mg; 0,18 mmol). Reakční směs se pomalu zahřívala na laboratorní teplotu. Po 12 hodinovém míchání při 25 °C se rozpouštědlo odstranilo za vysokého vakua a získal se olej hnědočerveného zbarvení, který se přečistil HPLC s reverzní fází (C18, gradient 80/20 0,1%TFA/H₂O/CH₃CN), získal se sloučený produkt (22 mg) a tento sloučený produkt s izobutylformylovou skupinou se přičlenil ke kyslíkovému atomu pyridinu (47 mg). Tyto produkty se smíchaly a rozpustily v methanolu (2 ml), ke kterému se přidal 1M vodný hydroxid sodný (240 ml). Reakce se míchala přes noc při 25 °C a pak se přidala kyselina trifluoroctová (84,7 ml). Rozpouštědlo se odstranilo za sníženého tlaku a přečistěním HPLC s reverzní fází (C18, gradient 95/5 0,1%TFA/ H₂O/CH₃CN), se získal požadovaný produkt (37 mg).

Analýza vypočtená pro C₂₁H₂₂ N₆O₇Cl₂ . 2,1 TFA . 0,2 H₂O:

C, 38,58; H, 3,15; N, 10,71.

Skutečné hodnoty: C, 38,12; H, 3,36; N, 10,71.

Příklad 43

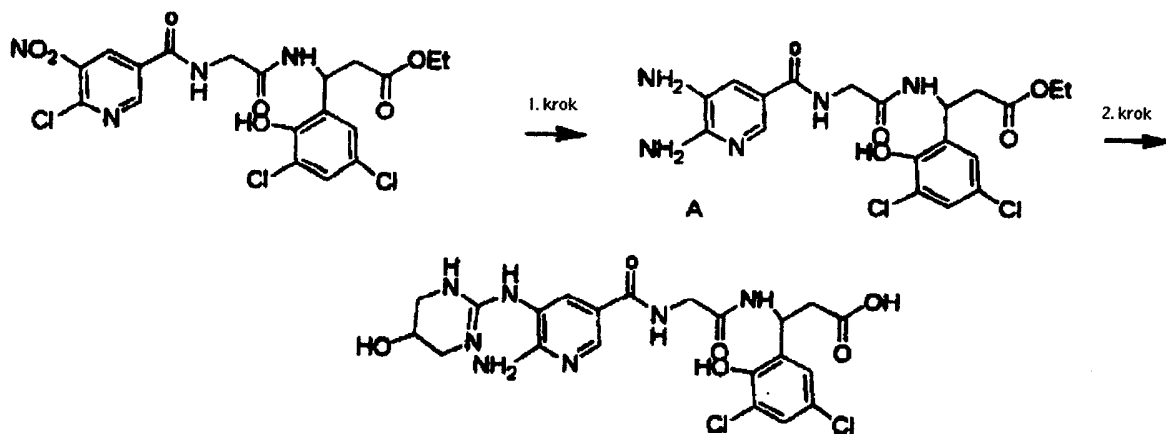
Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu popsaného v 3. kroku, příkladu 42 reakcí produktu z 2. kroku, příkladu 42 s produktem z příkladu R.

Mikroanalýza vypočtená pro C₂₁H₂₂ N₆O₇ClBr . 1,8 TFA:

C, 37,35; H, 3,03; N, 10,62.

Skutečné hodnoty: C, 37,31; H, 3,23; N, 10,65.

Příklad 44



1. krok

Produkt z 3. kroku, příkladu 17 (3,0 g; 5,77 mmol) se rozpustil v izopropanolu (25 ml) a k tomuto roztoku se přidal koncentrovaný hydroxid amonný (45 ml). Po 3 hodinovém míchání při 25 °C se roztok odpařil za sníženého tlaku dosucha. Látka v surovém stavu se hydrogenovala v Paarově nádobě v ethanolu (3A) (50 ml) v přítomnosti 5% platiny na uhlíku 2,5 hodiny při 25 °C a tlaku 34,5 kPa. Vzorek se přefiltroval a filtrát se zakonzcentroval dosucha za sníženého tlaku. Sloučenina se přečistila chromatografií s reverzní fází (C18, gradient 80/20, CH₃CN/H₂O) a získal se požadovaný produkt (1,5 g, 39% výtěžek).

2. krok

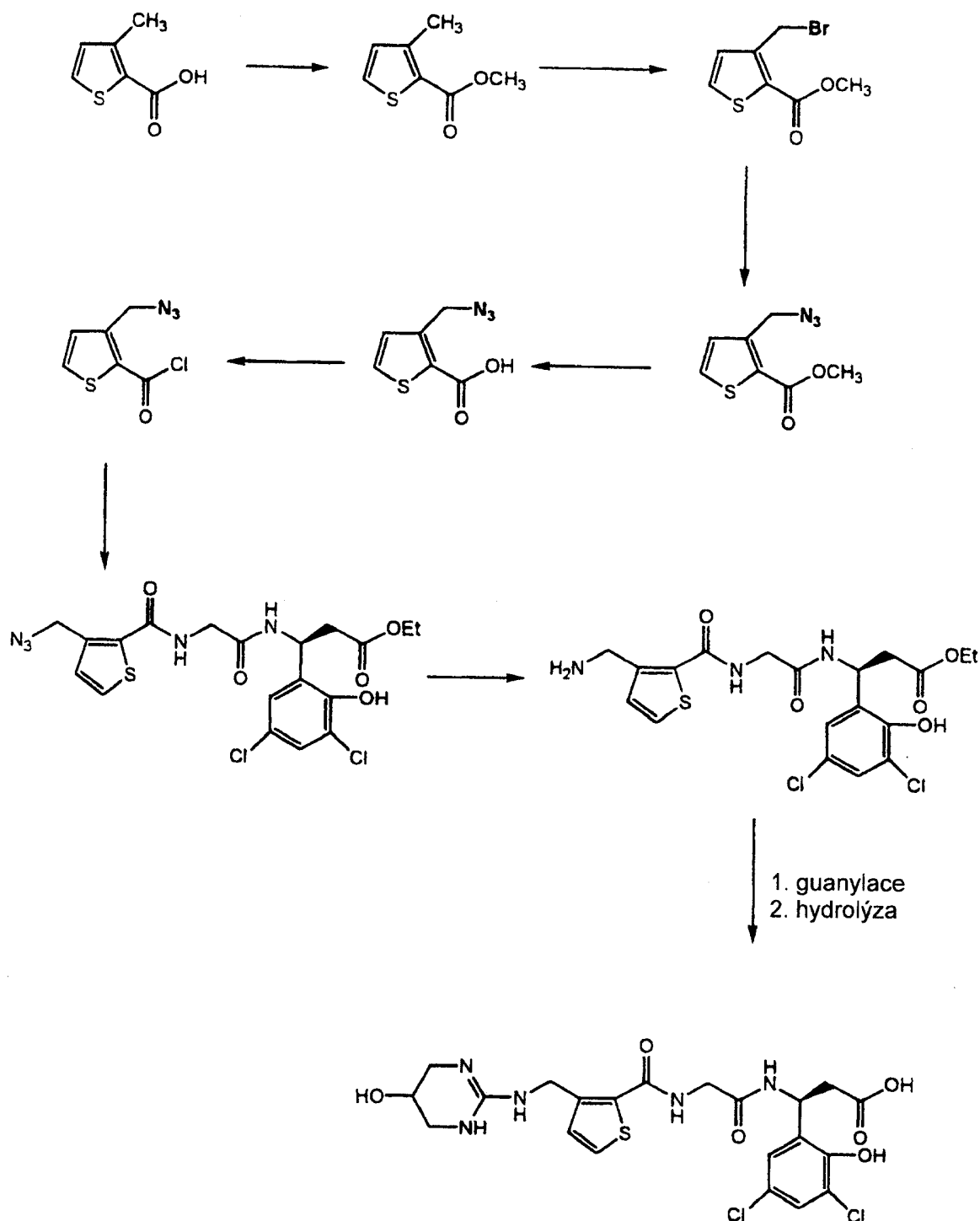
Produkt z 1. kroku (200 mg) se rozpustil v methanolu (2 ml) a přidal se hydrogenuhličitan sodný (133 mg). Roztok se míchal 30 minut při 25 °C, přefiltroval se a výsledný roztok se odpařil dosucha. Výsledný látka (205 mg; 0,43 mmol) se rozpustila v DMF (1,72 ml), pak se přidal produkt z 1. kroku, příkladu 9 (282 mg; 0,65), následně triethylamin (99 mg; 0,97 mmol, 0,14 ml) a pak chlorid rtuťnatý (177 mg; 0,65 mmol). Roztok se zahříval 30 minut při 60 °C a pak 12 hodin při 90 °C. Reakční směs se zchladila, pak se rozpustila v ethylacetátu (1,7 ml) a přefiltrovala přes celit. Výsledný filtrát se odpařil dosucha. Surová látka se přečistila mžikovou chromatografií pro od-

stranění nezreagované výchozí látky. Tato látka zreagovala se směsí 50/50 TFA/CH₂Cl₂ a získal se nepřečistěný požadovaný rprodukt. Tato látka se rozpustila v methanolu (2 ml) a 1M hydroxidu sodném (2 ml). Po 12 hodinovém míchání při 25 °C se roztok zneutralizoval TFA (77 ml), a pak se odpařil dosucha za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistil chromatografií s reverzní fází (C18, 95/5 H₂O/CH₃CN) a získal se požadovaný produkt (6,8 mg).

Mikroanalýza vypočtená pro C₂₁H₂₃N₇O₆Cl₂ · 3,3TFA:

C, 36,17; H, 2,89; N, 10,70.

Skutečné hodnoty: C, 36,57; H, 3,21; N, 10,37.

Příklad 45

Krok 1

Ke směsi 3-methyl-2-thiufenkarboxylové kyseliny (1,0 g, 7,0 mmol), N,N-dimethylformamidu (4,0 ml) a uhličitanu draselného (1,93 g, 14 mmol) se přidal jodmethan (1,49 g, 10,5 mmol). Reakce se míchala 80 hodin při laboratorní teplotě, zředila se ethylacetátem (150 ml) a promyla H₂O (100 ml) a solankou (100 ml). Organická vrst-

va se vysušila (Mg_2SO_4) a zakoncentrováním se získal čistý produkt ve formě nahnědlého oleje (0,87 g, 81% výtěžek). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

K roztoku produktu z 1. kroku (5,0 g, 32,0 mmol) dibenzoyl peroxidu (0,08 g) a tetrachlormethanu (20 ml) se přidala směs N-bromsukcinimidu (6,3 g, 35,3 mmol), dibenzoyl peroxidu (0,08 g) a tetrachlormethanu (20 ml) a refluxovala se 30 minut. Výsledná reakční směs se zahřívala 18 hodin při refluxu. Pevná látka se odfiltrovala a promyla tetrachlormethanem (2×10 ml). Zakoncentrováním filtrátu se získala směs oleje a pevné látky (8,1 g, 80% výtěžek). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

3. krok

Směs produktu z 2. kroku (8,1 g, 34,7 mmol), azidu sodného (5,6 g, 87 mmol) a N,N-dimethylformamidu (25 ml) se zahřívala 2,5 hodiny při 58°C . Reakce se zředila ethylacetátem (800 ml) a promyla H_2O (500 ml). Vodná vrstva se extrahovala ethylacetátem (100 ml). Získaná organická vrstva se vysušila (Mg_2SO_4) a zakoncentrováním se získal nahnědlý olej (6,0 g, 85% výtěžek). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

4. krok

Roztok produktu z 3. kroku (6,0 g, 25,9 mmol), NaOH (1M, 50ml) a MeOH (50 ml) se míchal přes noc. Reakce se smíchala s kyselinou octovou (2,5 ml). Produkt se extrahoval ethylacetátem (300 ml). Organická vrstva se vysušila nad Na_2SO_4 a zakoncentrováním se získal žlutý olej. Za vakua se získala žlutá pevná látka (2,0 g, 42% výtěžek). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

5. krok

Směs produktu ze 4. kroku (0,5 g, 2,7 mmol) s oxalyl chloridem (2M v dichlormethanu, 2,7 ml, 5,4 mmol) a dichlormethanu (20 ml) se míchala 2,5 hodiny při laboratorní teplotě. Odstraněním rozpouštědla z reakce se získal produkt ve formě hnědého oleje (0,51 g, 85% výtěžek). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

6. krok

Ke směsi produktu z 5. kroku (0,46 g, 2,43 mmol) a THF (10 ml) se při 0 °C přidal roztok produktu z příkladu G (0,91 g, 2,43 mmol), diizopropylethylamin (0,63 g, 4,86 mmol) a N,N-dimethylacetamid (20 ml). Reakční směs se míchala 10 minut při 0 °C a pak se zahřála na laboratorní teplotu. Po 16 hodinách se rozpouštědlo z reakce odstranilo za vakua. Produkt se extrahoval ethylacetátem (300 ml). Organický roztok se promyl nasyceným roztokem NaHCO₃ (100 ml), H₂O (100 ml) vysušil nad Na₂SO₄ a zakoncentrováním se získal surový produkt. Surový produkt se přečistil chromatografií na koloně (na silikagelu, CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH, 98/2/0,2) a získal se čistý produkt ve formě gumovité pevné látky (0,7 g, 58% výtěžek). ¹H-NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

7. krok

Směs produktu z 6. kroku (0,78 g, 1,56 mmol), 5% Pt/C a EtOH se míchala 20 hodin při laboratorní teplotě a talku 34,5 kPa. Katalyzátor se odfiltroval. Filtrát se smíchal s kyselinou trifluoroctovou (0,6 ml) a zakoncentrováním se získal surový produkt. Přečistěním surového produktu pomocí HPLC se získala bílá pevná látka (0,4 g, 54% výtěžek).

¹H-NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

8. krok

Ke směsi produktu ze 7. kroku (0,55 g, 1,25 mmol), produktu z 1. kroku, příkladu 9 (0,81 g, 1,87 mmol), triethylaminu (0,38 g, 3,75 mmol) a N,N--dimethylaformamidu (15 ml) se za laboratorní teploty přidal chlorid rtuťnatý (0,51 g, 1,87 mmol). Reakce se zahřívala 16 hodin při 95 °C až 100 °C. Zchlazená reakční směs se přefiltrovala přes vrstvu celitu (2''), a promyla ethylacetátem. Odstraněním rozpouštědla z filtrátu za vakua se získal olej. Olej se zředil směsí CH₂Cl₂/kyselina trifluoroctová (10 ml/10 ml) a míchala se 1 hodinu při laboratorní teplotě. Vytvořená pevná látka se odstranila filtrací. Filtrát se zakoncentroval a 1,5 hodiny reagoval se směsí CH₂Cl₂/kyselina trifluoroctová (15 ml/15 ml). Odstraněním rozpouštědla za sníženého tlaku se získal hnědý olej. Přečistěním tohoto oleje pomocí HPLC se získala směs požadovaného produktu a jeho ethylester. Požadovaná sloučenina rekrystalizovala z acetonitrilu ve formě bílé pevné

1. krok

K roztoku produktu z 1. kroku příkladu 33 (3,5 g, 20,8 mmol) a N,N-dimethylformamidu (45 ml) se za laboratorní teploty přidal benzoylizothiokyanát (3,34 g, 21,3 mmol). Reakce se míchala 2 hodiny a nalila se do etheru (300 ml). Výsledná směs se míchala 15 minut. Produkt se oddělil filtrací, promyl etherem (2 × 40 ml) a po vysušení na vzduchu se získala žlutá pevná látka (6,95 g, 100% výtěžek). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

K suspenzi produktu z 1. kroku (6,90 g, 20,8 mmol) a methanolu (200 ml) se po malých částech za laboratorní teploty přidal methoxid sodný (2,64 g, 48,9 mmol). Do reakce se přidala kyselina octová (2,8 ml, 48,9 mmol). Výsledná směs se míchala 15 minut. Produkt se oddělil filtrací, promyl methanolem (2 × 30 ml) a vysušením za sníženého tlaku se získala ne zcela bílá pevná látka (3,8 g, 81% výtěžek). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

3. krok

Směs produktu z 2. kroku (1,90 g, 8,4 mmol), methyljodidu (3,56 g, 25,1 mmol) a methanolu (60 ml) se zahřívala za refluxu 3,5 hodiny a zchladila na laboratorní teplotu. Odstraněním rozpouštědla z reakčního roztoku za sníženého tlaku se získal žlutý olej. Smícháním zbytku oleje s etherem se získal čistý produkt ve formě žluté pevné látky (3,1 g, 100% výtěžek). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

4. krok

Roztok produktu z 3. kroku (0,5 g, 1,36 mmol), 2-methoxyethylaminu (0,12 ml, 1,36 mmol) a N,N-dimethylacetamidu (5,0 ml) se zahříval 2,5 hodiny při 85 °C. Přidal se další 2-methoxyethylamin (0,12 ml, 1,36 mmol). Reakce se zahřívala 2 hodiny při 85 °C. Odstraněním N,N-dimethylacetamidu ze zchlazené reakční směsi za sníženého tlaku se získal surový produkt. Surový produkt se přečistil pomocí HPLC s reverzní fází a získal se požadovaný přečistěný produkt (0,38 g, 76% výtěžek). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

5. krok

Roztok produktu z 1. kroku (0,38 g, 1,42 mmol), roztok NaOH (1M, 15 ml) a MeOH (15 ml) se míchal 16 hodin při laboratorní teplotě a pak se přidala kyselina trifluorctová (1,2 ml). Odstraněním rozpouštědla za sníženého tlaku se získal surový produkt. Surový produkt se přečistil pomocí HPLC a získal se požadovaný produkt ve formě bílé pevné látky (0,55 g, 100% výtěžek). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

6. krok

K roztoku produktu z 5. kroku (0,54 g, 1,42 mmol) v N,N-dimethylacetamidu (16 ml) se přidal N-methylmorfolin (0,1 ml, 1,42 mmol). K reakční směsi se během 5 minut přidal při $-5\text{ }^\circ\text{C}$ izobutylchlorformiát (0,18 g, 1,35 mmol) a směs se míchala 15 minut. Do reakce se přidal produkt z příkladu G (0,396 g, 1,07 mmol), N-methylmorfolin (0,075 ml, 1,07 mmol) a N,N-dimethylacetamid (10 ml). Výsledný reakční roztok se zahřál na laboratorní teplotu a míchal 16 hodin. Odstraněním rozpouštědla z reakčního roztoku za sníženého tlaku se získal surový produkt. Surový produkt se přečistil pomocí HPLC a získal se požadovaný produkt ve formě bílé pevné látky (0,145 g, 14% výtěžek). $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

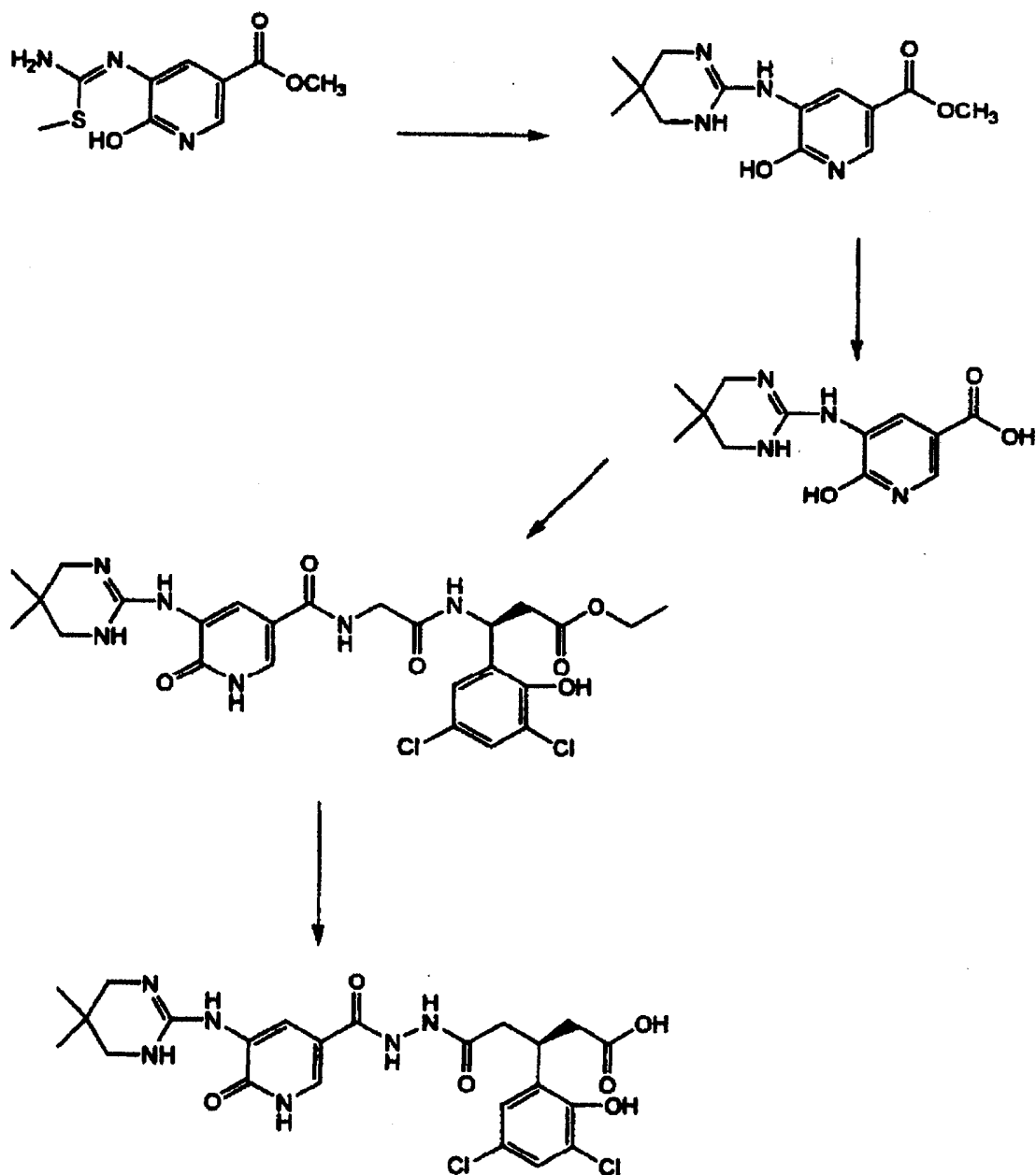
7. krok

Roztok produktu z 6. kroku (0,145 g, 0,20 mmol), NaOH (1M, 25 ml) a MeOH (25 ml) se míchal 16 hodin. Odstraněním rozpouštědla z reakční směsi za sníženého tlaku se získal surový produkt. Surový produkt se smíchal s kyselinou trifluorctovou (2 ml) a přečistěním pomocí HPLC se získal požadovaný produkt ve formě ne zcela bílé pevné látky (0,11 g, 70% výtěžek).

Analýza vypočtená pro $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_7\text{Cl}_2 \cdot 2\text{CF}_3\text{COOH}$:

C, 38,93; H, 3,40; N, 10,89;

Skutečné hodnoty: C, 39,29; H, 3,47; N, 11,15.

Příklad 47

1. krok

Směs produktu z 3. kroku příkladu 46 (1,56 g, 4,22 mmol), 2,2-dimethyl-1,3-propandiaminu (0,45 g, 4,40 mmol) a N,N-dimethylacetamidu (15 ml) se zahřívala 6,5

hodiny při 92 °C až 95 °C a pak se zchladila na laboratorní teplotu. Přes noc se vytvořila pevná látka. Produkt se získal filtrací, promytím N,N-dimethylacetamidem (5 ml) a etherem (5 ml) se získal čistý produkt ve formě bílé pevné látky (0,50 g, 43% výtěžek). ¹H-NMR byla v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

Roztok produktu z 1. kroku (0,48 g, 1,7 mmol), NaOH (1M, 10 ml) a MeOH (10 ml) se míchal přes noc při laboratorní teplotě. Odstraněním rozpouštědla z reakční směsi za sníženého tlaku se získal surový produkt. Surový produkt se smíchal s kyselinou trifluoroctovou (2 ml) a přečistěním HPLC se získal požadovaný produkt ve formě bílé pevné látky (0,38 g, 58% výtěžek).

3. krok

K roztoku produktu z kroku 2 (0,36 g, 0,94 mmol), 2-chlor-4,6--dimethoxytriazinu (0,18 g, 1,03 mmol) a N,N-dimethylacetamidu (10 ml) se při 0 °C přidal roztok 4-methylmorfolinu (0,14 g, 1,41 mmol) v N,N-dimethylacetamidu (1,5 ml). Výsledný světle oranžový roztok se zahřál na laboratorní teplotu a míchal se 3 hodiny. K reakčnímu roztoku se přidal roztok produktu z příkladu G (0,350 g, 0,94 mmol), 4-methylmorfolin (0,93 g, 0,94 mmol) a N,N-dimethylacetamid (4 ml). Výsledný roztok se míchal přes noc při laboratorní teplotě a smíchal se s kyselinou trifluoroctovou (1,0 ml). Odstraněním rozpouštědla z reakční směsi za sníženého tlaku se získal surový produkt. Přečistěním surového produktu HPLC se získal požadovaný produkt ve formě žluté pevné látky (0,35 g, 54% výtěžek).

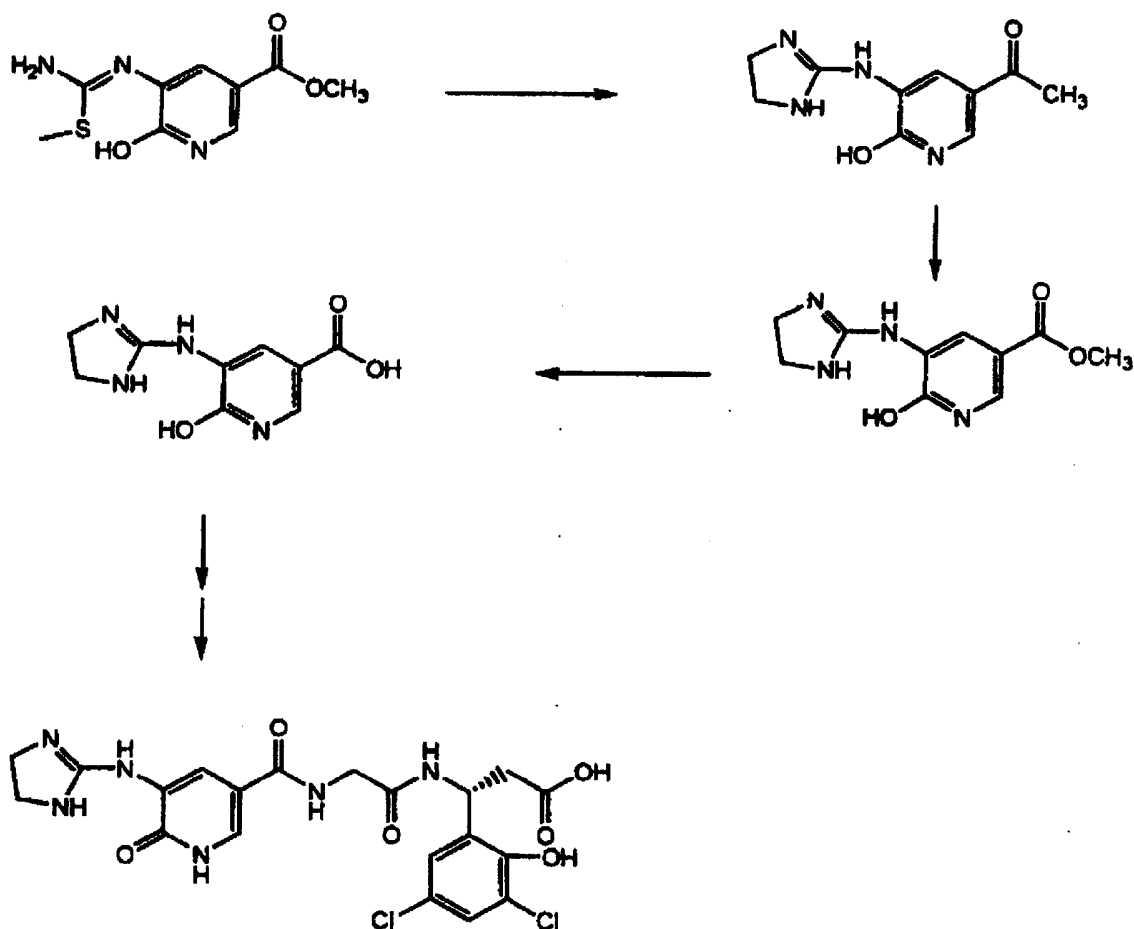
4. krok

Roztok produktu z 3. kroku (0,33 g, 0,47 mmol), NaOH (1M, 9 ml) a MeOH (9 ml) se míchal 18 hodin. Reakce se smíchala s kyselinou trifluoroctovou (1,0 ml). Odstraněním rozpouštědla z reakční směsi za sníženého tlaku se získal surový produkt. Přečistěním surového produktu HPLC se získal požadovaný produkt ve formě žluté pevné látky (0,285 g, 84% výtěžek).

Analýza vypočtená pro C₂₃H₂₆N₆O₆Cl₂ · 1,25 CF₃COOH · 1,0H₂O:

C, 42,90; H, 4,13; N, 11,77;

Skutečné hodnoty: C, 43,03; H, 4,03; N, 11,26.

Příklad 48

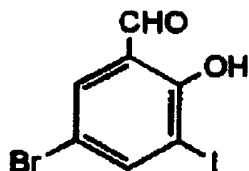
Výše uvedená sloučenina se připravila podle postupu popsánoho v příkladu 47.
 V 1. kroku se místo 2,2-dimethyl-1,3-diaminpropandiaminu použil ethylendiamin. V 3.
 kroku se místo produktu z příkladu G použil produkt z příkladu U.
 Analýza vypočtená pro $C_{20}H_{20}N_6O_6Cl_2 \cdot 1,25 CF_3COOH \cdot 0,5H_2O$:

C, 40,77; H, 3,38; N, 12,68;

Skutečné hodnoty: C, 40,98; H, 3,17; N, 12,57.

Příklad X

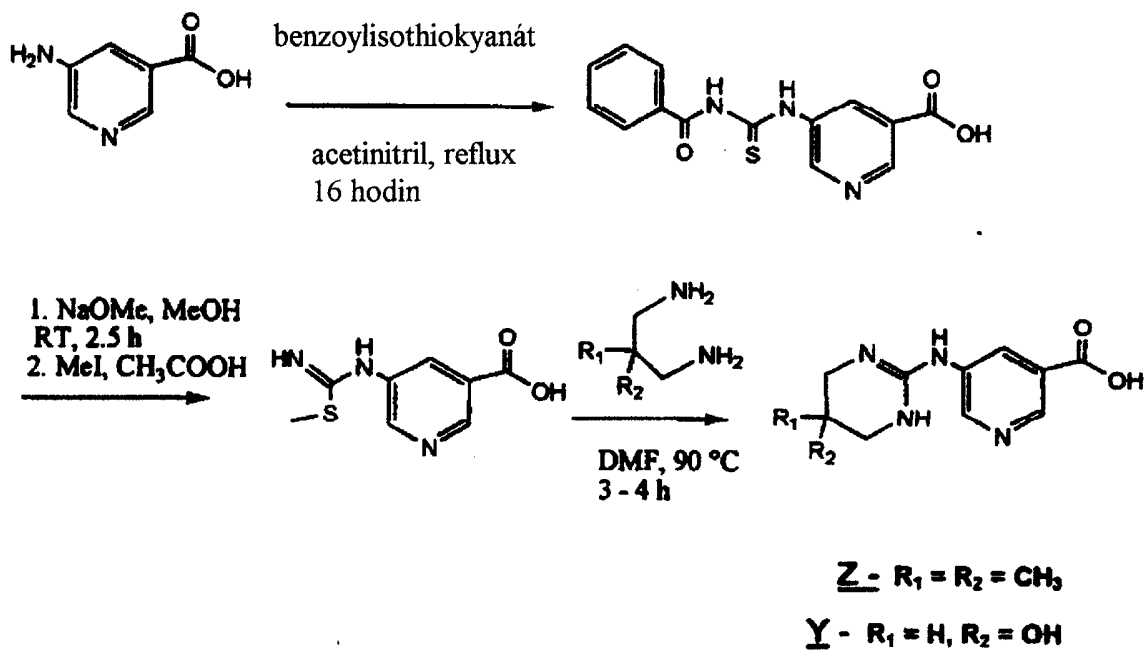
Příprava 5-brom-3-jodsalicylaldehydu



Výše uvedená sloučenina se připravila jodací 5-bromsalicylaldehydu podle popisu v literatuře (J. Org. Chem. 1990, 55, 5287-5291).

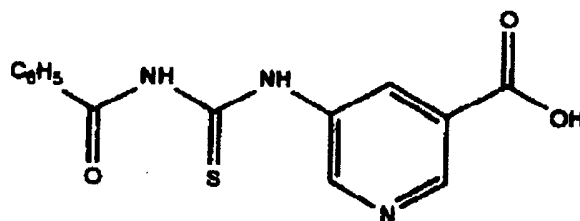
Příklady Y & Z

Schéma A1



1. krok

Příprava

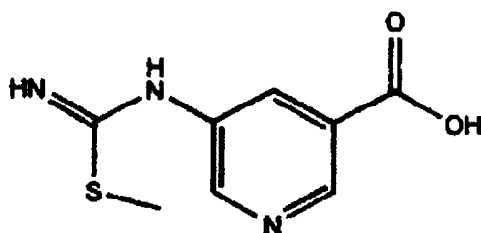


Směs 5-aminonikotinové kyseliny (10,0 g, 0,072 mol), benzoylizothiokyanátu (11,8 g, 0,072 mol) a DMAP (katalytické množství) v bezvodém acetonitrilu (250 ml) se refluxovala přes noc za bezvodých podmínek a důkladného míchání (schéma A1). Výsledná žlutá suspenze se zchladila a přefiltrovala. Zbytek se promyl vodou, poté acetonitrilem a vysušením za vakua přes noc se získal požadovaný produkt ve formě světle žluté pevné látky (21,4 g, 98% výtěžek).

MS a $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

Příprava



K suspenzi produktu z 1. kroku (11,1 g, 0,037 mol) v bezvodém MeOH (230 ml) se přidal NaOMe (roztok 25 hmotn. % v methanolu, 21,1 ml, 0,092 mol), reaktanty vnikly do roztoku a vznikl oranžově hnědý roztok (schéma A1). Roztok se míchal 3 hodiny při laboratorní teplotě, zchladil se v ledové lázni a přidal se methyljodid (3,45 ml, 0,055 mol). Výsledná směs se míchala 30 minut při 10 °C a 1,5 hodiny při laboratorní

teplotě. Reakční směs se pak zastavila kyselinou octovou (2 ml), zchladila v ledové lázni a přefiltrovala. Pevné složky se promyly studeným MeOH a vysušením za vakua se získal požadovaný produkt ve formě béžové pevné látky (2,66 g, 37% výtěžek).

MS a $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

3. krok

Příprava příkladů Y & Z

K roztoku 1,3-diamin-2-hydroxypropanu (11,2 g, 0,124 mol) v bezvodém DMF (80 ml) se přidal produkt z 2. kroku (8,7 g, 0,041 mol). Směs se zahřívala 3 hodiny při 85 °C za bezvodých podmínek (schéma A1). Po 1 až 2 hodinách se roztok zakalil a zákal se během zahřívání zesílil. Reakční směs se pak zchladila v ledové lázni a přefiltrovala. Pevné složky se promyly acetonitrilem, vodou, acetonitrilem a vysušením za vakua se získal požadovaný produkt (příklad Y) ve formě béžové pevné látky (3,7 g, 38% výtěžek).

MS a $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad Z se syntetizoval podle postupu popsaného v příkladu Y náhradou 2,2-dimethyl-1,3-propandiaminu 1,3-diamin-2-hydroxypropanem.

Každý z produktů z 3. kroku se přeměnil na jejich TFA nebo HCl soli 1 h mícháním při 10 °C v roztoku bezvodého THF (10 ml na 1,0 g substrátu) a TFA (1 ekvivalent) nebo směsi 4M HCl/dioxan (2 ekvivalenty).

Příklad 49

Příprava

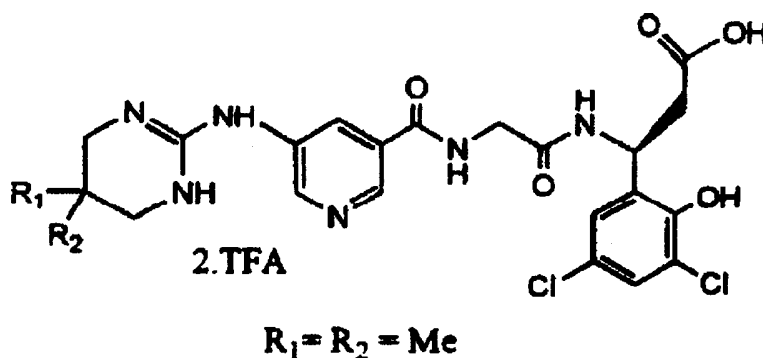
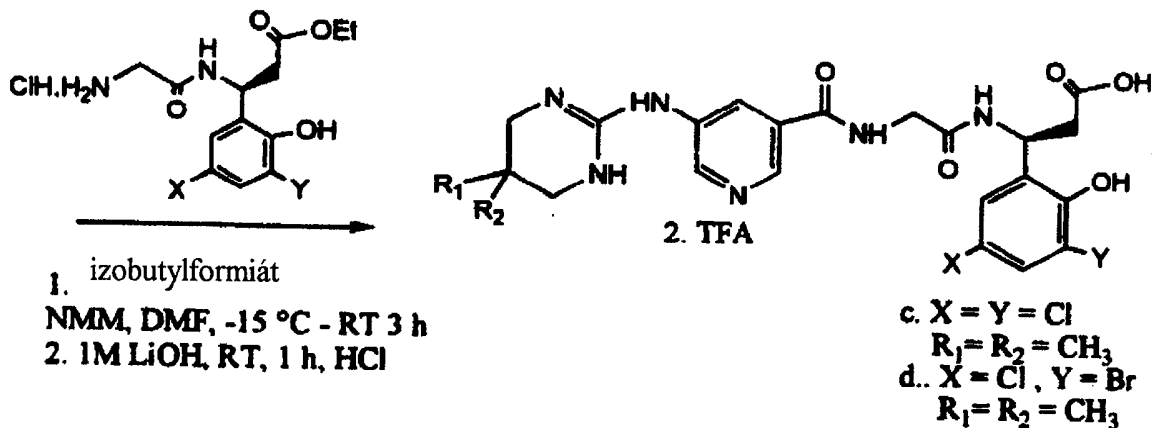


Schéma A2



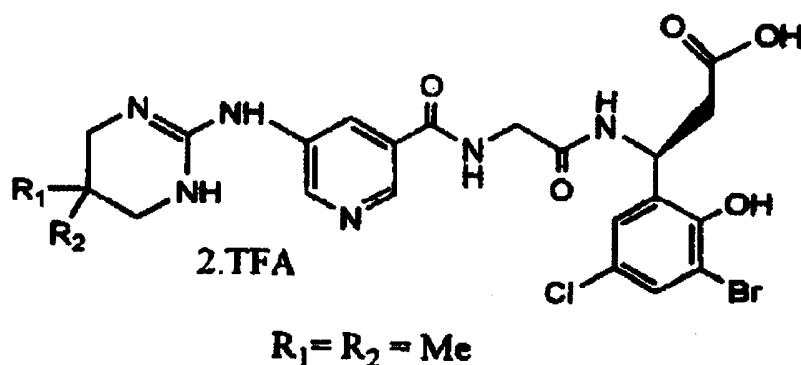
K suspenzi z příkladu Y (0,40 g, 0,00125 mol, schéma A2) v bezvodém DMF (10 ml) se při -20 °C Přidal izobutylchloroformát (0,17 g, 0,00125 mol) a následně se po kapkách přidal N-methylmorfolin (0,14 g, 0,00137 mol). Po 20 minutovém míchání při -20 °C se přidal další N-methylmorfolin (0,14 g, 0,00137 mol) a následoval přidavek produktu z příkladu G (0,46 g, 0,00125 mol). Výsledná směs se míchala 15 minut při -20 °C a pak se míchala 2 hodiny při laboratorní teplotě. DMF se oddestiloval za vakua a přečistěním zbytku HPLC s „reverzní“ fází se (po lyofilizaci) získal požadovaný ester ve formě bílé pevné látky (0,20 g, 21% výtěžek).

MS a ¹H-NMR byla v souladu s požadovanou strukturou. Ester (0,2 g) se míchal 1 hodinu s 1M LiOH (2 ml) za laboratorní teploty. pH se upravilo kyselinou trifluoroctovou na 2 a přečistěním HPLC s „reverzní“ fází se získala (po lyofilizaci) požadovaná kyselina ve formě bílé pevné látky (0,11 g).

MS a ¹H-NMR byly v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 50

Příprava



Výše uvedená sloučenina se připravila (schéma A2) podle postupu popsaneho v příkladu 49 náhradou ekvivalentního množství z příkladu R produktem z příkladu G.

MS a $^1\text{H-NMR}$ byla v souladu s požadovanou strukturou (strukturami). Ester (0,19 g, 0,00023 mol) se míchal 1 hodinu s 1M LiOH (2 ml) za laboratorní teploty. pH se upravilo kyselinou trifluorooctovou na 2 a přečistěním HPLC s reverzní fází se získala (po lyofilizaci) požadovaná kyselina ve formě bílé pevné látky (0,13 g, 72% výtěžek).

MS a $^1\text{H-NMR}$ byly v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 51

Příprava

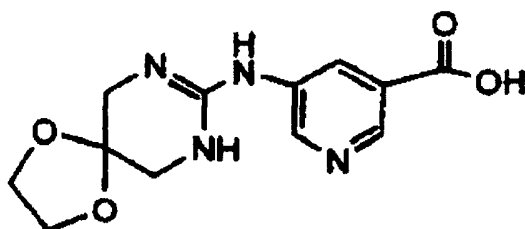
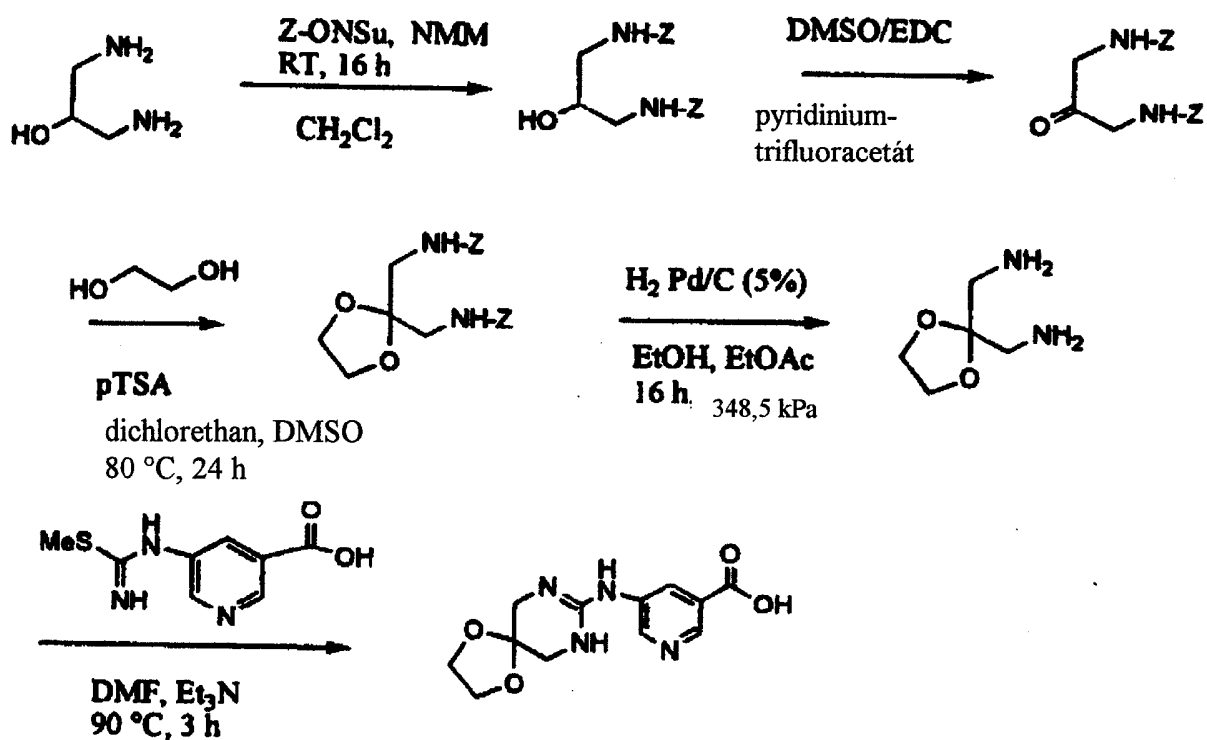
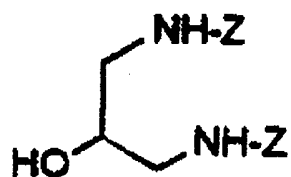


Schéma B



1. krok

Příprava bis-N-benzylaoxykarbonyl-2-hydroxy-1,3-diaminopropanu.

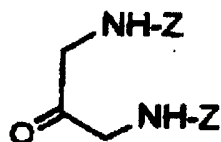


K suspenzi 2-hydroxy-1,3-diaminpropanu (5,8 g, 0,064 mol) v dichlormethanu (150 ml) obsahujícím N-methylmorfolin (14 ml) se při 10 °C po částech přidal benzyloxykarbonsukcinimid (32 g, 0,129 mol) (schéma B). Reakční směs se míchala 16 hodin při laboratorní teplotě a výsledný čirý roztok se zředil dichlormethanem (100 ml), postupně promyl 10% kyselinou citronovou (2 × 50 ml), vodou a vysušil (Na_2SO_4). Po filtraci se rozpouštědlo odstranilo za sníženého tlaku a rekrystalizací z dichlormethanu se získala požadovaná sloučenina (20,0 g, 87% výtěžek).

$^1\text{H-NMR}$ a MS byly v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

Příprava bis-N-benzyloxykarbonyl-1,3-diaminpropan-2-on.

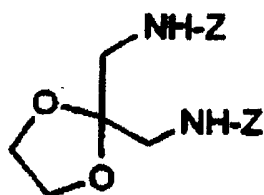


K suspenzi produktu z 1. kroku (21,0 g, 0,058 mol) a EDC (33,0 g) v dichlormethanu (120 ml) obsahující DMSO (24,0 ml) se po kapkách přidal roztok pyridiniumtrifluoracetátu (33,0 g) v dichlormethanu (50 ml) během 30 minut a míchala se při 10 °C. Po přidavku se získal jasně žlutý roztok. Po 3 hodinovém míchání při laboratorní teplotě se z reakční směsi oddělila bílá pevná látka. Směs se zchladila, přefiltrovala a pevná látka se promyla studeným dichlormethanem a vodou. Získaná bílá pevná látka se vysušila v exikátoru za vakua a získal se požadovaný produkt (15,5 g, 74% výtěžek).

$^1\text{H-NMR}$ a MS byly v souladu s požadovanou strukturou.

3. krok

Příprava



Směs produktu z 2. kroku (2,5 g, 0,007 mol), p-toluensulfonové kyseliny (0,3 g, 0,0016 mol) a DMSO (1,0 ml) v dichlormethanu (25 ml) obsahující ethylenglykol (2,0 ml) se refluxovala za bezvodých podmínek (schéma B). Po 24 hodinách se reakční směs zchladila, zředila dichlormethanem (25 ml) a postupně promyla 10% uhličitanem sodným, vodou a vysušila (Na_2SO_4). Po odstranění rozpouštědla za sníženého tlaku zbytek rekrystalizoval ze směsi dichlormethan/hexan a získala se požadovaná sloučenina (2,5 g, 89% výtěžek).

^1H NMR a MS byla v souladu s požadovanou strukturou.

4. krok

Produkt z 3. kroku (3,0 g, 0,0075 mol) se rozpustil v rozpouštědle ze směsi ethanolu (50,0 ml) a ethylacetátu (50,0 ml) a hydrogenoval se 16 hodin při tlaku 344,75 kPa v přítomnosti Pd/C (5%, 1,5 g) při laboratorní teplotě (schéma B). Katalyzátor se odstranil filtrací, promyl 40% směsí vody s ethanolom (50 ml) a přefiltroval. Získaný filtrát a roztoky po promytí se zakoncentrovaly dosucha za sníženého tlaku a získala se sirupovitá látka. Tato se rozpustila v DMF (10,0 ml), přidal se produkt z 2. kroku příkladu 1 (1,0 g, 0,0047 mol) s triethylaminem (0,7 ml) a DMAP (0,05 g). Výsledná směs se zahřívala při 90 °C za bezvodých podmínek. Po 3 hodinách se DMF oddestiloval za vakua, zbytek se smíchal s vodou a přefiltroval. Promyl se vodou, acetonitrilem a vysušením v exikátoru za vakua se získal produkt z příkladu 5 (0,4 g, 30%) ve formě prášku. Tato látka se použila bez dalšího přečištění v kroku B. ^1H -NMR a MS byly v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 52

Příprava

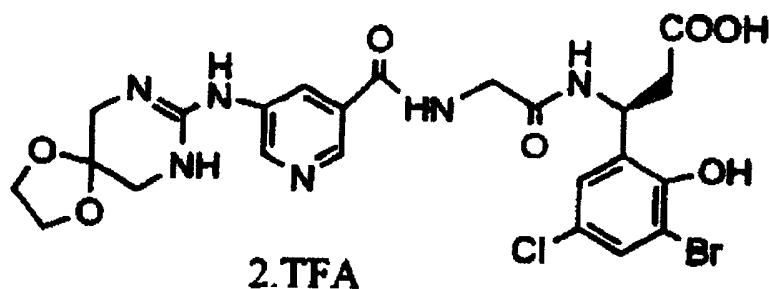
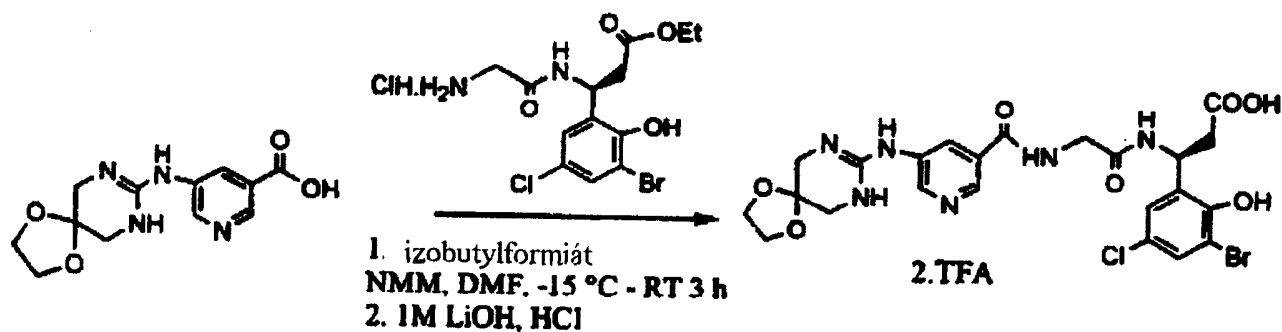


Schéma C



Sloučenina z příkladu 51 (0,38 g, 0,0014 mol) se rozsuspendovala v suchém THF (5,0 ml), přidala se kyselina trifluoroctová (0,1 ml) a směs se míchala při 10 °C za bezvodých podmínek (schéma C). Po 30 minutách se THF oddestiloval za sníženého tlaku a zbytek se sušil 3 hodiny za vakua. Výsledná látka se rozpustila v suchém DMF (4,0 ml), zchladila na -15 °C, přidal se izobutylchlorformiát (0,18 ml) a následně N-methylmorfolin (0,17 ml). Roztok se míchal 30 minut v atmosféře argonu. Ke směsi se přidal roztok aminu vyrobený přidávkem N-methylmorfolinu (0,17 ml) k roztoku z příkladu R (0,51 g) v DMF (3,0 ml) při 0 °C. Výsledná směs se míchala 30 minut při -15 °C a pak 16 hodin při laboratorní teplotě. Rozpouštědlo se odstranilo destilací za vakua a

zbytek se přečistil HPLC s reverzní fází za použití 10 až 90% gradientu acetonitril/voda (40 minut) při rychlosti vymývání 70 ml/min.

Příslušné frakce se smíchaly a vymražením se získal požadovaný ester (0,4 g) ve formě chmýřovitého bílého prášku. Tato látka se míchala za laboratorné teploty s hydroxidem lithným (1M, 2,0 ml). Po 45 minutách se reakční směs zchladila, zředila vodou, okyselila kyselinou trifluoroctovou a požadovaná kyselina (0,25 g) se vyizolovala HPLC s reverzní fází za použití směsi 10 až 90% acetonitril/voda, jak je popsáno výše. $^1\text{H-NMR}$ a MS byly v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 53

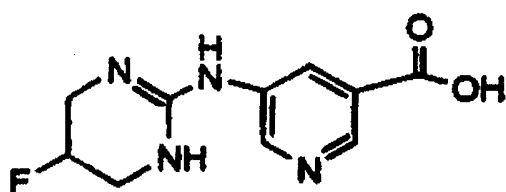
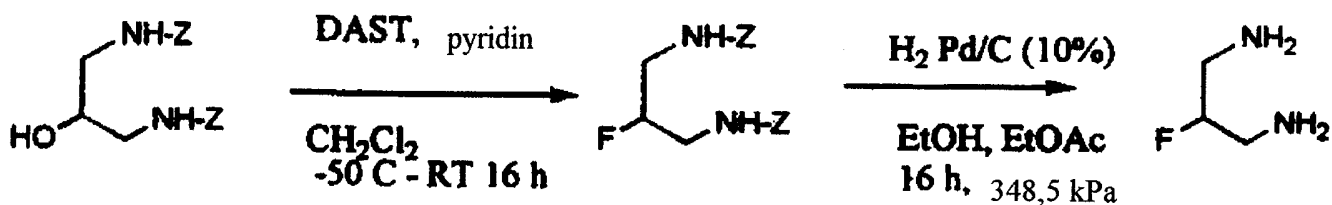
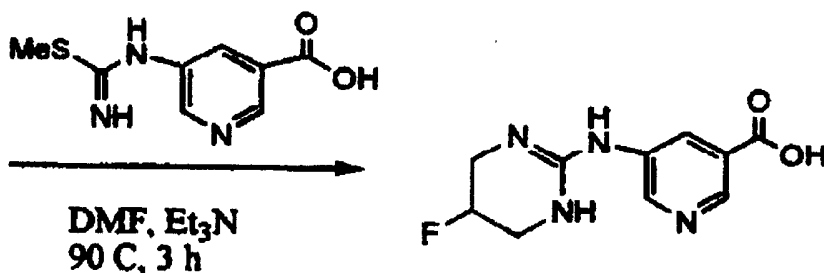


Schéma D

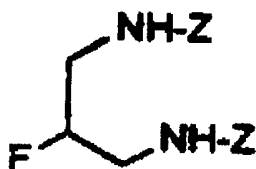


Z = karobenzoxy



1. krok

Příprava bis-N-benzyloxykarbonyl-2-fluor-1,3-diaminopropanu.



K míchané suspenzi bis-N-benzyloxykarbonyl-2-hydroxy-1,3-diaminopropanu (6,0 g, 0,017 mol) v dichlormethanu (50 ml) a pyridinu (2,7 ml) se při $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ po kapkách přidal roztok DAST (2,5 ml) v dichlormethanu (7,5 ml, schéma D). Reakční směs se postupně zahřívala na laboratorní teplotu během 16 hodin v atmosféře argonu. Získal se jasně žlutý roztok. Roztok se zchladil a nalil do směsi ledu, vody (100 ml) a dichlormethanu (50 ml). Organická fáze se promyla vodou ($2 \times 50\text{ ml}$) a vysušila (Na_2SO_4). Po odstranění rozpouštědla se zbytek přečistil pomocí mžikové chromatografie na silikagelu použitím 30% EtOAc v hexanu. Příslušné frakce se smíchaly, zakoncentrovaly dosucha a rekrystalizací produktu ze směsi dichlormethan/hexan se získal požadovaný fluorovaný meziprodukt ve formě chmýřovitého bílého prášku (2,0 g).

$^1\text{H-NMR}$ a MS byly v souladu s požadovanou strukturou.

2. krok

Roztok bis-N-benzyloxykarbonyl-2-fluor-1,3-diaminopropanu (3,3 g, 0,0092 mol) získaný z 1. kroku, v EtOAc (30 ml) a EtOH (30 ml) se hydrogenoval 16 hodin v přítomnosti Pd/C (10%, 2,7 g) při laboratorní teplotě a tlaku 344,7 kPa (schéma D). Po filtraci se katalyzátor míchal s EtOH obsahujícím 40% vody (50 ml) a opět přefiltroval. Zakoncentrováním filtrátu dosucha se získala sirupovitá látka (0,7 g). Tato látka se rozsuspendovala v DMF (8,0 ml). Přidal se produkt z 2. kroku příkladu 1 (0,7 g, 0,0033 mol), katalytické množství DMAP (0,01 g) a směs se míchala

3 hodiny při $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ za bezvodých podmínek. DMF se oddestiloval za vakua, zbytek se rozsuspendoval ve vodě (25 ml) a pH se upravilo na 4,5 přidávkem 1M HCl. Výsledná směs se zchladila. Pevná látka se oddělila filtrací, důkladně promyla vodou, acetonitri-

lem a vysušením v exikátoru za vakua se získala požadovaná sloučenina ve formě hnědého prášku (0,24 g). $^1\text{H-NMR}$ a MS byly v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 54

Příprava

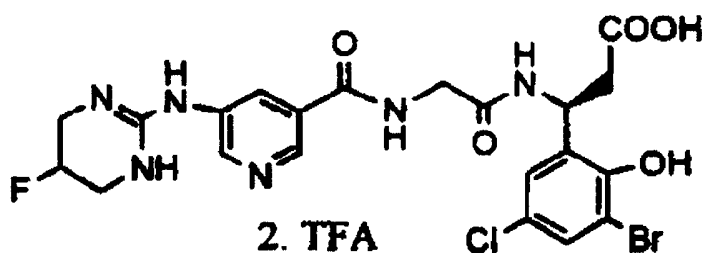
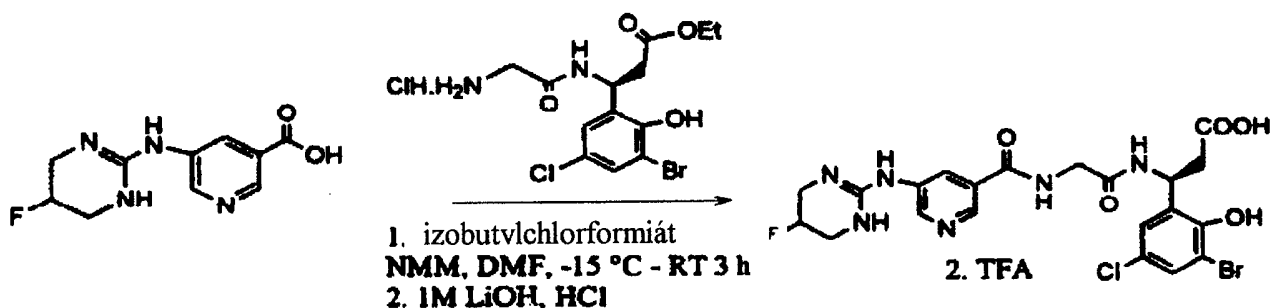


Schéma E



Sloučenina z příkladu 53 (0,22 g), získaná dříve, se rozsuspendovala v suchém THF (4,0 ml). Přidala se kyselina trifluoroctová (0,1 ml) a roztok se míchal 30 minut při 10 °C a zakoncentroval za sníženého tlaku. Zbytek se vysušil v exikátoru za vakua. Získaná látka se rozsuspendovala v suchém DMF (5 ml). Přidal se izobutylchloroformiát (0,12 ml), následně se přidal N-methylmorfolin (0,11 ml). Roztok se míchal při -15 °C v atmosféře argonu (schéma E). Po 30 minutách se vytvořil roztok aminu vzniklý přidávkem N-methylmorfolinu (0,095 ml) k roztoku produktu z příkladu R (0,37g) v DMF (3,0 ml). Výsledná směs se míchala 30 minut při -15 °C a pak 16 hodin při laboratorní tep-

lotě. DMF se oddestiloval za vakua a zbytek se přečistil pomocí HPLC s reverzní fází za použití směsi 10 až 90% acetonitril/voda. Příslušné frakce se smíchaly a vymražením se získal požadovaný produkt esteru ve formě světle žlutého prášku (0,35 g).

$^1\text{H-NMR}$ a MS byly v souladu s požadovanou strukturou.

Výsledný produkt (0,3 g, schéma E) se míchal s 1M LiOH (3,0 ml) při laboratorní teplotě. Po 1 hodině se roztok zředil vodou (3,0 ml), zchladil a okyselil kyselinou trifluorctovou. Výsledná směs se pak přečistila HPLC s reverzní fází za použití směsi 10 až 90% acetonitril/voda (30 minutový gradient) při průtokové rychlosti 70 ml/min. Příslušné frakce se smíchaly a vymražením se získala požadovaná sloučenina ve formě bílého prášku (0,22 g). $^1\text{H-NMR}$ a MS byly v souladu s požadovanou strukturou.

Příklad 55

Příprava

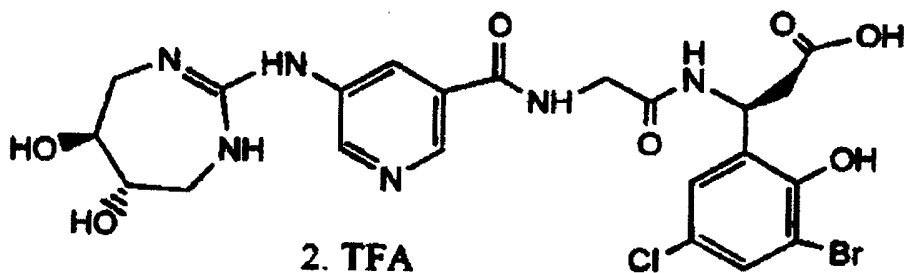
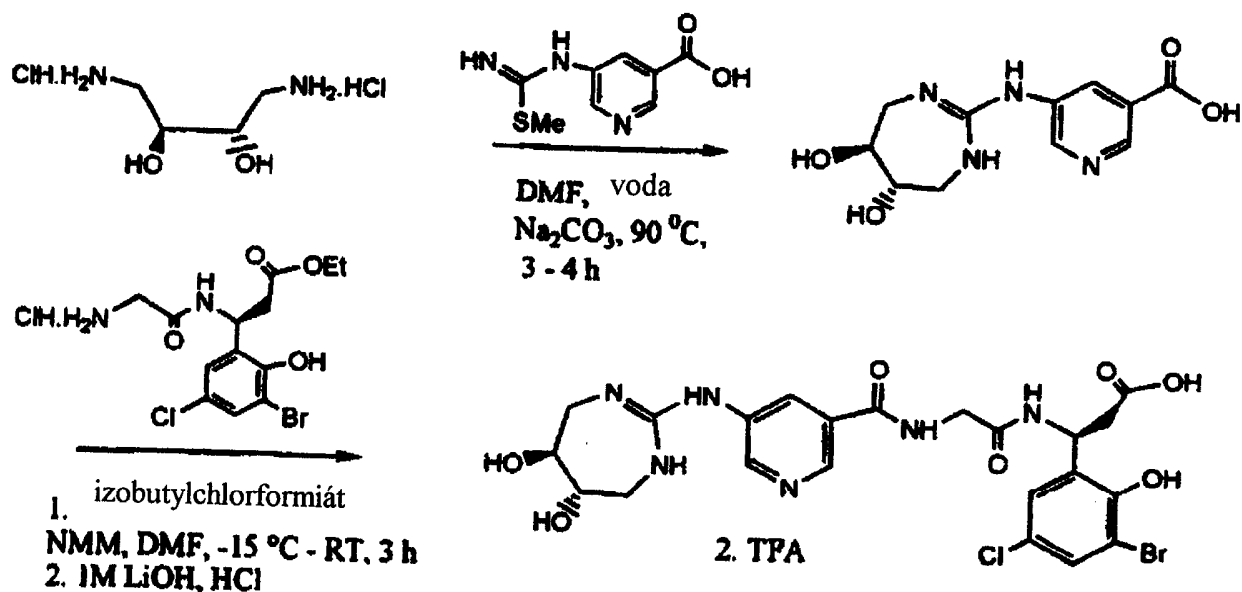
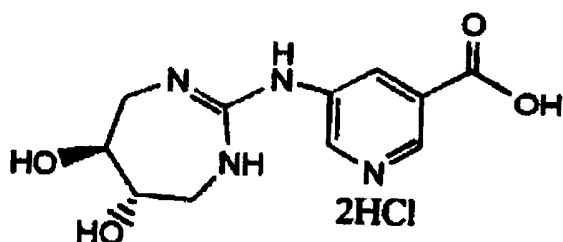


Schéma F



1. krok

Příprava



K roztoku 1,4-diamino-2,3-dihydroxybutan dihydrochloridu [2,21 g, 0,012 mol][syntetizován z dimethyl-L-vinnan podle popisu v J. Carbohydrate Chemistry, 5, (2), 183-197, [1986], ve vodě (6 ml) a bezvodému DMF (10 ml) se přidal uhličitan sodný (1,83 g, 0,017 mol). K této směsi se přidal produkt z 2. kroku příkladu 1 (1,21 g, 0,006 mol) a směs se zahřívala 3 hodiny při 85 °C. Po zchlazení v ledové lázni se DMF oddestiloval za vakua a výsledný zbytek se rozsuspendoval ve vodě. pH se upravilo na 5,6. Lyofilizací roztoku se získala požadovaný produkt (0,907 g, 59% výtěžek).

MS bylo v souladu s požadovanou strukturou (M+H 267).

Získaná sloučenina se přeměnila na HCl sůl mícháním s 4M směsí HCl/dioxan (2 ekvivalenty) v THF (10 ml) 1 hodinu při 10 °C.

2. krok

K suspenzi produktu z 1. kroku (0,11 g, 0,23 mmol) v bezvodém DMF (10 ml) se při -20°C přidal izobutylchlorformiát (0,016 g, 0,12 mmol), a pak po kapkách N-methylmorpholin (0,013 g, 0,13 mmol, schéma F). Výsledná směs se míchala 20 minut při -20 °C, přidalo se další množství N-methylmorpholinu (0,013 g, 0,13 mmol) a následoval přídavek produktu R (0,048 g, 0,12 mmol). Výsledná směs se míchala 15 minut při -20 °C. Po 2 hodinovém míchání za laboratorní teploty se DMF oddestiloval za vakua a přečistěním zbytku HPLC s reverzní fází se (po lyofilizaci) získal požadovaný ester ve formě bílé pevné látky (0,03 g, 33% výtěžek).

MS (M+H 627 M+H 629) a ¹H-NMR byly v souladu s požadovanou strukturou.

¹H NMR (400MHz, Cd₃Od): δ 8,8 (s, 1H), δ 8,5 (s, 1H), 8,1 (s, 1H), 7,4 (s, 1H), 7,2 (s, 1H) 5,6 (m, 1H), 4,1 (m, 4H), 3,7 (m, 2H), 3,6 (m, 2H), 3,3 (m, 2H), 2,9 (m, 2H), 1,2 (m, 3H).

Výsledný ester (0,03 g, 0,035 mmol) se míchal s 1M LiOH (2 ml). Po 1. hodinovém míchání při laboratorní teplotě se pH upravilo na 2 kyselinou trifluoroctovou a vyizolováním produktu HPLC s reverzní fází se (po lyofilizaci) získala požadovaná kyselina ve formě bílé pevné látky (0,001 g, 3,5% výtěžek).

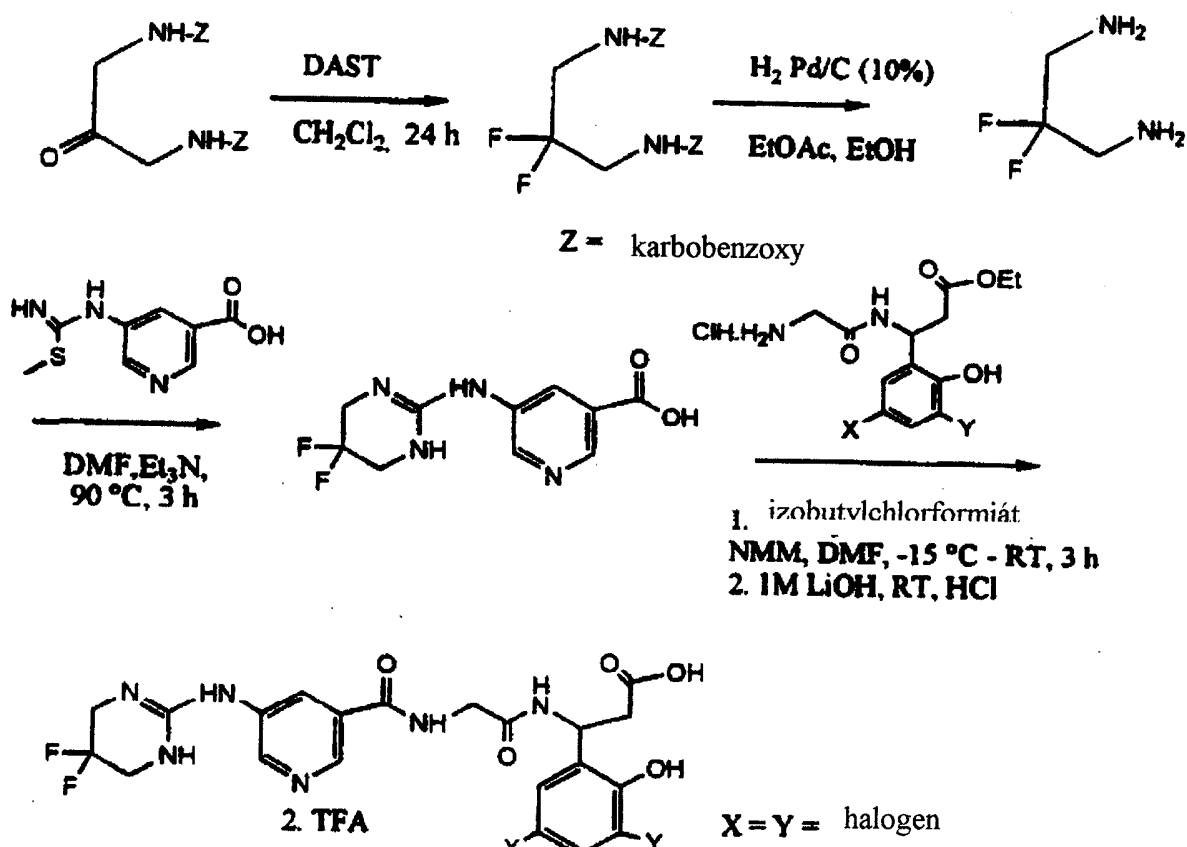
MS (M+H 599 M+H 601) a ¹H-NMR byly v souladu s požadovanou strukturou.

¹H NMR (400MHz, CD₃OD): δ 8,8 (s, 1H), 8,5 (s, 1H), 8,0 (s, 1H), 7,4 (s, 1H) 7,2 (s, 1H), 5,6 (m, 1H), 4,1 (m, 2H), 3,8 (m, 2H), 3,5 (m, 2H), 3,3 (m, 2H), 2,8 (m, 2H).

Příklad 56

Difluoranalogue se připravil podle postupu syntézy uvedeného ve schématu 1 níže.

Schéma 1

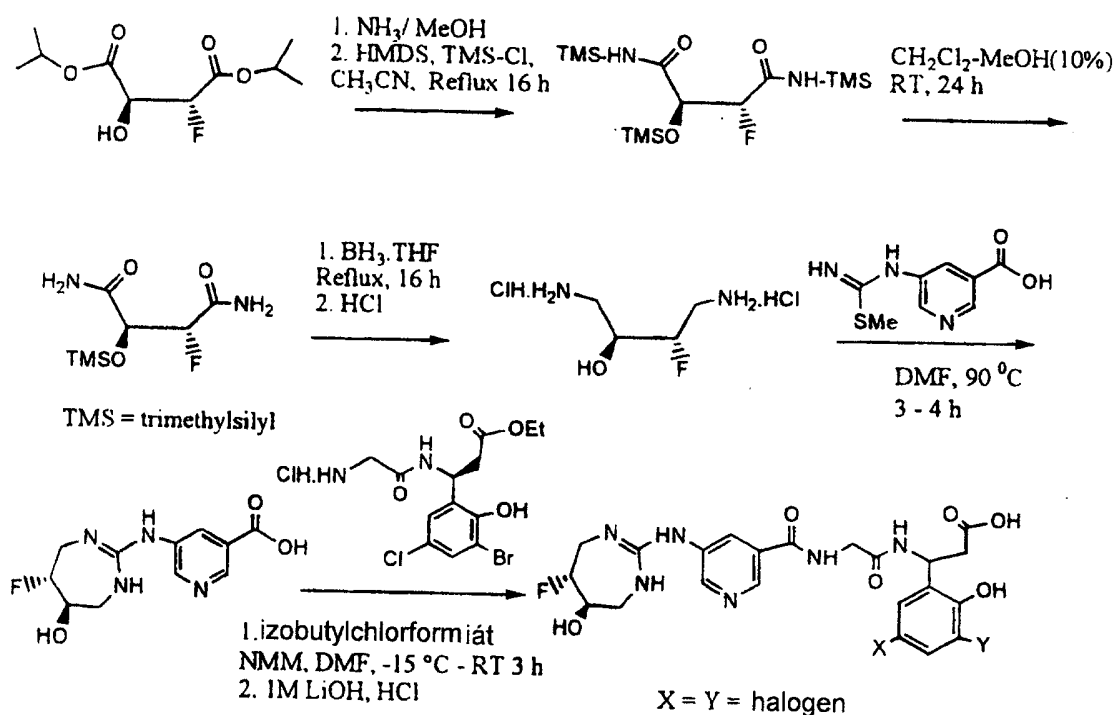


Karboxybenzoxo-chráněný keton se přeměnil na odpovídající difluor meziprodukt použitím DAST diethylaminosulfur trifluoridu. Následným odstraněním karbobenzoxo skupin (Z) katalytickou hydrogenací a sloučením výsledného diaminu s S-methylizothiomočovinným derivátem derivátu 5-aminonikotinové kyseliny vznikl odpovídající difluor-substituovaný guanidin obsahující prekursor kyseliny nikotinové. Tato sloučenina reagovala s glycin-beta esterem aminokyseliny a následnou hydrolýzou a okyselením se získala požadovaná sloučenina.

Příklad 57

Sloučeniny obsahující sedmičlenné fluor/hydroxy substituované guaniny se připravily podle následujícího schématu z výchozího známého diizopropyl-L-vinanu (J. Am.Chem. Soc. 1988, 110, 7538).

Schéma 2



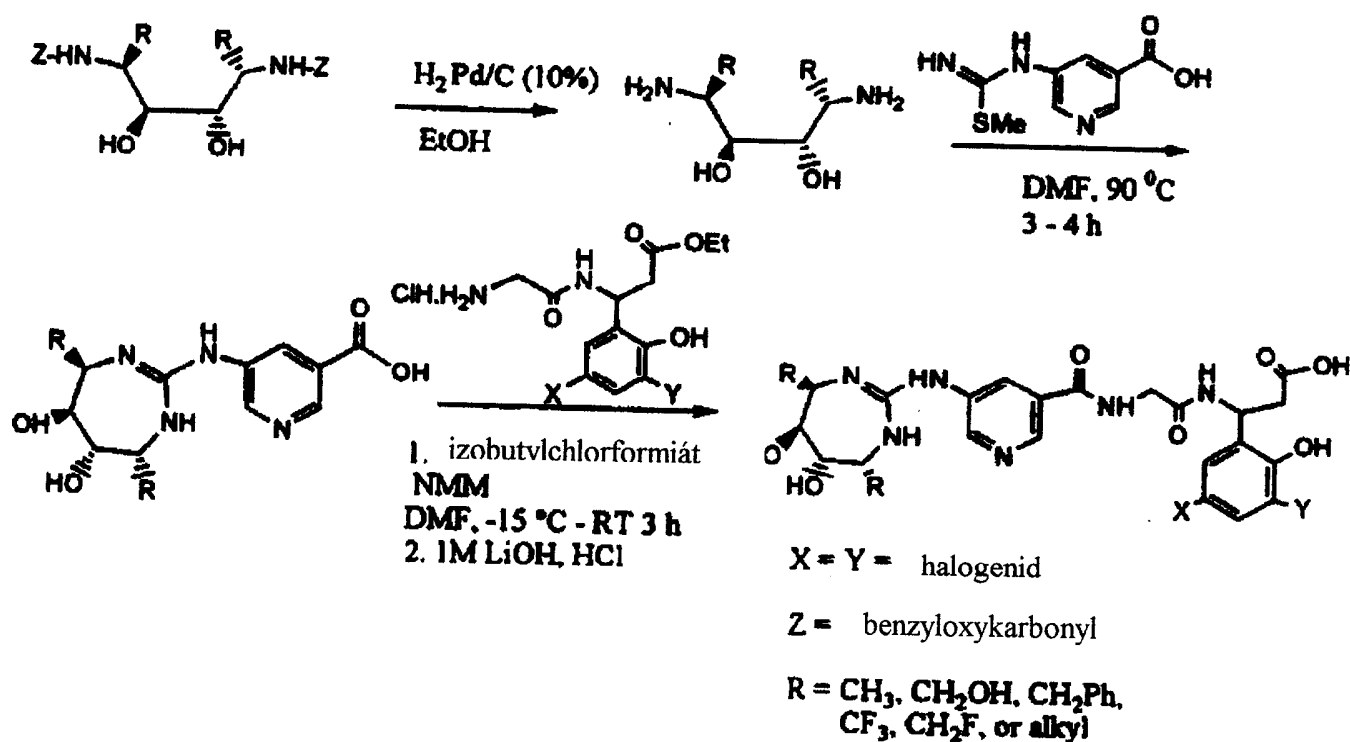
Monosilylovaný meziprodukt se syntetizoval amidací, silylací a N-desilylací. Di-boranovou redukcí tohoto monosilyl derivátu se získal odpovídající diamindihydrochlorid. Následnou kondenzací volného diaminu s S-methylizothiomočovinným derivátem 5-aminonikotinové kyseliny se získal odpovídající sedmičlenný guanidinový derivát. Další reakcí tohoto guanidinu s glycin-beta-esterem aminokyseliny a následnou hydrolyzou a okyselením se získala výsledná požadovaná sloučenina.

Příklad 58

Dialkyl/diol substituované sedmičlenné cyklické guanidinové sloučeniny se připravily sledem reakcí zobrazených v následujícím schématu. Ze známých karbobenzo-

xy-chráněných diaminů (J. Med. Chem. 1996, 39, 2156) se odpovídající sedmičlenné cyklické guanidiny syntetizovaly reakcí volného diaminového prekursoru s S-methylizothiomočovinným derivátem 5-aminonikotinové kyseliny. Kondenzací výsledné guanidin-karboxylové kyseliny s glycin-beta-aminoesterem a následnou hydrolyzou a okyselením se získala konečná požadovaná sloučenina.

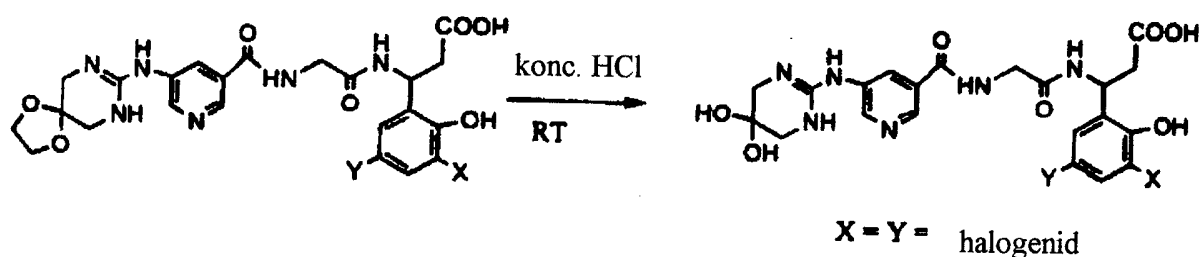
Schéma 3



Příklad 59

Dihydroxy sloučeniny se připravily štěpením cyklického ketalu prekursoru za kyselé katalýzy, jak je uvedeno v následujícím schématu.

Schéma 4



Příklad 60

Sloučeniny obsahující sedmičlenný diol substituované cyklické guanidiny z výchozího D nebo meso-vinných derivátů se připraví podle uvedeného schéma ^{halogenid}

Aktivita sloučenin podle vynálezu se testovala podle následujících měření. Výsledky testování z těchto měření jsou uvedeny v tabulce 1.

Vitronektinové měření adheze

Materiál

Lidský vitronektinový receptor ($\alpha_v\beta_3$) se přečistil od lidské placenty, jak je popsáno dříve [Pytela a kol., *Methods in Enzymology*, 144:475-489 (1987)]. Lidský vitronektin se přečistil z čerstvě zmrazené plazmy, jak se popisuje dříve [Yatohgo a kol., *Cell Structure and Function*, 13:281-292 (1988)]. Biotynylovaný lidský vitronektin se připravil sloučením NHS-biotinu od Pierce Chemical Company (Rockford, IL) s přečistěným vitronektinem, jak je popsáno dříve [Charo a kol., *J. Biol. Chem.*, 266(3): 1415-1421 (1991)]. Pufr použitý při měření, OPD substrátové tablety a BSA pro RIA měření se získal od Sigma (St. Louis, MO). Anti-biotinová protilátka se získala od Calbiochem (La Jolla, CA). Linbro mikrotitrační destičky se získaly od Flow Labs (MsLean, VA). ADP reagentie se získaly od Sigmy (St. Louis, MO).

Metody

Měření receptoru na pevné fázi

Toto měření je zcela shodné s dříve popsaným [Niiya a kol., *Blood*, 70:475-483 (1987)]. Přečistěný lidský vitronektinový receptor ($\alpha_v\beta_3$) se naředil z koncentrovaného roztoku na 1,0 $\mu\text{g/ml}$ ve fyziologickém roztoku obsahujícím Tris-pufr s obsahem 1,0 mM Ca^{++} , Mg^{++} a Mn^{++} , pH 7,4 (TBS^{+++}). Zředěný receptor se ihned přenesl do mikrotitračních destiček Linbro v množství 100 μl /jamku (100 ng receptoru/jamku). Destičky se uzavřely, inkubovaly přes noc při 4 °C, aby se receptor navázal na jamky. Všechny následující kroky se prováděly za laboratorní teploty. Destičky se vyprázdnily a do plastu se přidalo 200 μl 1% BSA pro RIA měření v TBS^{+++} (TBS^{+++} /BSA). Po 2 hodinové inkubaci se destičky promyly TBS^{+++} použitím promývače pro 96 jamkové destičky. Ze zá-

sobní koncentrace 2 mM se použitím 2 nM biotinylovaného vitronektinu v TBS⁺⁺⁺/BSA jako ředící látky vytvořila logaritmická série ředění. Počáteční smíchání označeného ligandu s testovaným (nebo kontrolou) ligandem a následný přenos 50 μ l alikvotů do destiček se prováděl pomocí CETUS Propette robotu; konečná koncentrace značeného ligandu byla 1 nM a nejvyšší koncentrace testované sloučeniny byla $1,0 \times 10^{-4}$ M. Ke kompetici opět došlo po dvou hodinách po promytí jamek promývačem destiček. Do každé jamky se přidalo 125 μ l afinitně přečištěné křenové peroxidázy značené kozí anti-biotinovou protilátkou ředěnou 1:3000 v TBS⁺⁺⁺/BSA. Po 30 minutách se destičky promyly a inkubovaly se substrátem OPD/H₂O₂ ve 100 mM/l citrátovém pufru, pH 5,0. Destička se vyhodnotila na readru pro mikrotitrační destičky při vlnové délce 450 nm a v okamžiku, kdy kontrolní jamky dosáhly absorbanci přibližně 1,0 se odečetla finální A₄₅₀ u analýzy. Data se analyzovala za použití tabulkového procesoru EXCEL J. Průměrná hodnota, standartní odchylka a % CV se stanovila pro dvakrát měřené koncentrace. Průměrné hodnoty A₄₅₀ se normalizovaly k průměrné hodnotě čtyř kontrol s maximální vazbou (bez přídávku kompetitoru)(B-MAX). Normalizované hodnoty se použily v algoritmu pro čtyřparametrovou křivku [Rodbard a kol., Int. Atomic Energy Agency, Vienna, str. 469 (1977)] vynesenu v semi logaritmickém měřítku a vypočtená koncentrace odpovídající 50% inhibici maximální vazby biotinylovaného vitronektinu (IC₅₀) a odpovídající R² se uvedla pro ty sloučeniny, které vykazují větší než 50% inhibici při nejvyšší testované koncentraci; jinak se IC₅₀ uvádí vyšší než nejvyšší testovaná koncentrace. Jako pozitivní kontrola byla v každé destičce zahrnuta β -[[2-[[5-[(aminoiminomethyl)amino]-1-oxopentyl]amino]-1-oxoethyl]amino]-3-pyridin-propanová kyselina [USSN 08/375, 338, příklad 1], která je silným $\alpha_v\beta_3$ antagonistou (IC₅₀ v rozmezí 3 až 10 nM).

Receptorové měření přečištěného iib/iiia

Materiál

Lidský fibrinogenový receptor ($\alpha_v\beta_3$) se přečistil od odumřelých destiček (Pytela, R., Pierschbacher, M.D., Argraves, S., Suzuki, S., a Rouslahti, E. „Arginine-Glycine-Aspartic acid adhesion receptors“, Methods in Enzymology 144 (1987): 475–489). Lidský vitronektin se přečistil z čerstvě zmrazené plazmy, jak je popsáno v Yatohgo, T., Izumi, M., Kashiwagi, H., a Hayashi, M., „Novel purification of vitronectin from human

plasma by heparin affinity chromatography", *Cell Structure and Function* 13 (1988): 281-292. Biotinylovaný lidský vitronektin se připravil sloučením NHS-biotinu od Pierce Chemical Company (Rockford, IL) s přečistěným vitronektinem, jak je posáno dříve. (Charo, I.F., Nannizzi, L., Phillips, D.R., Hsu, M.A., Scarborough, R.M., „Inhibition of fibrinogen binding to GP IIb/IIIa by a GP IIIa peptide", *J. Biol. Chem.* 266(3)(1991): 1415-1421). Pufr použitý pro měření, OPD substrátové tablety a BSA pro RIA měření se získalo od Sigma (St. Louis, MO). Anti-biotinové protilátky se získaly od Calbiochem (La Jolla, CA). Mikrotitrační destičky Linbro se získaly od Flow Labs (McLean, VA). ADP reagent se získal od Sigmy (St. Louis, MO).

Metody

Měření receptoru na pevné fázi

Toto měření je shodné s uvedeným v Niiya, K., Hodson, E., Bader, R., Byers-Ward, V. Koziol, J.A., Plow, E.F. a Ruggeri, Z.M., „Increased surface expression of the membrane glycoprotein IIb/IIIa complex induced by platelet activation: Relationships to the binding of fibrinogen and platelet aggregation", *Blood* 70(1987): 475-483. Přečistěný lidský fibrinogenový receptor ($\alpha_v\beta_3$) se naředit ze zásobního roztoku na 1,0 $\mu\text{g/ml}$ ve fyziologickém roztoku obsahujícím Tris pufr a ionty 1,0 mM Ca^{++} , Mg^{++} a Mn^{++} , pH (TBS⁺⁺⁺). Naředěný receptor se ihned přenesl do mikrotitračních destiček Linbro v množství 100 μl /jamku (100 ng receptoru/jamku). Destička se uzavřela a inkubovala přes noc při 4 °C, aby se receptor navázal na jamky. Všechny zbývající kroky probíhaly za laboratorní teploty. Měřené destičky se vyprázdnily a do bloku s plastovým povrchem se přidalo 200 μl 1% BSA pro RIA měření v TBS⁺⁺⁺ (TBS⁺⁺⁺/BSA). Po 2 hodinách inkubace se měřené destičky promyly TBS⁺⁺⁺ za použití promývače destiček pro 96 jamek. Provedla se logaritmická série měření testované sloučeniny a kontrol od počáteční koncentrace 2 mM a za použití 2nM biotinylovaného vitronektinu v ředícím roztoku TBS⁺⁺⁺/BSA. Toto počáteční smíchání značeného ligandu s testovaným (kontrolním) ligandem a následná aplikace 50 μl alikototů do měřené destičky se provedla pomocí robotu CETUS Propette; konečná koncentrace značeného ligandu byly 1 nM a nejvyšší koncentrace testované sloučeniny byla $1,0 \times 10^{-4}$ M. Po kompetici probíhající dvě hodiny se promyly všechny jamky pomocí promývače, jak je uvedeno dříve. Afinitní kozí anti-biotinová protilátka přečistěná křenovou peroxidázou se zředila 1:3000 v TBS⁺⁺⁺/BSA a do každé jamky se přidalo 125 μl . Po 30 minutách se destičky promyly a

inkubovaly se substrátem ODD/H₂O₂ v citrátovém pufru o koncentraci 100 mM/l, pH 5,0. Destičky se vyhodnotily ve vyhodnocovacím přístroji pro mikrotitrační destičky při vlnové délce 450 nm a při maximální vazebné kontrole, kdy v jamkách byla dosažena absorbance přibližně 1,0, se konečná A₄₅₀ použila pro analýzu. Data se analyzovala za použití tabulkového procesoru EXCEL J. Průměrná hodnota, standartní odchylka a % CV se stanovila pro dvakrát měřené koncentrace. Průměrné hodnoty A₄₅₀ se normalizovaly k průměrné hodnotě čtyř kontrol s maximální vazbou (bez přidavku kompetitoru) (B-MAX). Normalizované hodnoty se použily v algoritmu pro čtyřparametrovou křivku [Rodbard a kol., Int. Atomic Energy Agency, Vienna, str. 469 (1977)] vynesenu v semi logaritmickém měřítku a vypočtená koncentrace odpovídající 50% inhibici maximální vazby biotinylovaného vitronektinu (IC₅₀) a odpovídající R² se uvedla pro ty sloučeniny, které vykazují větší než 50% inhibici při nejvyšší testované koncentraci; jinak se IC₅₀ uvádí vyšší než nejvyšší testovaná koncentrace. Jako pozitivní kontrola byla v každé destičce zahrnuta β -[[2-[[5-[(aminoiminomethyl)amino]-1-oxopentyl]-amino]-1-oxoethyl]amino]-3-pyridinpropanová kyselina [USSN 08/375, 338, příklad 1], která je silným $\alpha_v\beta_3$ antagonistou (IC₅₀ v rozmezí 3 až 10 nM).

Měření lidské plazmy bohaté na destičky

Ze skupiny dobrovolníků se vybrali zdraví donoři bez požití aspirinu. Odběr oplazmy bohaté na destičky a následné měření srážlivosti destiček, vyvolané ADP se provádělo podle popisu v Zucker, M. B., „Platelet Aggregation Measured by the Photometric Method“, *Methods in Enzymology* 169 (1989): 117-133. Použily se standartní venipunkční techniky za použití škrtícího ventilu s odběrem 45 ml celé krve do 60 ml stříkačky obsahující 5 ml 3,8% citrátu trisodného. Po důkladném míchání ve stříkačce se nesražená krev přenesla do 50 ml kónické polyethylenové zkumavky. Krev se centrifugovala 12 minut při laboratorní teplotě a otáčkách 200 ×g, kdy došlo k sedimentaci ostatních buněk kromě destiček. Plazma bohatá na destičky se přemístila do polyethylenové zkumavky a uchovala při laboratorní teplotě do dalšího použití. Z další 15 minutové centrifugace při 2000 ×g se získala plazma bez destiček. Počet destiček se běžně pohybuje od 300 000 do 500 000 na mikrolitr. Na destičky bohatá plazma (0,45 ml) se rozalikovtovala do silikonových kyvet a míchala 1 minutu (1100 rpm) při 37 °C před přidavkem 50 µl naředěné testované sloučeniny. Po 1 minutovém míchání

se vyvolala agregace přidavkem 50 μ l 200 μ M ADP. Agregace probíhala 3 minuty v Paytonově dvoukanálovém agregometru (Payton Scientific, Buffalo, NY). Pro stanovení křivky závislosti na dávce se použila procenta inhibice při maximální odezvě (s fyziologickým roztokem jako kontrolou) u série ředění testované sloučeniny. Všechny sloučeniny byly testovány dvakrát a koncentrace při polovině maximální inhibice (IC_{50}) se vypočetla graficky podle křivky závislosti na dávce pro sloučeniny, které vykazují 50% nebo větší inhibici při nejvyšší testované koncentraci; jinak se IC_{50} uvádí jako vyšší než nejvyšší testovaná koncentrace.

Příklad č.	$\alpha_v\beta_3$ (IC ₅₀ , nm)	IIb/IIIa (IC ₅₀ , nm)
1	1,58	313
2	1,32	272
3	0,41	298
4	0,74	581
5	0,42	884
6	0,27	1260
7	0,21	361
8	95,1	857
9	0,18	244
10	0,14	161
11	0,34	462
12	4,5	442
13	9,32	780
14	12,4	772
15	25,4	1040
16	22000	6180
17	0,46	724
18	0,43	798
19	2,96	2490
20	0,32	2020
21	0,2	551
22	6,96	1710
23	3600	10100
24	91200	15800
25	1870	3910
26	0,71	831
27	0,26	482
28	0,43	984
29	0,46	1385
30	155	29,5
31	3942	1803

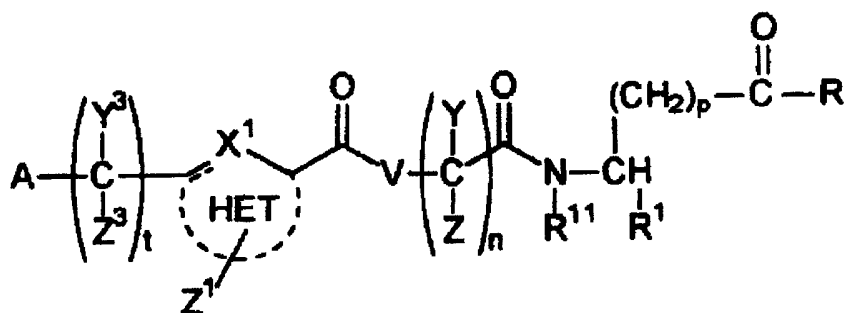
Příklad č.	α, β_1 (IC ₅₀ , nm)	IIb/IIIa (IC ₅₀ , nm)
32	2,1	49
33	0,2	520
34	0,34	1203
35	0,14	340
36	1,13	970
37	63,8	267
38	278	115
39	1917	2458
40	1,5	20630
41	10,2	35400
42	3,1	5954
43	6,5	7527
44	42,1	1061
45	1094	1678
46	1,97	2693
47	0,99	6709
48	4,3	27910

přirodně podané nároky

PV 2000-3572
Č. J. 32 874

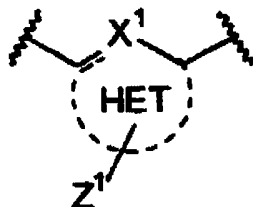
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Heterocyklický glycyI-beta-alaninový derivát obecného vzorce I



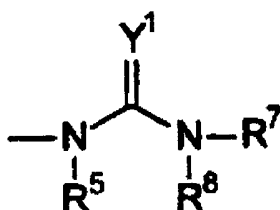
(I),

kde



je 5 až 8 členný monocyklický heterocyklus, volitelně nenasycený, obsahující 1 až 4 heteroatomy vybrané ze skupiny sestávající z O, N nebo S; kde X¹ je vybráno ze skupiny sestávající z CH, CH₂, N, NH, O a S;

A je



kde Y^1 je vybrán ze skupiny sestávající z N-R^2 , O, a S;

R^2 je vybrán ze skupiny sestávající z H; alkylu; arylu; hydroxy; alkoxy; kyano; nitro; amino; alkenylu; alkinylu; amido; alkylkarbonylu; arylkarbonylu; alkoxykarbonylu; aryloxykarbonylu; halogenalkylkarbonylu; halogenalkoxykarbonylu; alkylthiokarbonylu; arylthiokarbonylu; acyloxymethoxykarbonylu; alkylu volitelně substituovaného jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z nižšího alkylu, halogenidu, hydroxy, halogenalkylu, kyano, nitro, karboxylu, amino, alkoxy, arylu nebo arylu volitelně substituovaného jedním nebo více halogeny, halogenalkyly, nižšími alkyly, skupinou alkoxy, kyano, alkylsulfony, alkylthio, nitro, karboxyly, amino, hydroxyly, kyselinou sírovou, sulfonamidy, aryly, kondenzovanými aryly, monocyklickými heterocykly nebo kondenzovanými monocyklickými heterocykly; arylu volitelně substituovaného jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z halogenidu, halogenalkylu, hydroxy, nižšího alkylu, alkoxy, methylendioxy, ethylendioxy, kyano, nitro, alkylthio, alkylsulfony, kyseliny sírové, sulfonamidu, karboxylových derivátů, amino, arylu, kondenzovaného arylu, monocyklických heterocyklů a kondenzovaných monocyklických heterocyklů; monocyklických heterocyklů a monocyklických heterocyklů volitelně substituovaných jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z halogenidu, halogenalkylu, nižšího alkylu, ze skupin alkoxy, amino, nitro, hydroxy, karboxylových derivátů, kyano, alkylthio, alkylsulfony, kyseliny sírové, sulfonamidu, arylu nebo kondenzovaného arylu; nebo

R^2 tvoří spolu R^7 4 až 12 členný heterocyklus obsahující dva dusíkové atomy volitelně substituovaný jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z nižšího alkylu, thioalkylu, alkylaminoskupiny, hydroxy, keto, alkoxy, halogenu, fenylu, amino, karboxylu nebo karboxylového esteru, spiro dioxolanu a kondenzovaného fenylu;

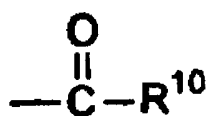
R^2 tvoří spolu s R^7 4 až 12 členný heterocyklus, volitelně nenasycený, obsahující jeden nebo více heteroatomů vybraných ze skupiny sestávající z O, N a S;

R^2 tvoří spolu s R^7 5 až 9 členný heterocyklus, volitelně substituovaný jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z nižšího alkylu, fenylu, alkoxy a hydroxy skupiny;

R^2 tvoří spolu s R^7 5 členný heterocyklus, kondenzovaný s arylem nebo heterocyklem;

R^7 , pokud není spojen s R^2 , a R^6 jsou nezávisle vybrány ze skupiny sestávající z H; alkylu; alkenylu; alkinylu; aralkylu; amino; alkylamino; hydroxy; alkoxy; arylamino; amido; alkylkarbonylu; arylkarbonylu; alkoxykarbonylu; aryloxy; aryloxykarbonylu; halogenalkylkarbonylu; halogenalkoxykarbonylu; alkylthiokarbonylu; arylthiokarbonylu; acyloxymethoxykarbonylu; cykloalkylu; bicykloalkylu; arylu; acylu; benzoylu; alkylu volitelně substituovaného jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z nižšího alkylu, halogenidu, hydroxy, halogenalkylu, kyano, nitro, karboxylových derivátů, amino, alkoxy, thio, alkylthio, sulfonylu, arylu, aralkylu, arylu volitelně substituovaného jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z halogenidu, halogenalkylu, nižšího alkylu, alkoxy, methylenedioxy, ethylenedioxy, alkylthio, halogenalkylthio, thio, hydroxy, kyanu, nitro, karboxylových derivátů, aryloxy, amido, acylamino, amino, alkylamino, dialkylamino, trifluoralkoxy, trifluormethylu, sulfonylu, alkylsulfonylu, halogenalkylsulfonylu, kyseliny sírové, sulfonamidu, arylu, kondenzovaného arylu, monocyklických heterocyklů, kondenzovaných monocyklických heterocyklů; monocyklických heterocyklů; monocyklických heterocyklů volitelně substituovaných jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z halogenidu, halogenalkylu, nižšího alkylu, alkoxy skupiny, methylenedioxy, ethylenedioxy, alkylthio, halogenalkylthio, thio, hydroxy, kyano, nitro, karboxylových derivátů, aryloxy, amido, acylamino, amino, alkylamino, dialkylamino, trifluoralkoxy, trifluormethylsulfonylu, alkylsulfonylu, kyseliny sírové, sulfonamidu, arylu, kondenzovaného arylu, monocyklických heterocyklů nebo kondenzovaných monocyklických heterocyklů; monocyklických heterocyklů volitelně substituovaných jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z halogenidu, halogenalkylu, nižšího

alkylu, alkoxy, aryloxy, amino, nitro, hydroxy, karbonylových derivátů, kyano, alkylthio, alkylsulfonylu, arylu, kondenzovaného arylu; monocyklických a bicyklických heterocykloalkylů; $-\text{SO}_2\text{R}^{10}$, kde R^{10} je vybrán ze skupiny sestávající z alkylu, arylu a monocyklických heterocyklů, přičemž jsou všechny volitelně substituovány jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z halogenidu, halogenalkylu, alkylu, alkoxy, kyano, nitro, amino, acylamino, trifluoralkylu, amido, alkylaminsulfonylu, alkylsulfonylu, alkylsulfonylaminu, alkylaminu, dialkylaminu, trifluormethylthio, trifluoralkoxy, trifluormethylsulfonylu, arylu, aryloxy, thio, alkylthio, a monocyklických heterocyklů; a



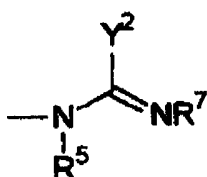
kde R^{10} je definován výše;

NR^7 a R^8 tvoří spolu 4 až 12 členný monocyklický nebo bicyklický kruh obsahující dusík, volitelně substituovaný jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z nižšího alkylu, karboxylových derivátů, arylu nebo hydroxy, a kde monocyklický nebo bicyklický kruh volitelně obsahuje heteroatom vybraný ze skupiny sestávající z O, N a S;

R^5 je vybrán ze skupiny sestávající z H, alkylu, alkenylu, alkynylu, benzylu a fenethylu;

nebo

A je

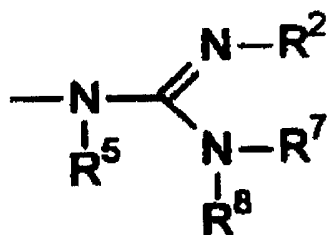


kde Y^2 je vybrán ze skupiny sestávající z alkylu; cykloalkylu; bicykloalkylu; arylu; monocyklických heterocyklů; alkylu volitelně substituovaného arylem, který může být též volitelně substituován jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z halogenu, halogenalkylu, alkylu, nitro, hydroxy, alkoxy, aryloxy, aryl nebo kondenzovaného arylu; arylu volitelně substituovaného jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z halogenu, halogenalkylu, hydroxy, alkoxy, aryloxy, arylu, kondenzovaného arylu, nitroskupiny, methylendioxy, ethylendioxy nebo alkylu; alkynylu; alkenylu; $-S-R^9$ a $O-R^9$, kde R^9 je vybrán ze skupiny sestávající z H; alkylu; aralkylu; arylu; alkenylu; a alkynylu; nebo R^9 tvoří spolu s R^7 4 až 12 členný heterocyklus obsahující jeden atom dusíku, síry nebo kyslíku, volitelně substituovaný nižším alkylem, hydroxy, keto, fenylem, karboxylem nebo esterem karboxylu a kondenzovaným fenylem; nebo R^9 tvoří spolu s R^7 thiazol; oxazol; benzoxazol; nebo benzothiazol; a

R^5 a R^7 jsou definovány výše;

Y^2 , pokud je Y^2 uhlík, tvoří spolu s R^7 4 až 12 členný cyklus obsahující jeden nebo dva atomy dusíku, volitelně substituován alkylem, arylem, keto nebo hydroxy;

A je



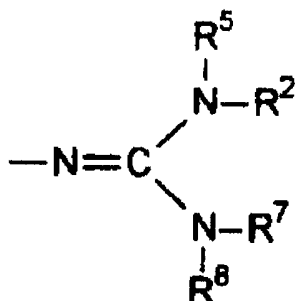
kde R^2 a R^7 tvoří spolu 5 až 8 členný heterocyklus obsahující dva atomy dusíku, který je volitelně substituován jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z nižšího alkylu, hydroxy, alkoxy, keto, fenylu nebo karboxylových derivátů; a R^8 je vybrán ze skupiny sestávající z alkylkarbonylu, arylkarbonylu, alkoxykarbo-

nylu, aryloxykarbonylu, halogenalkylkarbonylu, halogenalkoxykarbonylu, alkylthio-karbonylu, arylthiokarbonylu nebo acyloxymethoxykarbonylu; a

R^5 je definován výše

R^2 a R^7 tvoří spolu členný heterocyklus, jako imidazol nebo pyrimidon;

nebo A je



kde R^2 a R^7 tvoří spolu 5 až 8 členný heterocyklus obsahující dva atomy dusíku, který je volitelně substituován hydroxy, keto, fenylo nebo alkyl skupinou; a

R^8 jsou oba vybrány ze skupiny sestávající z alkylkarbonylu, arylkarbonylu, alkoxykarbonylu, aryloxykarbonylu, halogenalkylkarbonylu, halogenalkoxykarbonylu, alkylthiokarbonylu, arylthiokarbonylu a acyloxymethoxykarbonylu;

Z^1 je jeden nebo více substituentů vybraných ze skupiny sestávající z H; alkylu; hydroxy; alkoxy; aryloxy; halogenidu; halogenalkylu; halogenalkoxy; nitro; amino; alkylamino; acylamino; dialkylamino; kyano; alkylthio; alkylsulfonylu; karboxylových derivátů; trihalogenacetamidu; acetamidu; acylu; arylu; kondenzovaného arylu; cykloalkylu; thio; monocyklických heterocyklů; kondenzovaných monocyklických heterocyklů; a A, kde A je definováno výše;

V je vybráno ze skupiny sestávající z $-N-(R^6)-$, kde R^6 je vybrán ze skupiny sestávající z H; nižšího alkylu; cykloalkylu; aralkylu; arylu; a monocyklických heterocyklů; nebo R^6 tvoří spolu s Y 4 až 12 členný kruh obsahující jeden atom dusíku;

Y, Y^3 , Z a Z^3 jsou nezávisle vybrány ze skupiny sestávající z vodíku; alkylu; arylu; a cykloalkylu; nebo Y a Z spolu tvoří cykloalkyl; nebo Y^3 a Z^3 tvoří spolu cykloalkyl; n je celé číslo, 1, 2 nebo 3;

t je celé číslo, 0, 1 nebo 2;

p je celé číslo, 0, 1, 2 nebo 3;

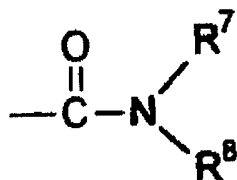
R je $X-R^3$, kde X je vybráno ze skupiny zahrnující O, S a NR^4 , kde R^3 a R^4 jsou nezávisle vybrány ze skupiny sestávající z vodíku; alkylu; alkenylu; alkynylu; halogenalkylu; arylu; arylalkylu; cukrů; steroidů; polyalkyletherů; alkylamido; alkyl N,N-dialkylamido; pivaloyloxymethylu; a v případě volné kyseliny všechny jejich farmaceuticky přijatelné soli;

R^1 je vybráno ze skupiny sestávající z vodíku, alkylu, alkenylu, alkynylu, arylu; karboxylových derivátů; halogenalkylů; cykloalkylů; monocyklických heterocyklů; monocyklických heterocyklů volitelně substituovaných alkylem, halogenidem, halogenalkylem, kyano, hydroxy, arylem, kondenzovaným arylem, nitro, alkoxy, aryloxy, alkylsulfonyl, arylsulfonyl; sulfonamidem; thio, alkylthio, karboxylovými deriváty, amino, amido;

alkyl je volitelně substituován jednou nebo více skupinou sestávající z halogenidu, halogenalkylu, hydroxy, alkoxy, aryloxy, thio, alkylthio, alkynylu, alkenylu, alkylu, arylthio, alkylsulfoxidu, alkylsulfonylu, arylsulfoxidu, arylsulfonylu, kyano, nitro, amino, alkylamino, dialkylamino, alkylksulfonamidu, arylsulfonamidu, acylamidu, karboxylových derivátů, sulfonamidu, kyseliny sírové, derivátů kyseliny fosforité, derivátů kyseliny fosforné, arylu, arylthio, arylsulfoxidu nebo arylsulfonu, přičemž jsou všechny volitelně substituovány na arylovém cyklu halogenidem, alkylem, halogenalkylem, kyano, nitro, hydroxy, karboxylovými deriváty, alkoxy, aryloxy, amino, alkylamino,

dialkylamino, amido, aryl, kondenzovaným arylem, monocyklickými heterocykly, a kondenzovanými monocyklickými heterocykly, monocyklickou heterocyklothio skupinou, monocyklickým heterocyklosulfoxidem a monocyklickým heterocyklickým sulfonem, který může být volitelně substituován halogenidem, halogenalkyl, nitro, hydroxy, alkoxy, kondenzovaným arylem nebo alkylem; alkylkarbonylem, halogenalkylkarbonylem a arylkarbonylem;

aryl může být volitelně substituován na jedné nebo více pozicích halogenidem, halogenalkylem, alkylem, alkoxy, aryloxy, methylendioxy, ethylendioxy, alkylthio, halogenalkylthio, thio, hydroxy, kyano, nitro, acyloxy, karboxylovými deriváty, karboxyalkoxy skupinou; amido, acylamino, amino, alkylamino, dialkylamino, trifluoralkoxy, trifluormethylsulfonyl, alkylsulfonyl, kyselinou sírovou, sulfonamidem, arylem, kondenzovaným arylem, monocyklickými heterocykly a kondenzovanými monocyklickými heterocykly; a

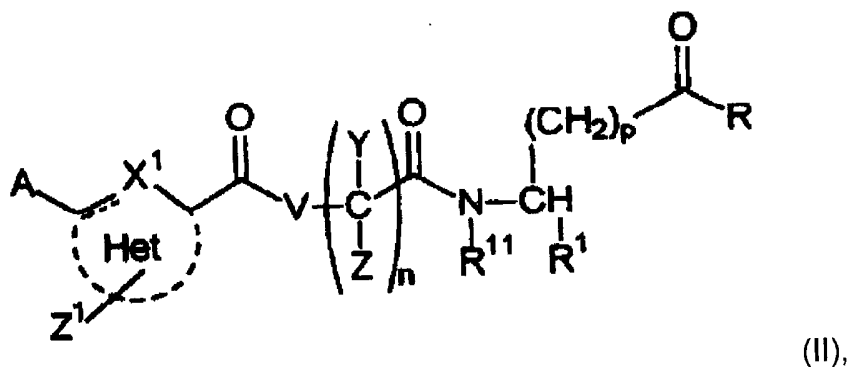


kde R^7 a R^8 jsou definovány výše a spolu s dusíkem, R^7 a R^8 zahrnují aminokyselinu; a

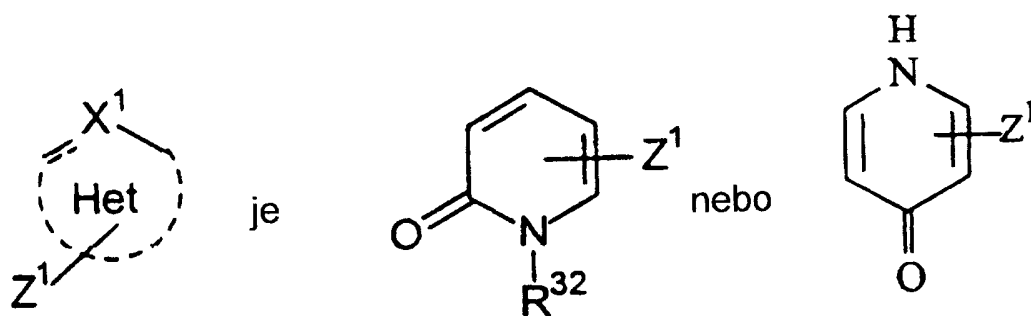
R^{11} je vybrán ze skupiny sestávající z H, alkylu, aralkylu, alkenyl, alkynylu, halogenalkylu nebo halogenalkynylu nebo R^{11} tvoří spolu s Y 4 až 12 členný cyklus obsahující jeden atom dusíku;

nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl.

2. Heterocyklický glycyl-beta-alaninový derivát podle nároku 1 obecného vzorce II

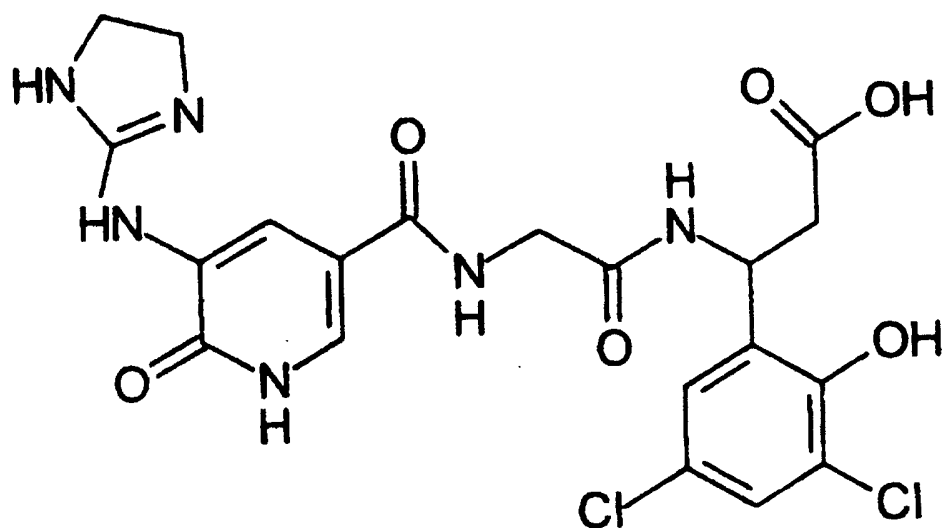
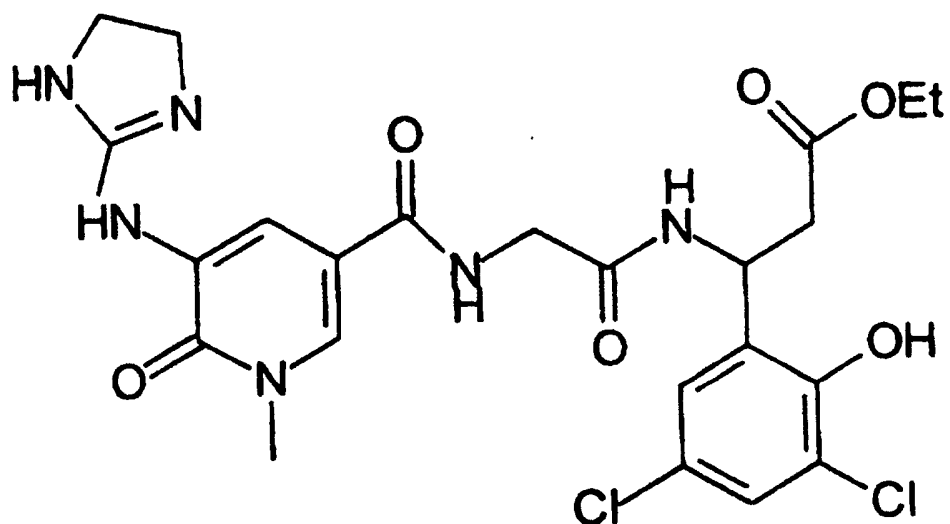


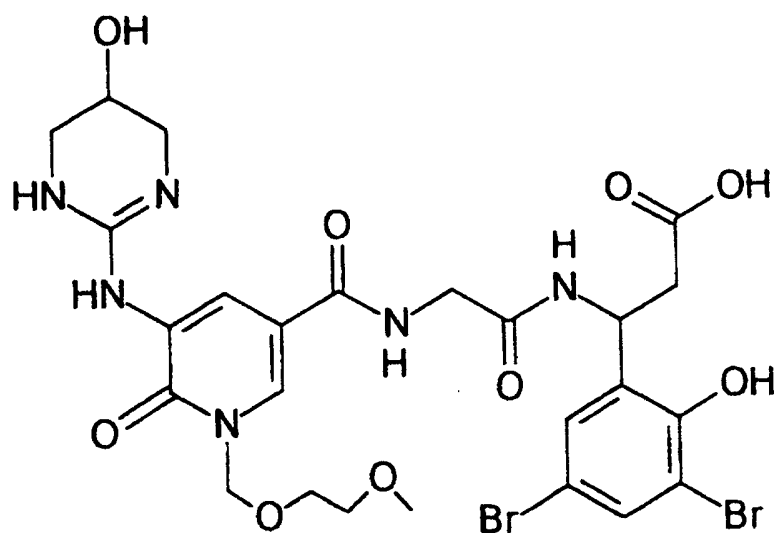
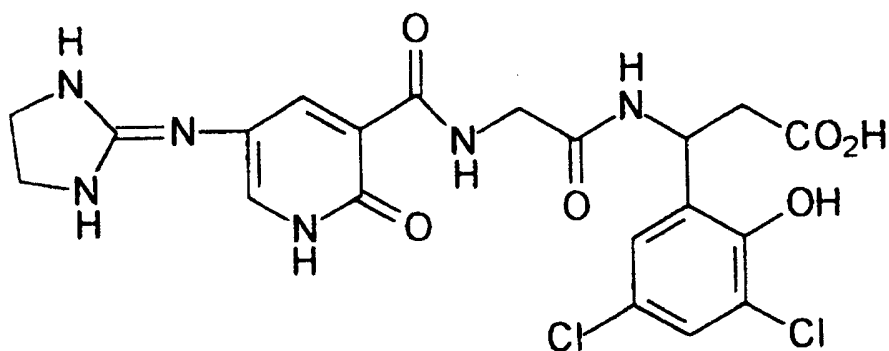
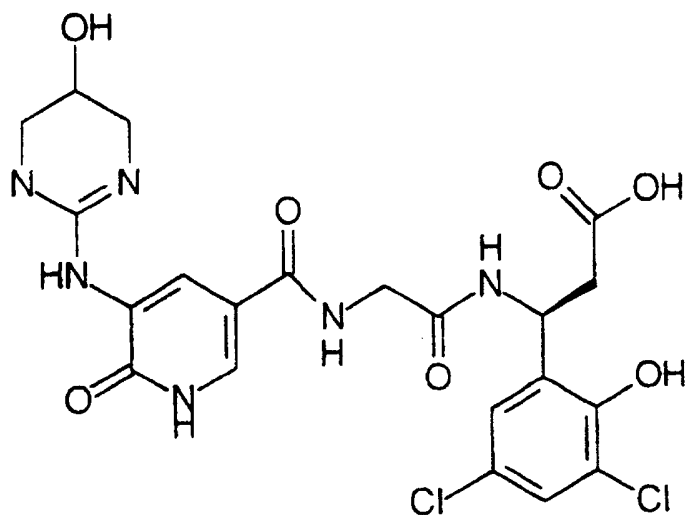
kde

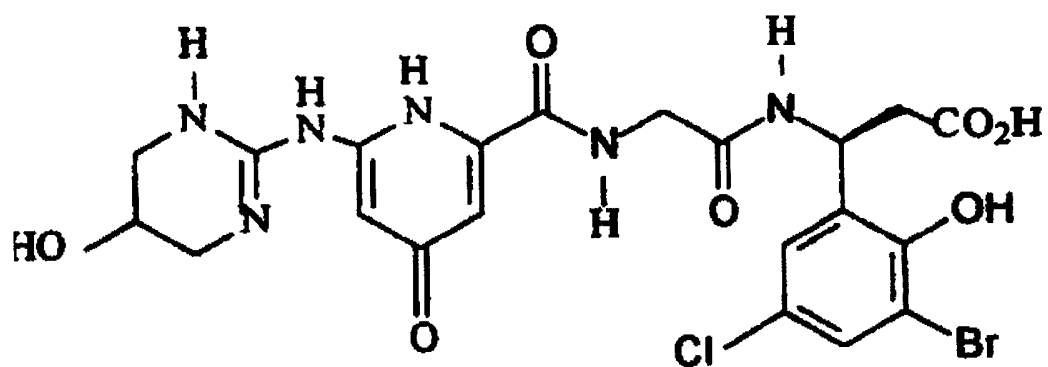
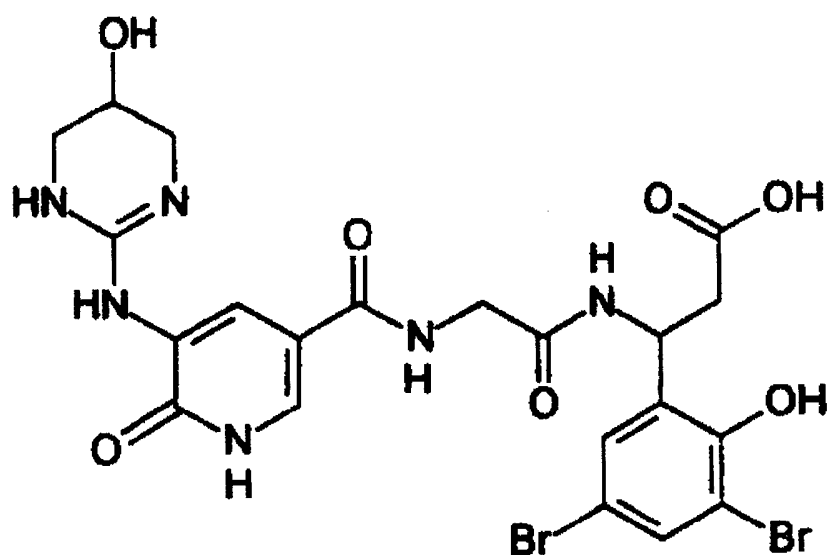


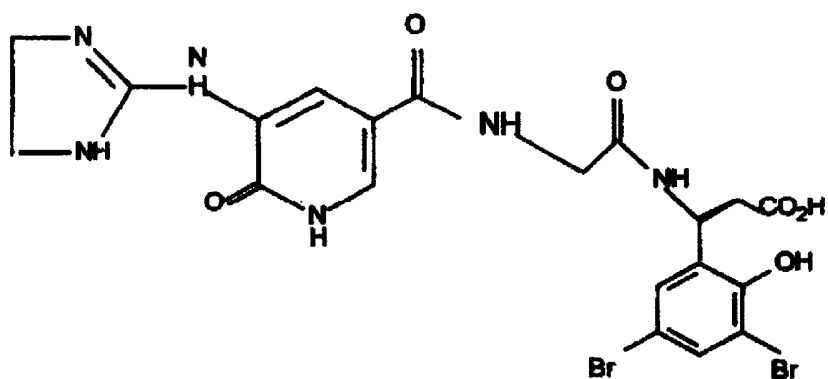
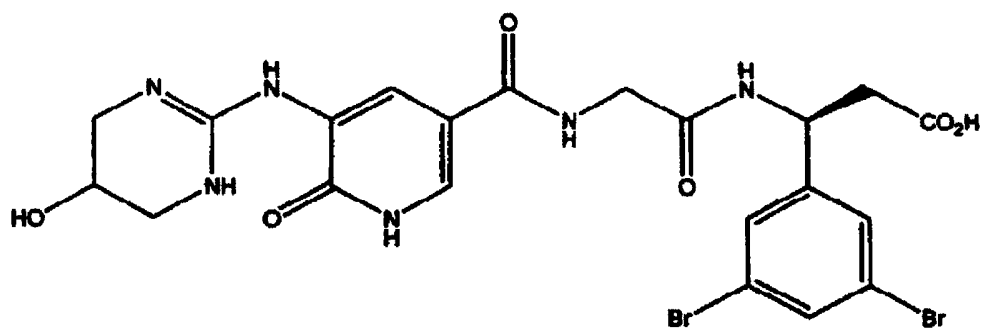
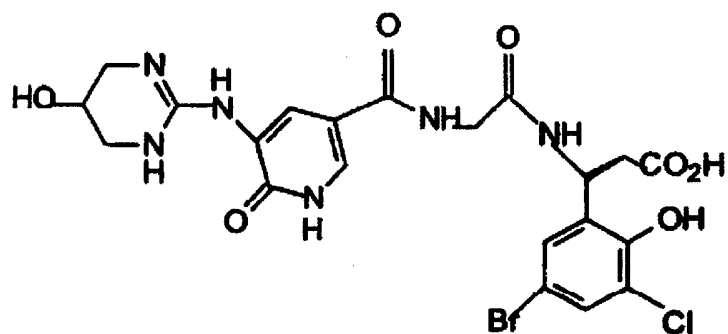
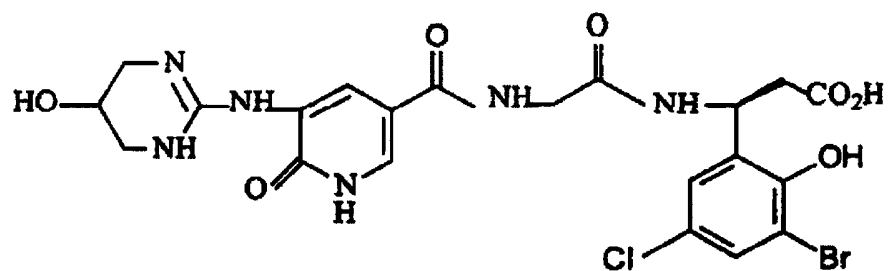
kde R^{32} je H, alkyl, alkoxyalkyl, aminoalkyl, dialkylaminoalkyl, kde alkylskupina je volitelně substituována jedním nebo více substituenty vybranými ze skupiny sestávající z hydroxy, alkoxy, amino, alkylamino, dialkylamino, arylu nebo alkylsulfonylu, karboxylu a karboxylových derivátů.

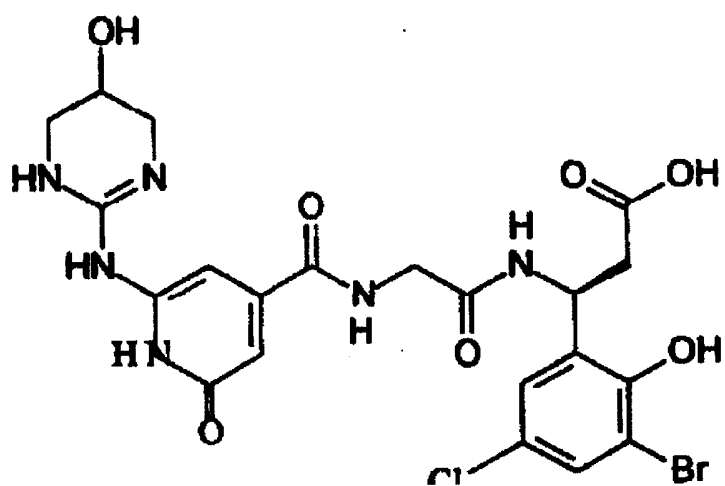
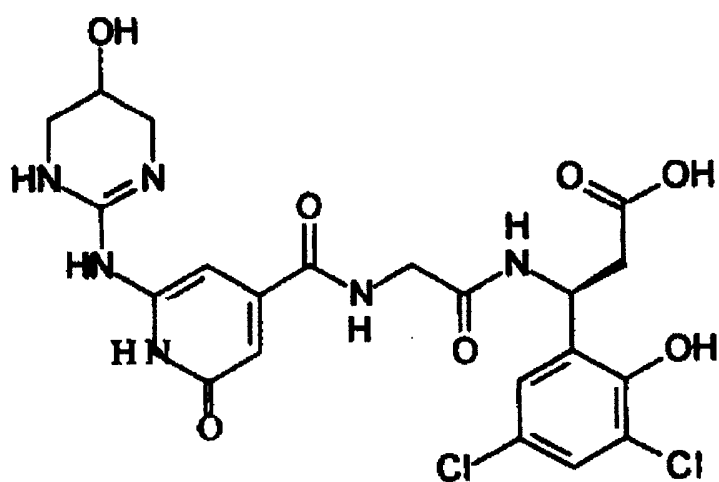
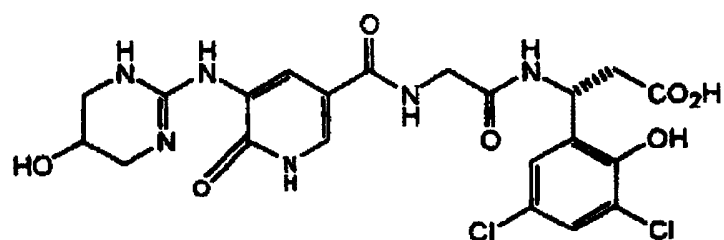
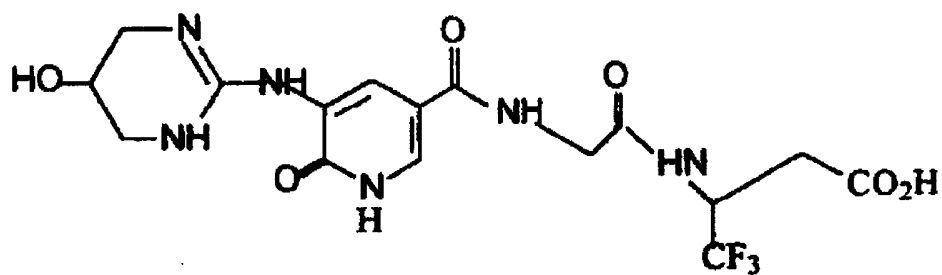
3. Heterocyklický glycyl-beta-alaninový derivát podle nároku 2, vybraný ze skupiny sestávající z

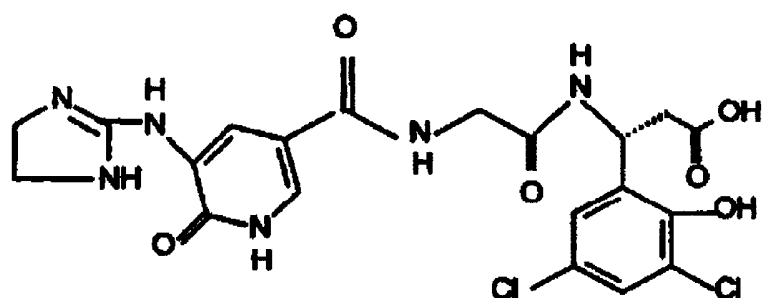
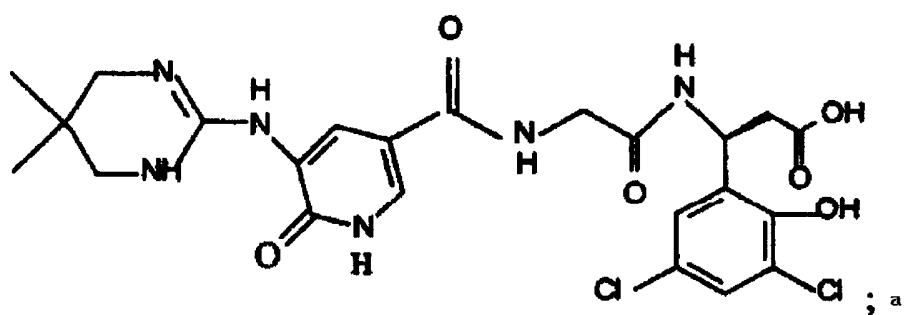
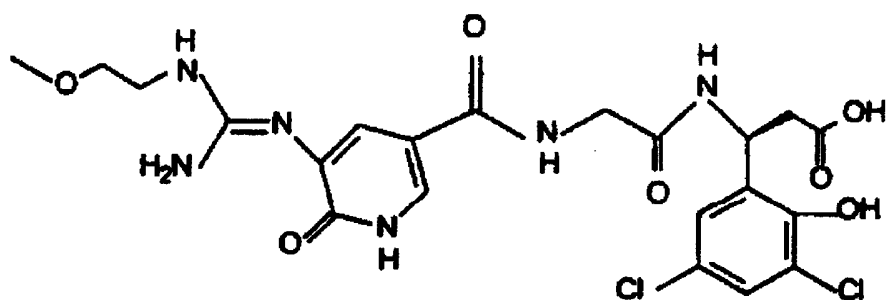




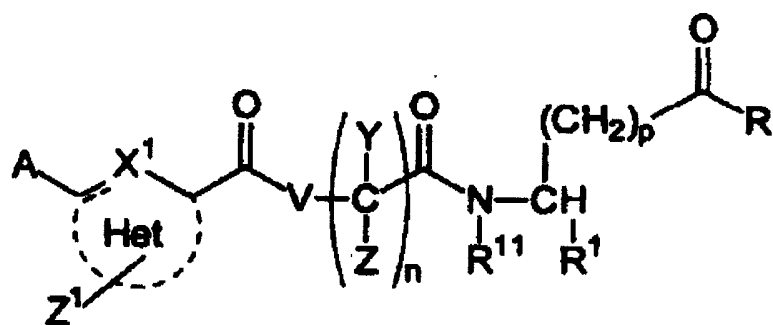






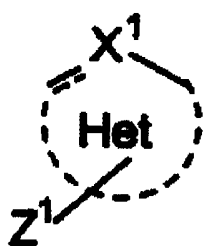


4. Heterocyklický glycy-beta-alaninový derivát podle nároku 1 obecného vzorce II



(II)

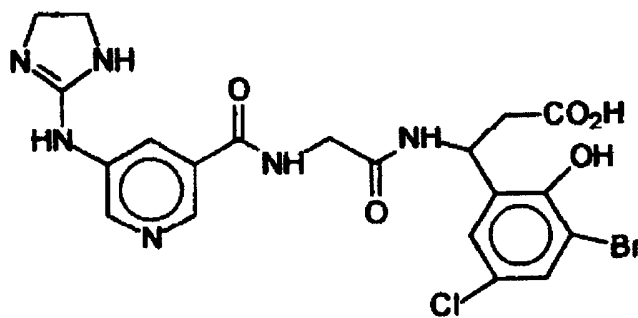
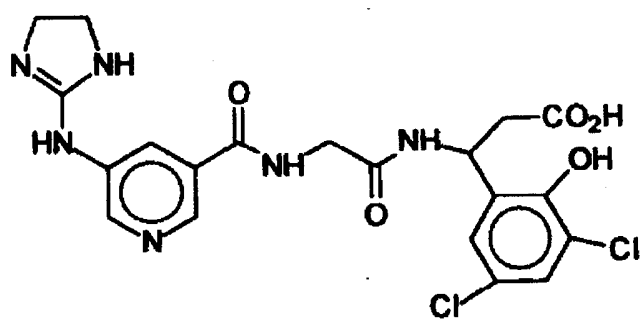
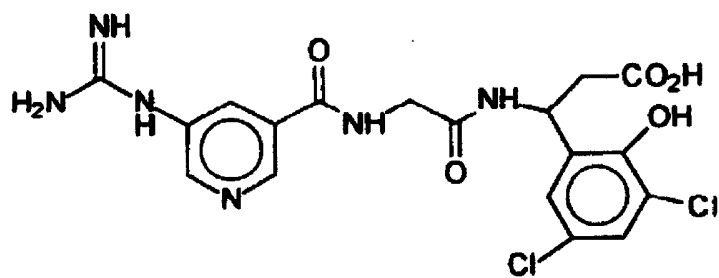
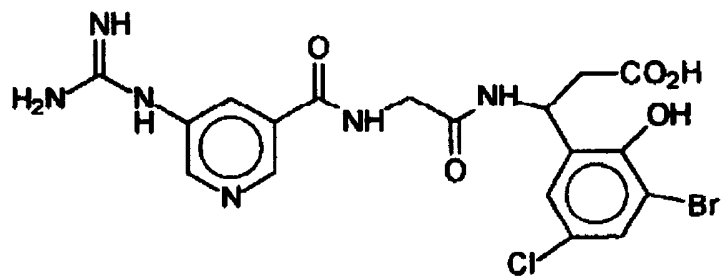
kde

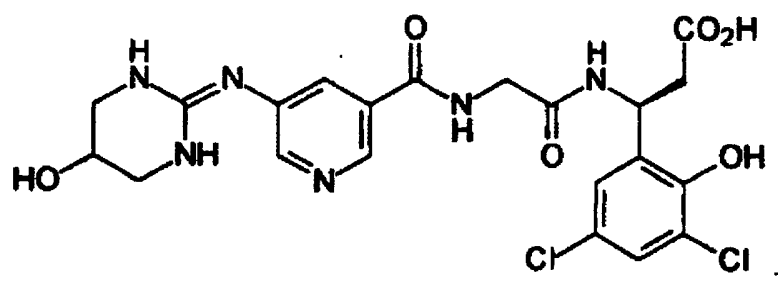
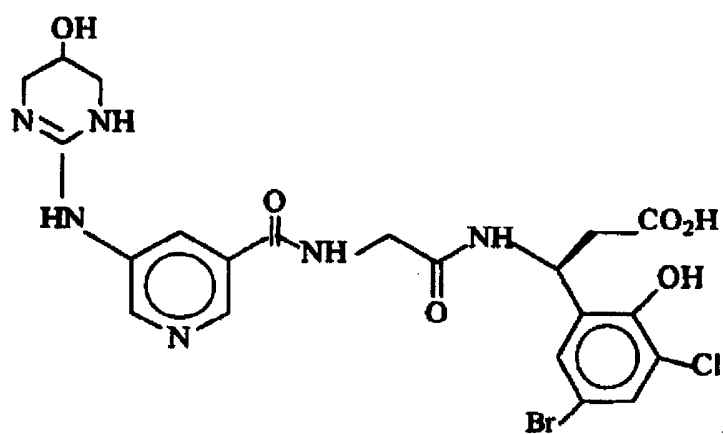
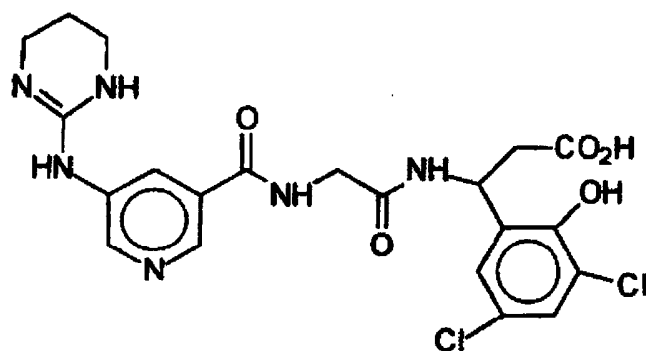
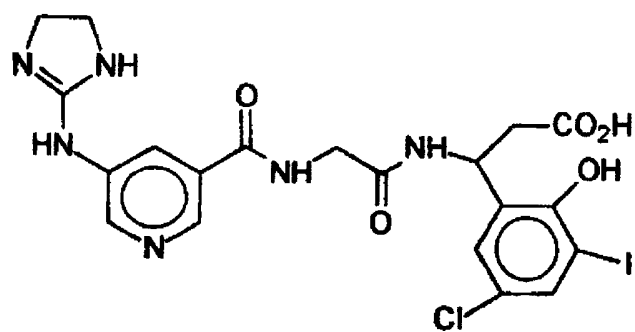


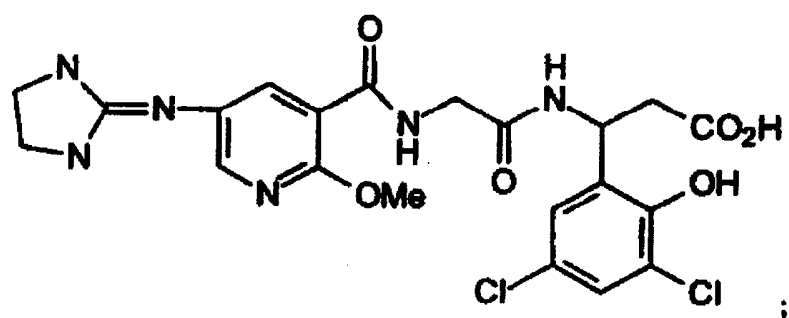
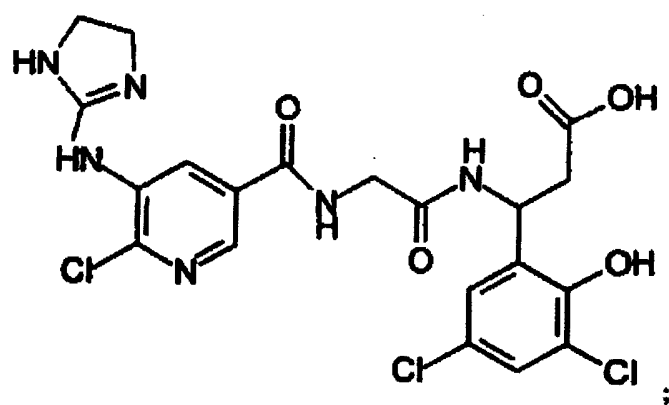
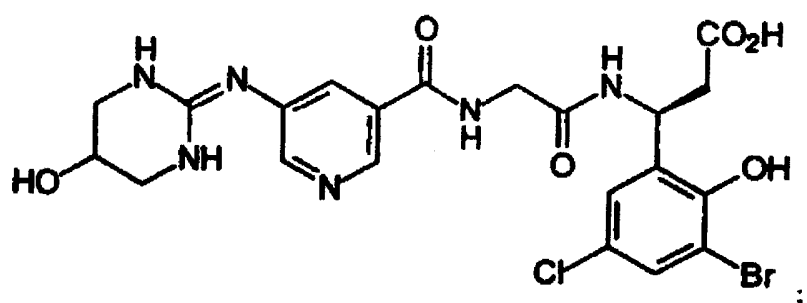
je

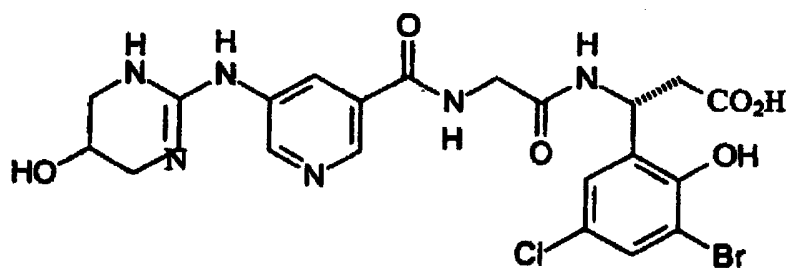
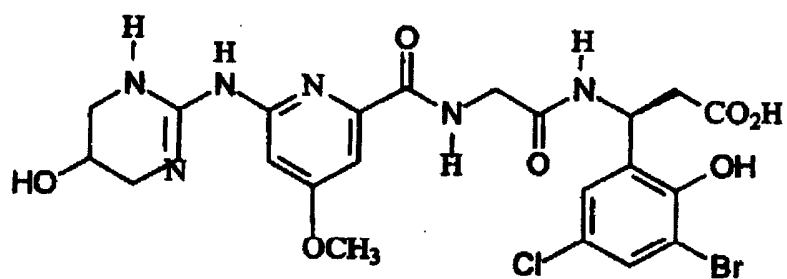
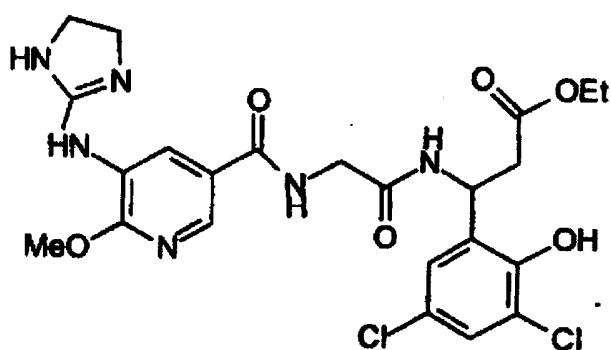
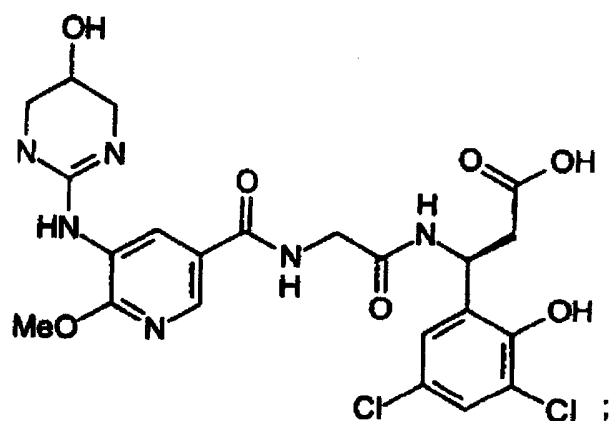


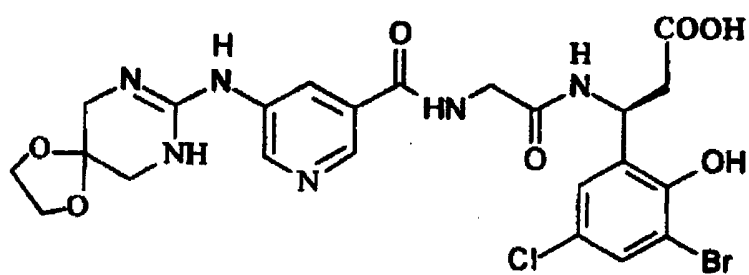
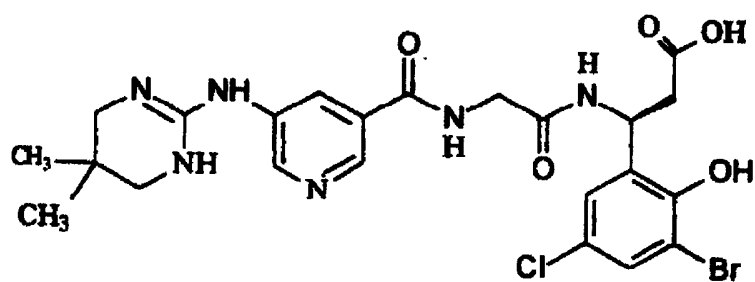
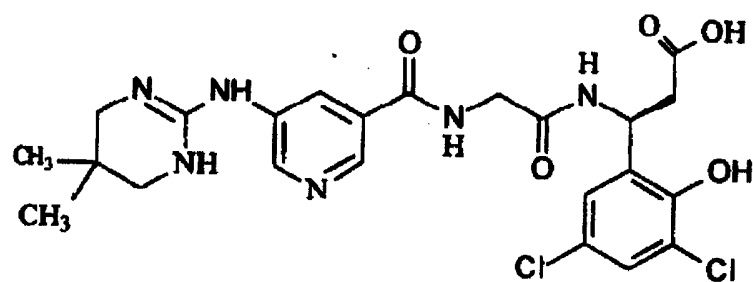
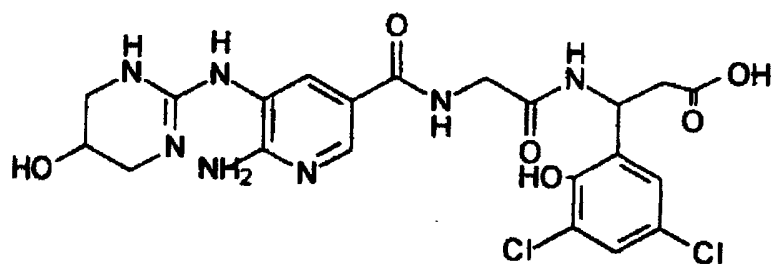
5. Heterocyklický glycyl-beta-alaninový derivát podle nároku 4, vybraný ze skupiny sestávající z

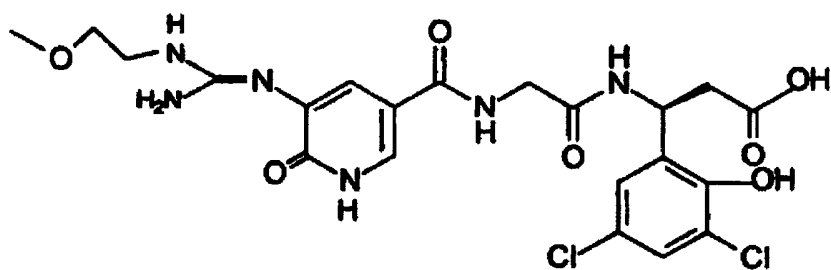
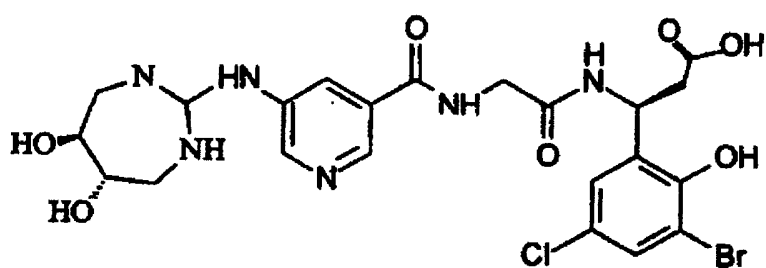
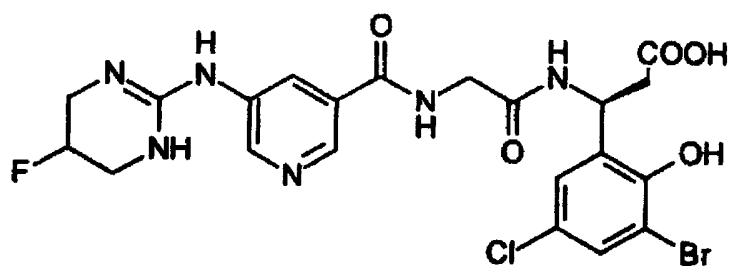




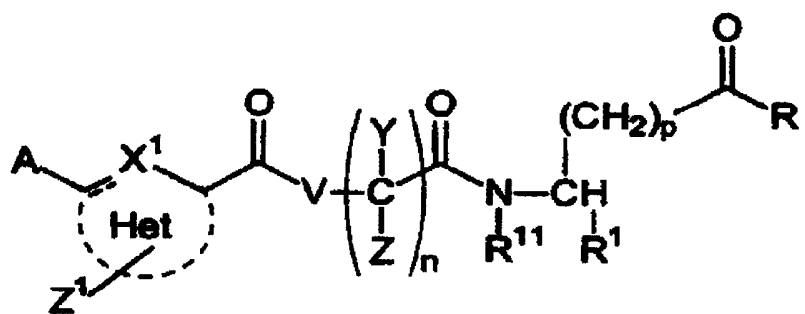






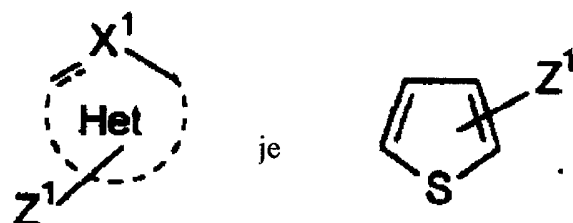


6. Heterocyklický glycy-beta-alaninový derivát podle nároku 1 obecného vzorce II

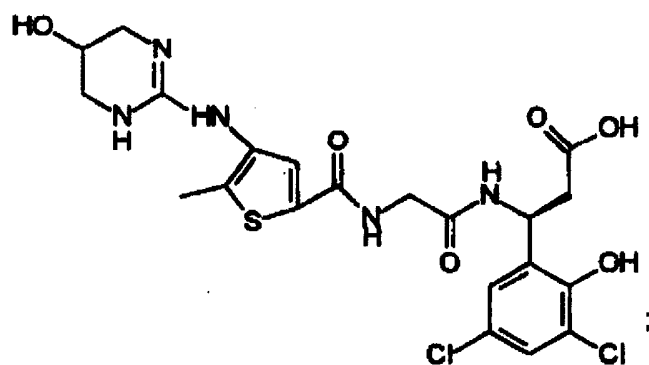
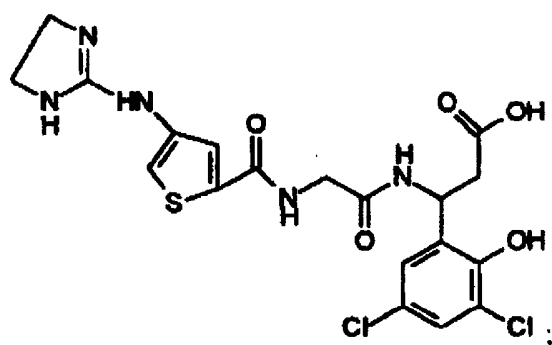
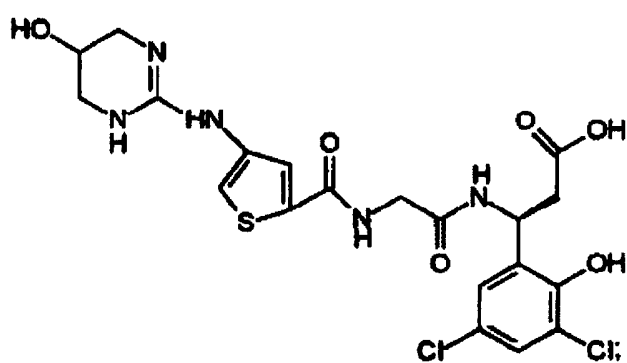


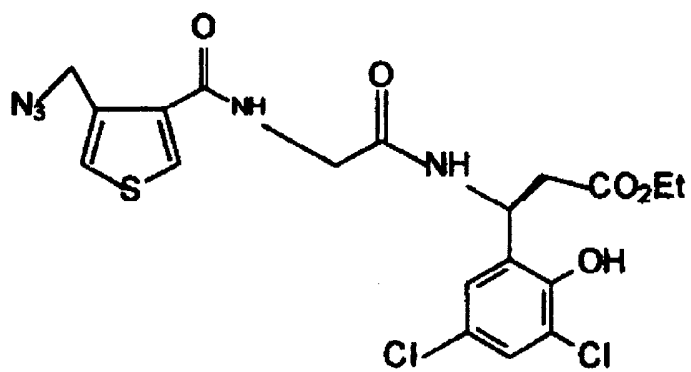
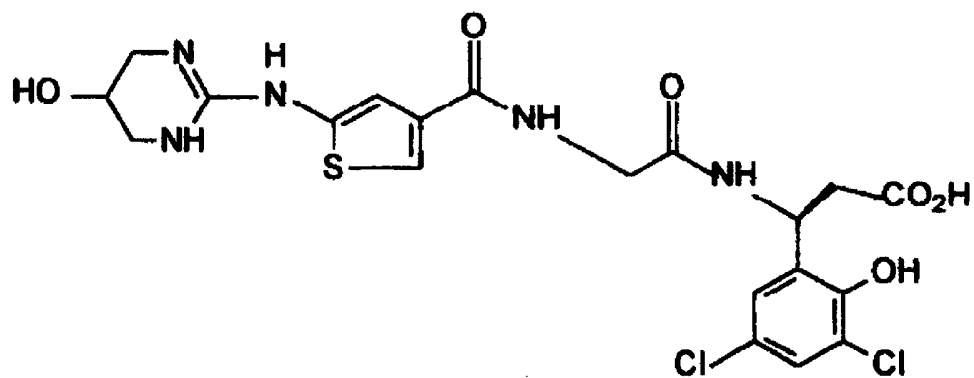
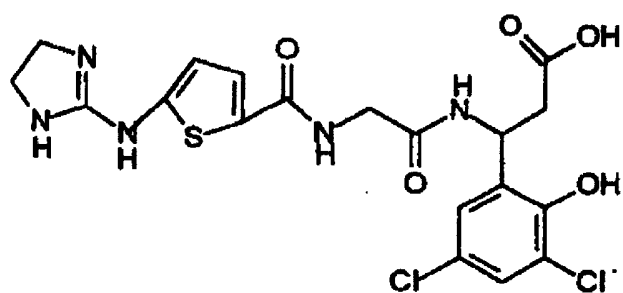
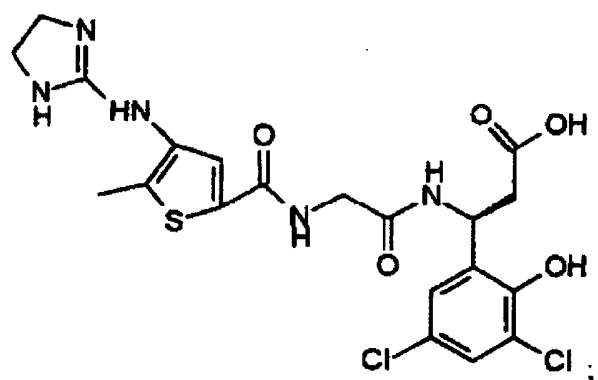
(II),

kde

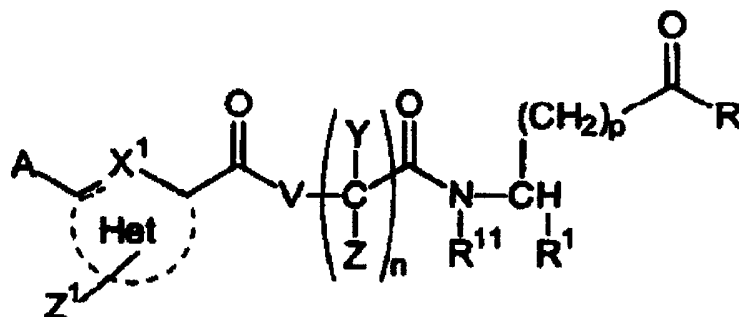


7. Heterocyklický glycyl-beta-alaninový derivát podle nároku 6 vybraný ze skupiny sestávající z



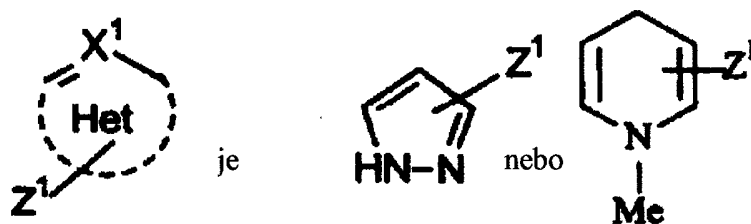


8. Heterocyklický glycy-beta-alaninový derivát podle nároku 1 obecného vzorce II

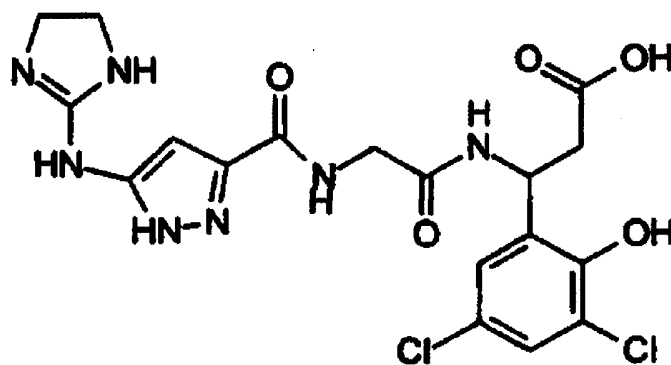


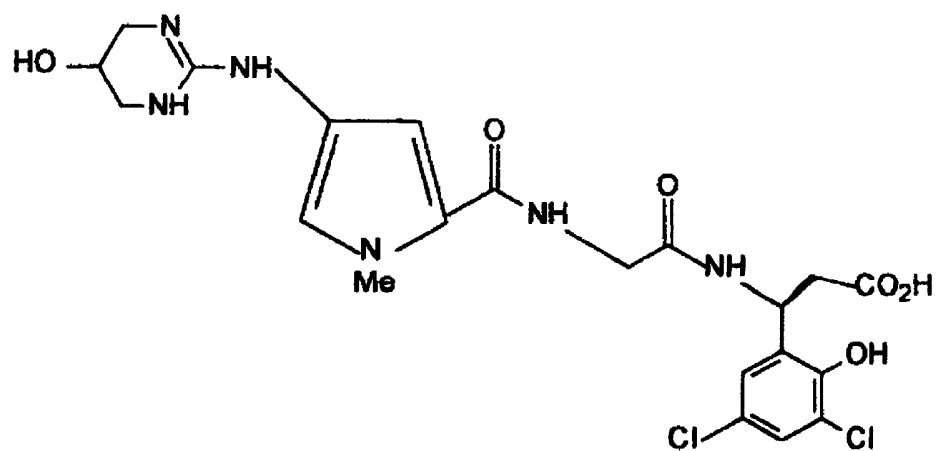
(II),

kde

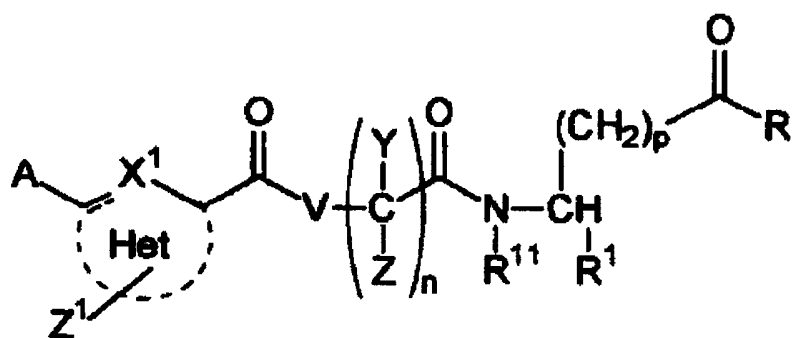


9. Heterocyklický glycy-beta-alaninový derivát podle nároku 8 vzorce



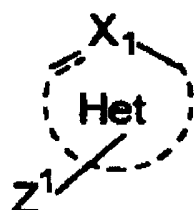


10. Heterocyklický glycy-beta-alaninový derivát podle nároku 1 obecného vzorce II

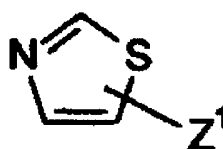


(II),

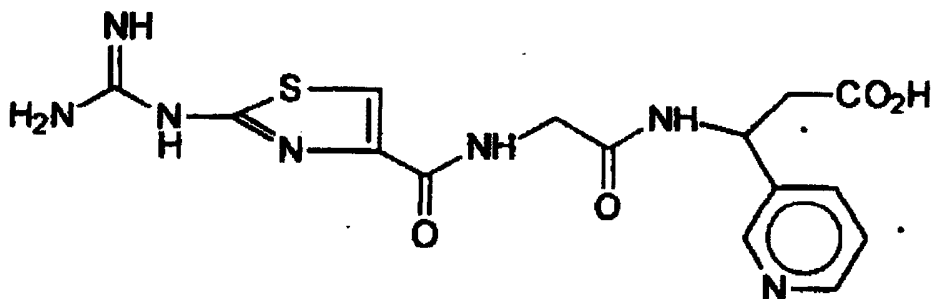
kde



je



11. Heterocyklický glycy-beta-alaninový derivát podle nároku 10 vzorce



12. Farmaceutická kompozice, vyznačující se tím, že obsahuje terapeuticky účinné množství sloučeniny podle nároku 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 nebo 11 a farmaceuticky přijatelný nosič.
13. Způsob léčby stavů vyvolaných integrinem $\alpha_v\beta_3$ u savce vyžadujícím tuto léčbu zahrnující aplikaci terapeuticky účinného inhibujícího množství $\alpha_v\beta_3$ sloučeniny podle nároku 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 nebo 11.
14. Způsob podle nároku 13, kde léčeným stavem jsou metastázy tumoru.
15. Způsob podle nároku 13, kde léčeným stavem je růst pevného tumoru.
16. Způsob podle nároku 13, kde léčeným stavem je angiogeneze.
17. Způsob podle nároku 13, kde léčeným stavem je osteoporóza.
18. Způsob podle nároku 13, kde léčeným stavem je humorální hyperkalcémie nebo zhoubné bujení.
19. Způsob podle nároku 13, kde léčeným stavem je migrace buněk hladkého svalstva.

20. Způsob podle nároku 13, kde je inhibována restenóza.
21. Způsob podle nároku 13, kde léčeným stavem je revmatoidní artritida.
22. Způsob podle nároku 13, kde léčeným stavem je makulární degenerace.