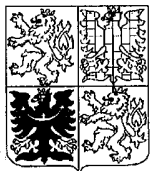


PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **10.12.1997**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **10.12.1996 10.12.1996**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1996/763278 1996/032321**

(33) Země priority: **US US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12.01.2000**
(Věstník č. 1/2000)

(86) PCT číslo: **PCT/US97/22811**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO98/25920**

(21) Číslo dokumentu:

1999 - 2048

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 401/12

C 07 D 205/04

A 61 K 31/44

A 61 P 25/04

(71) Přihlašovatel:

ABBOTT LABORATORIES, Abbott Park, IL,
US;

(72) Původce:

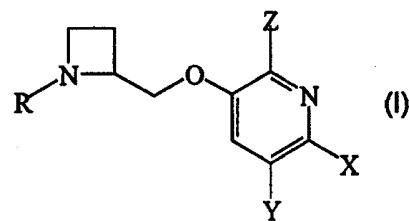
Holladay Mark W., Libertyville, IL, US;
Arneric Stephan P., Lindenhurst, IL, US;
Bai Hao, Garyslake, IL, US;
Dart Michael J., Highland Park, IL, US;
Lin Nan-Horng, Mundelein, IL, US;
Lynch John K., Kenosha, WI, US;
Or Yat Sun, Libertyville, IL, US;
Ryther Keith B., Round Lake Park, IL, US;
Sullivan James P., Deerfield, IL, US;
Wasicak James T., Waterford, WI, US;
Ehrlich Paul P., Libertyville, IL, US;

(74) Zástupce:

Guttmann Michal JUDr. Ing., Nad Štolou 12,
Praha 7, 170 00;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**3-Pyridylové enantiomery a jejich použití jako
analgetik**



(57) Anotace:

Předložené řešení se týká způsobu kontroly bolesti u savců, včetně lidí, spočívajícího v tom, že se savci nebo pacientovi, který takové ošetření potřebuje, podává sloučenina vzorce I nebo její farmaceuticky přijatelná sůl. Řešení se dále týká vybraných /R/ a /S/ sloučenin vzorce I, které jsou užitečné jako analgetika stejně jako preventiva odumírání neuronálních buněk a protizánětlivé prostředky.

3-PYRIDYLOVÉ ENANTIOMERY A JEJICH POUŽITÍ JAKO ANALGETIK

Tato přihláška je částečnou pokračovací přihláškou dosud projednávané US patentové přihlášky č. 08/763, podané 10. prosince 1996.

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká určitých (R) a (S)-enantiomerů třídy substituovaných 3-pyridyloxyalkylenazetidín-2-yl sloučenin majících výraznou účinnost jako analgetika. Vedle toho některé (R)-enantiomery mají překvapivě zlepšený profil toxicity proti odpovídajícím (S)-enantiomerům téhož druhu. Mimo to, že mají analgetickou účinnost, jsou sloučeniny také účinné při prevenci odumírání nervových buněk a jsou efektivní při léčení nebo prevenci zánětů.

Dosavadní stav techniky

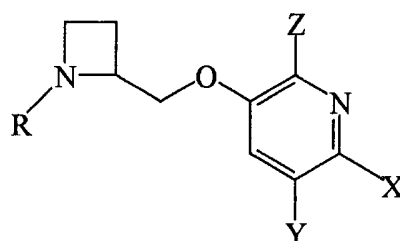
Vyhledávání účinnějších prostředků k ovládání bolesti neboli analgetik pokračuje a stává se významným cílem výzkumu mezi lékařskou veřejností. Podstatný počet zdravotních potíží a stavů způsobuje bolest jako součást potíže nebo stavu. Úleva od této bolesti je hlavním aspektem zlepšení či ošetřování celkové potíže nebo stavu. Bolest a její možné zmírnění je také charakteristickým znakem duševního a tělesného stavu individuálního pacienta. Jeden prostředek nebo třída prostředků proti bolesti nemusí být účinná u konkrétního pacienta nebo skupiny pacientů a to vede k potřebě nalézat další sloučeniny nebo farmaka, která jsou účinnými analgetiky. Dvěma hlavními třídami analgetik jsou opiáty a léčiva neopiátová (Dray A. a Urban L., *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **36**: 253-280, **1996**). Opiáty jako morfin působí na opiátové receptory v mozku tak, že blokují přenos signálu bolesti v mozku a míše (Cherney N. I., *Drug*, **51**: 713-737, **1996**). Opiáty jako morfin představují riziko abusu a narkomanie. Neopiátová léčiva jako nesteroidní protizánětlivé přípravky (NSAID) typicky, avšak nikoliv výhradně, blokují produkci prostaglandinů, aby zabránily senzibilaci nervových zakončení, která zprostředkovávají signál bolesti do mozku [Dray a spol., *Trends in Pharmacol. Sci.*, **15**: 190-197, **1994**.; Carty T. J. a Marfat A., "COX-2 Inhibitors. Potencial for reducing NSAID side-effects in treating inflammatory diseases" v Emerging Drugs: Prospect

for Improved Medicines. (vydavatelé: W. C. Bowman, J. D. Fitzgerald a J. B. Taylor), Ashley Publications Ltd., Londýn, kapitola 19, str. 391-411]. Většina běžně předepisovaných nebo normálně prodáváných (OTC) NSAIDs je také obvykle doprovázena nějakým vedlejším účinkem jako vznikem žaludečních vředů nebo bolesti žaludku. Na příklad o NSAID jako je aspirin je také známo, že způsobuje podráždění a vznik vředů žaludku a dvanácterníku.

WO 94/08922 popisuje sloučeniny pyridyletheru, které zvyšují kognitivní funkci. US patentové přihlášky 08/474,873 a 08/485,537 popisují určité substituované sloučeniny pyridyletheru stejně jako jiné sloučeniny, které způsobují na receptoru nikotinického acetylcholinu stimulování nebo inhibování uvolnění neurotransmiterů. WO 96/31475 popisuje určité deriváty 3-substituovaného pyridinu, o kterých se uvádí, že jsou užitečné při různých potížích jako modulátory receptorů acetylcholinu. Zatímco některé z těchto referencí nepřímo poukazovaly na kontrolu bolesti jako potenciálního uplatnění sloučenin nebo analogů tam uvedených, přihlašovatelé zjistili, že určitá úzká třída sloučenin níže uvedeného vzorce I má překvapující a neočekávaný velice silný analgetický účinek. Přihlašovatelé také našli, že aktivita na straně receptoru nikotinického acetylcholinu (např. vazba k němu) není nezbytně korelována s účinností sloučeniny jako analgetika, poněvadž některé ze sloučenin, které mají vysokou vazebnou afinitu jsou jako analgetika neúčinné. Přihlašovatelé dále zjistili, že některé (R)-enantiomery v těchto seriích jsou zvláště přitažlivé pro zvýšený profil bezpečnosti ve srovnání s (S)-enantiomery. Přihlašovatelé také našli, že patentovou přihláškou nárokované sloučeniny azetidinylyl substituovaného 3-pyridylmethylenetheru mají při ošetřování bolesti, stejně jako při prevenci odumírání nervových buněk a zánětu, vyšší účinnost než třída známých sloučenin bez azetidinylového zbytku.

Podstata vynálezu

Předložený vynález se týká způsobu kontroly bolesti u savců, včetně lidí, spočívajícího v tom, že se savci nebo pacientovi, který takové ošetření potřebuje, podává sloučenina vzorce I:



I

nebo její farmaceuticky přijatelná sůl, kde

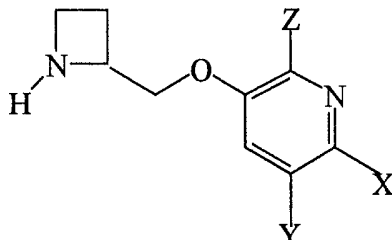
R je voleno mezi H nebo derivátem prekursoru léčiva;

Z je voleno mezi H, F nebo Cl;

X je voleno mezi H, F, Br, Cl, CN, CHF₂, OMe, CH₂F, nebo C₁₋₂-alkylem a

Y je voleno mezi H, F, Cl, Br, C₁₋₆-alkylem, vinylem, ethinylem, 3-propenylem, NO₂ nebo C₁₋₂-alkylem.

V preferovaném provedení má podávaná sloučenina vzorec IA:



IA

nebo její farmaceuticky přijatelné soli, kde

R je voleno mezi H nebo derivátem prekursoru léčiva;

Z je voleno mezi H, F nebo Cl;

X je voleno mezi H, F, Br, Cl, CN, CHF₂, OMe, CH₂F, nebo C₁₋₂-alkylem a

Y je voleno mezi H, F, Cl, Br, C₁₋₆-alkylem, vinylem, ethinylem, 3-propenylem, NO₂ nebo C₁₋₂-alkylem.

Předložený vynález se také týká způsobu ošetřování nebo ovládání bolesti u pacienta, u něhož je takového ošetření zapotřebí, spočívajícího na podávání sloučeniny nebo farmaceuticky přijatelné soli vzorce I, s variantami jak je shora uváděno, při čemž sloučenina je (S)-enantiomerem na chirálním centru v poloze 2 azetidinového kruhu. Opačně se vynález týká také způsobu ošetřování nebo

ovládání bolesti u pacienta, u něhož je takového ošetření zapotřebí, spočívajícího na podávání odpovídajícího (R)-enantiomeru, u něhož X je voleno ze skupiny sestávající z F a Cl; a Y je H, přičemž (R)-enantiomerní sloučenina vzorce II, má zlepšený profil bezpečnosti proti (S)-enantiomeru stejného druhu.

Předložený vynález se také týká způsobu ošetřování bolesti spočívajícího na společném podávání sloučeniny vzorce I s opiátovým narkotikem jako je morfin, při čemž kombinovaný režim účinněji působí při bolesti a má výrazný efekt pro zabraňování jejího vzniku. Předložený vynález se týká způsobu ošetřování nebo prevence bolesti u lidí nebo zvířat spočívající na podávání sloučeniny vzorce I v dávce kolem 0,2 $\mu\text{mol/kg}$, i.p. spolu s morfinem v dávce od kolem 2,6 do 21 $\mu\text{mol/kg}$ i.p. pacientovi, který takové ošetření potřebuje. Sloučeniny podle vynálezu mohou být podávány spolu s jinými běžnými, bezpečnými a účinnými, bolest tišícími narkotiky, které jsou dobře známy odborníkům se zkušenostmi v oblasti zmírňování bolesti a takové společné podávání je zde zahrnováno do rozsahu způsobů použití.

Předložený vynález se také týká nových sloučenin, které jsou účinnými modulátory nikotinických acetylcholinových receptorů a efektivními regulátory bolesti, při čemž řečené sloučeniny jsou voleny mezi sloučeninou IA nebo její farmaceuticky přijatelnou solí, kde Z, Y, X, resp. stereochemie 2-azetidinu je volena ze skupiny, kterou tvoří:

- H, H, Me (S);
- H, H, Me (R);
- H, H, CN (S);
- H, H, Cl (S);
- H, H, Cl (R);
- H, H, Br (R);
- H, H, F (S);
- H, H, F (R);
- H, H, CHF₂ (S);
- H, H, OMe (R);
- H, Me, Cl (S);
- H, Me, Cl (R);
- H, Et, F (S);
- H, ethenyl, Cl (S);

H, ethenyl, Cl (R);
H, ethenyl, F (S);
H, ethenyl, F (R);
H, ethinyl, Cl (S);
H, ethinyl, Cl (R);
H, Cl, Cl (S);
H, Cl, Cl (R);
H, Cl, F (S);
H, Br, Me (S);
H, Br, Me (R);
H, Br, Cl (S);
H, Br, Cl (R);
H, Br, F (S);
H, Br, F (R);
H, Me, H (R);
H, n-Pr, H (S);
H, ethenyl, H (S);
H, ethenyl, H (R);
H, 3-propenyl, H (S);
H, Cl, H (R);
H, F, H (S);

H, NO₂, H (S);
H, OEt, H (S);

Cl, H, H (S);
Cl, H, H (R);
F, H, H (S);
F, H, F (S);
F, H, Me (S); a
F, H, Me (R).

Preferovanými sloučeninami jsou ty, které jsou účinné jako analgetika, modifikátory odumírání nervových buněk nebo protizánětlivá léčiva.



Předkládaný vynález se týká také farmaceutických komposic obsahujících sloučeninu vzorce I s různými R, X, Y, Z a stereochemií, jak je svrchu popsáno a farmaceuticky přijatelným excipientem nebo ředidlem a také forem dávek takovou komposici obsahujících. Vynález se dále týká způsobu přípravy sloučenin vzorce I, který je dále níže popsán, a klíčových intermediátů v takovém způsobu využívaných.

Předkládaný vynález se také týká derivátů prekursorů léčiv se vzorcem I, kde R je voleno ze skupiny obsahující alkyl, acyl, alkoxykarbonyl, aryloxykarbonyl, amidomethyl, případně substituovaný vinyl a karbamyl. Acyl může obsahovat různé substituenty včetně případně derivatisovaných aminokyselin spojených s dusíkem amidovou vazbou.

Předložený vynález se týká způsobu ošetřování nebo kontroly bolesti, zahrnující podávání farmaceuticky účinného množství sloučeniny vzorce I s různými Z, X a Y, jak je shora definováno, pacientovi, který takové ošetření potřebuje. Vynález se také týká určitých sloučenin a farmaceutických komposic. Pro účely tohoto vynálezu jsou termíny používané v patentových nárocích definovány níže:

"Pacient, který takové ošetření potřebuje" je definován široce tak, že je míněn lidský nebo veterinární zvířecí pacient, který potřebuje bolest utišující prostředek pro zmírnění nebo ovládnutí pocitů bolesti spojených se současným (akutním) nebo chronickým zdravotním stavem nebo potíží.

"Farmaceuticky přijatelná sůl" je definována tak, že jsou míněny ty soli, které jsou v rozsahu běžného lékařského úsudku vhodné k použití při kontaktu s lidskými a zvířecími tkáněmi, aniž by působily toxicky, vyvolávaly podráždění, alergické odezvy a podobné a jsou účinné vzhledem k uvažovanému použití jako modulátory bolesti, modulátory odumírání nervových buněk nebo protizánětlivé prostředky. Farmaceuticky přijatelné soli jsou v oboru běžně známé. K tomu viz na příklad S. M. Berge *a spol.*, v *J. Pharm. Sci.*, 66: 1 - 19 (1997). Soli mohou být připravovány *in situ* během finální izolace a čištění sloučenin vzorců I - III, nebo odděleně reakcí volné base s vhodnou organickou kyselinou. Reprezentativní adiční soli kyselin představuje tosylát, benzoát, naftalensulfonát, hydrochlorid, hydrobromid, sulfát, bisulfát, acetát, oxalát, valerát, oleát, palmitát, stearát, laurát, borát, benzoát, laktát, fosfát, toluensulfonát, methansulfonát, naftalensulfonát, citrát, malát, fumarát,

sukcinát, tartarát, askorbát, glukohexonát, laktobionát, laurylsulfát a podobné. Preferovanou solí je tosylát. Vynálezci zjistili, že tosylát je méně hygroskopický, více krystalický, stabilnější, má vyšší bod tání a dá se čistit snadněji než ostatní soli. Vedle toho se tosylát lépe hodí pro farmaceutické formulace.

"Prekursor léčiva" nebo "farmaceuticky přijatelný prekursor léčiva" je definován tak, že se míní sloučenina, která se rychle *in vivo* transformuje na matečnou sloučeninu, jako na příklad hydrolysou v krvi a během postupu sloučeniny *per se* k místu farmakologického působení. T. Higuchi a V. Stella poskytují zevrubnou diskusi konceptu prekursoru léčiva v Prodrugs as Novel Delivery Systems, svazek 14 v A.C.S. Symposium Series, A.C.S. (1975). Takové prekursory jsou zde zahrnovány v rozsahu způsobu použití. Příklady prekursorů léčiv představují farmaceuticky přijatelné netoxické deriváty azetidinového dusíku včetně amidů odvozených od karboxylových kyselin s C₁-C₆-alkylem, u nichž řetězec alkylu je přímý nebo rozvětvený anebo od aromatických kyselin jako derivátů kyseliny benzoové. Ty mohou být připraveny obvyklými způsoby. Amidy mohou být odvozeny také od aminokyselin. Jiné prekursory léčiv zahrnují alkyllderiváty a karbamoylderiváty azetidinového dusíku. Specifické příklady prekursorových species jsou uvedeny níže.

Vynálezci zjistili, že prekursory vzorce I, kde R není H, se bude *in vivo* štěpit na sloučeninu vzorce I, kde R je H. Jako příklad bylo ukázáno, že k metabolické dealkylaci N-alkylazetidinů dochází *in vivo*. Tak analýza vzorků zvířecí krve získaných po době osmi hodin po IP injekci 1,9 μmol/kg N-methyl sloučeniny z příkladu 98 ukázala, že k podstatné dealkylaci na N-analog z příkladu 8 dochází během 15 minut. Vznikající hladiny sloučeniny z příkladu 8 v plasmě jsou v rozmezí poskytnutém efektivní IP dávkou sloučeniny a naznačují, že analgetický efekt jejího N-methyl prekursoru je třeba přičítat jeho *in vivo* konverzi na aktivní N-H formu. Na základě měření plochy pod křivkou je účinnost konverse pro N-methylsloučeninu odhadována na 16 %. Podobně IP podávání N-ethyl (příklad 99) nebo N-propyl (příklad 100) analoga krysám vede k *in vivo* konverzi na sloučeninu z příkladu 8 se zlepšenými účinnostmi (54 % pro N-ethyl, 30 % pro N-propyl) ve srovnání s N-methyl analogem.

Další prekursory, které vykazují analgetickou účinnost jsou sloučeniny vzorce I, kde R, Z, Y, X, resp. stereochemie 2-azetidinu jsou následující:

methyl, H, Cl, H, (S),

methyl, H, H, F, (S),

methyl, H, Br, Cl, (S),
 methyl, H, H, Cl, (R),
 methyl, H, Br, Cl, (R),
 methyl, H, 3-propenyl, Cl, (S),
 methyl, H, methyl, Cl, (S),
 methyl, H, F, H, (R),
 Boc, H, H, Cl, (R),
 methyl, H, ethyl, F, (R),
 ethyl, H, H, Cl, (R),
 methyl, H, H, CH₂F, (S),
 methyl, H, methyl, Cl, (R),
 ethyl, H, H, methyl, (S),
 methyl, H, methyl, ethyl, (S),
 methyl, H, Cl, F, (S),
 cyklohexylmethyl, H, H, F, (R),
 t-pentyl, H, H, Cl, (R),
 3-methylbutin 3-yl, H, H, Cl, (R),
 ethyl, H, H, methyl, (R),
 methyl, H, methoxy, H, (S),
 t-butyl, H, H, methyl, (S),

"Farmaceuticky přijatelný nosič nebo ředidlo" znamená netoxické, inertní tuhé nebo polotuhé anebo kapalné plnivo, ředidlo, enkapsulační materiál nebo pomocné formulační prostředky jakéhokoli typu. Některé z příkladů představují cukry jako laktosa, glukosa a sacharosa; škroby jako pšeničný škrob a bramborový škrob; celuloza a její deriváty jako sodná sůl karboxymethylcelulosy, ethylceluloza a acetát celulosy; práškový tragant; slad; želatina, mastek; alginátové klovatiny; excipienty jako kakaové máslo a vosky pro čípky nebo jiné vosky; oleje jako podzemnicový olej, bavlníkový olej, saflorový olej, sezamový olej, olivový olej, kukuřičný olej a sojový olej; glykoly jako propylenglykol, polyoly jako glycerol, sorbitol, mannitol a polethylenglykol; estery jako ethyl oleát a ethyl laurát; agar; ústojná činidla jako hydroxid hořečnatý a hydroxid hlinitý; alginová kyselina, voda prostá pyrogenů, isotonický fyziologický roztok soli; Ringer-ova soluce; ethylalkohol a roztoky fosfátových pufrů, právě tak jako jiné netoxické kompatibilní substance užívané při farmaceutických formulacích. V kompozici mohou být podle uvážení formulátora

přítomna také zvlhčovačla, emulsifikátory a maziva jako laurylsulfát sodný a magnesium stearát, právě tak jako barvící prostředky, uvolňující prostředky, potahovací činidla, sladidla, příchutě a aromatická činidla, konzervační činidla a antioxidanty. Příklady farmaceuticky přijatelných antioxidantů představují ve vodě rozpustné antioxidanty jako je askorbová kyselina, hydrochlorid cysteinu, bisulfit sodný, metabisulfit sodný, siřičitan sodný a podobné. Použity mohou být také v oleji rozpustné antioxidanty a chelatisační činidla kovů.

"Terapeuticky účinné množství" analgetika znamená množství sloučeniny dostačující při ošetřování bolesti pro získání požadované terapeutické odezvy. Znamená také množství nezbytné pro inhibici odumírání nervových buněk při stavech spojených s centrální a periferní neuropatickou bolestí, která může zahrnovat, ale neomezuje se jen na AIDS, rakovinu, mrtvici, Parkinsonovu chorobu, diabetes, osteoartritidu, tkáňové trauma, chirurgický zákrok a postherpetickou neuralgii nebo pro utišování, redukci nebo prevenci zánětu v daném místě. Je třeba pochopit, že celková denní dávka nebo užívání sloučenin nebo komposic podle předkládaného vynálezu budou určovány ošetřujícím lékařem v rámci posouzení podle medicinských zvyklostí. Specifická úroveň terapeuticky účinné dávky pro každého jednotlivého pacienta bude záviset na různých faktorech včetně potíže, která má být ošetřována a závažnosti symptomů bolesti a obtíže, aktivity konkrétní sloučeniny a konkrétní komposice, která byla použita, právě tak jako věku, tělesné hmotnosti, celkového zdraví, pohlaví a diety pacienta, který takové ošetření potřebuje. Ostatní faktory zahrnují dobu ošetření, způsob ošetření a rychlost exkrece použité konkrétní sloučeniny, dobu trvání ošetření, léčiv používaných v kombinaci nebo současně s konkrétní použitou sloučeninou a podobně. Celková denní dávka sloučenin podle vynálezu podávaných pacientovi nebo zvířeti v jednotlivých nebo dělených dávkách v různých formách nebo způsobech ošetřování, může být v rozsahu kolem 0,001 až 100 mg/kg tělesné hmotnosti denně a nejlépe 0,01 až 10 mg/kg/den. Toto množství se ovšem může měnit v závislosti na potenci konkrétní sloučeniny nebo léčiva, při čemž se tato rozmezí mohou změnit tak, že budou pod 0,001 mg/kg/tělesné hmotnosti denně. Jednotkové dávky komposic mohou obsahovat taková množství nebo jejich alikvotní podíly, aby daly celkovou denní dávku.

Termín "C₁-C₆-alkyl" znamená verse metylu, ethylu, propylu, butylu, pentylu nebo hexylu s přímým nebo rozvětveným řetězcem.



Markushovy struktury nebo jiné proměnné jak jsou popisovány svrchu, nebo v patentových nárocích, jsou očividné a jsou podle standardní chemické nomenklatury a symboliky. Poloha 2 na azetidinovém kruhu je chirálním centrem.

Termínem "zlepšený profil bezpečnosti" se rozumí, že enantiomery ve vynálezu typicky vykazují nižší odezvu v aktivaci periferních ganglionických nikotinických receptorů acetylcholinu, která, pokud probíhá *in vivo*, může být spojena s nežádoucími vedlejšími efekty na autonomních nervových systémech (např. kardiovaskulárních a gastrointestinálních). Profil bezpečnosti je dále podporován tabulkovými daty. Kromě toho jeden (R)-enantiomer může vykazovat 12,8-krát menší afinitu ke skeletálnímu svalovému subtypu receptoru nikotinického acetylcholinu, která, pokud probíhá *in vivo*, může být spojena nežádoucími vedlejšími efekty vzhledem ke svalové koordinaci a tonusu.

Termín "s efektivní vazbou na nikotinický acetylcholinový receptor" znamená, že sloučenina má vazebnou afinitu (K_i) při screeningu *in vitro* alespoň v mikromol řádu (μM). Preferována je vazebná afinita v nanomol nebo pikomol řádu.

"Chránící skupina pro dusík 'P' " je volena mezi těmi obecně známými skupinami chránícími dusík, aby umožnily chemickou modifikaci nebo manipulaci na jiném místě molekuly. Takové skupiny jsou na příklad vymezeny v učebnici Stuart Warren Organic Synthesis, The Disconnection Approach, str. 68 -69, (1982) a v množství běžně známých textů z organické chemie.

"Odstupující skupina 'L' " se vybírá mezi v oboru běžně známými odstupujícími skupinami, které se snadno nahrazují požadovaným nukleofilem za vzniku sloučenin podle vynálezu. Charakteristický je zde tosylát, ale pro tento účel může být použita jakákoliv anionická odstupující skupina. Takové skupiny jsou definovány ve shora citované referenci na Stuarta Warrena stejně jako ve standardních organických monografiích.

Jak je shora uvedeno, zahrnuje předkládaný vynález sloučeniny podle vynálezu a farmaceuticky přijatelné excipienty nebo ředidla pro tvorbu farmaceutických komposic. Komposice vhodné pro parenterální injekci mohou obsahovat farmaceuticky přijatelné sterilní vodné nebo nevodné roztoky, disperse, suspence nebo emulze a sterilní prášky pro rekonstituci na sterilní injekční roztoky nebo disperse. Příklady vhodných vodných i nevodných nosičů, ředidel, rozpouštědel nebo vehikul zahrnují vodu, ethanol, polyoly (propylenglykol, polyethylenglykol, glycerol a podobné), jejich vhodné směsi, rostlinné oleje (jako olivový olej) a injektovatelné

organické estery jako ethyl oleát. Vhodná tekutost může být udržována používáním ochranných látek jako lecithinu, zachováváním požadované velikosti částic v případě dispersí a používáním povrchově aktivních látek.

Tyto komposice mohou také obsahovat adjuvanty jako činidla konzervační, zvlhčovací, emulsifikační a dispergační. Prevence působení mikroorganismů může být zajišťována různými antibakteriálními a antifungálními činidly jako jsou parabeny, chlorbutanol, fenol, sorbová kyselina a podobné. Může být také žádoucí zahrnout isotonická činidla, na příklad cukry, chlorid sodný i jiné soli a podobně. Prodloužená absorpce injektovatelné farmaceutické formy může být vyvolána užitím činidel prodlužujících absorpci, na příklad monostearátem hlinitým a želatinou. Pokud je to nutné, mohou být zde uvedené prostředky pro ošetřování bolesti nebo jiných stavů či indikací podávány intravenosně (IV) po dobu, které je zapotřebí ke zmírnění potíží pacienta a v dávkování, o kterém se na základě obvyklého medicinského úsudku zjistí, že je pro individuálního pacienta a stav nejlepší.

Pokud je žádoucí a účinnější pro distribuci po nepřerušovanou dobu, mohou být sloučeniny inkorporovány do systémů s pomalým nebo cíleným uvolňováním jako jsou polymerní matrice, liposomy a mikrokuličky. Mohou být sterilisovány na příklad filtrací bakterie zadržujícím filtrem, nebo včleněním sterilizačních činidel ve formě tuhých sterilních komposic, které mohou být bezprostředně před použitím rozpuštěny ve sterilní vodě nebo v nějakém jiném sterilním injekčním mediu.

Tuhé formy dávek pro orální administraci mohou představovat kapsle, tablety, pilulky, prášky a granule. V takových tuhých formách dávek je aktivní sloučenina smíšena alespoň s jedním obvyklým excipientem (nebo nosičem) jako je citrát sodný nebo dikalcium fosfát a navíc (a) s plnivy nebo nastavovadly jako jsou škroby, laktosa, sacharosa, glukosa, mannitol nebo kyselina křemičitá; (b) s pojivy jako je na příklad karboxymethylcelulosa, algináty, želatina, polyvinylpyrrolidon, sacharosa a akaciová klovatina; (c) se zvlhčovadly jako na příklad s glycerolem; (d) s rozmělnujícími činidly jako je agar-agar, uhličitan vápenatý, bramborový nebo tapiokový škrob, alginová kyselina, určité komplexní silikáty a uhličitan sodný; (e) se zpomalovači rozpouštění jako je parafin; (f) s urychlovači absorpce jako jsou kvarterní amoniové sloučeniny; (g) se smáčedly jako je cetylalkohol a glycerol monostearát; (h) s adsorbenty jako je kaolin a bentonit; a mazivy jako je mastek, stearát vápenatý, stearát hořečnatý, tuhé polyethylenglykoly, laurylsulfát sodný *nebo*

jejich směsi. V případě kapslí, tablet a pilulek mohou tuhé formy dávek obsahovat také pufrovací činidla.

Tuhé formy dávek jako jsou tablety, dražé, kapsle, pilulky a granule mohou být zhotoveny s potahováním a v pouzdrech jako je enterické obalování a jiné obecně známé v odborných kruzích. Mohou obsahovat uklidňující činidla a mohou mít také takové složení, že prodlouženým způsobem uvolňují aktivní sloučeninu v určité části střevního traktu. Příklady obalovacích komposic, které je možno používat, jsou polymerní substance a vosky. Aktivní sloučeniny mohou být také s jedním nebo více shora uvedenými excipienty mikroenkapsulovány.

Kapalné formy dávek pro orální administraci zahrnují farmaceuticky přijatelné emulze, roztoky, suspence, sirupy a tinktury. Kromě aktivních sloučenin mohou kapalné formy dávek pro orální administraci obsahovat také inertní ředidla obvykle v oboru používané, jako je voda nebo jiná rozpouštědla vhodná pro injekce, solubilizační činidla a emulsifikátory jako ethylalkohol, isopropylalkohol, ethylkarbonát, ethylacetát, benzylalkohol, benzylbenzoát, propylenglykol, 1,3-butylenglykol, dimethylformamid, oleje, zejména bavlníkový olej, podzemnicový olej, olej z obilných klíčků, olivový olej, ricinový olej a sezamový olej, glycerol, tetrahydrofurylalkohol, polyethylenglykoly a sorbitanové estery mastných kyselin nebo směsi těchto látek a podobně.

Vedle takových inertních ředidel mohou tyto kapalné formy dávek obsahovat také adjuvanty jako smáčedla, emulsifikační a suspendační činidla, sladidla, příchutě a parfemační činidla. Suspence mohou kromě aktivních sloučenin obsahovat suspendační činidla jako ethoxylované isostearyl alkoholy, polyoxyethylenestery sorbitolu a sorbitanu, mikrokrystalinickou celulosu, metahydroxid hlinitý, bentonit, agar-agar a tragant nebo směsi těchto látek a podobně. Komposice pro rektální nebo vaginální administraci mohou být rovněž formulovány se známými vhodnými nosiči jako kakaovým máslem nebo vosky pro čípky nebo jinými látkami, které jsou tuhé při obvyklé teplotě místnosti, avšak kapalné při tělesné teplotě, která dovoluje uvolnění léčiva tímto způsobem.

Formy dávek pro topickou nebo transdermální administraci sloučeniny podle tohoto vynálezu zahrnují dále masti, pasty, krémy, pleťové vody, gely, pudry, roztoky, spreje, inhalační činidla nebo transdermální náplasti. Pokud se používá transdermální náplast, může být aktivní komponenta za sterilních podmínek smísena s farmaceuticky přijatelným nosičem a jakýmkoliv nutným konservačním

prostředkem, puforem nebo vyháněči, jak je potřeba. Sloučeniny, které jsou kůží rychle absorbovány mohou vyžadovat formulaci s absorpcí zpomalujícími činidly nebo bariérami. Uvažují se také oftalmologické formulace, oční masti, pudry a roztoky.

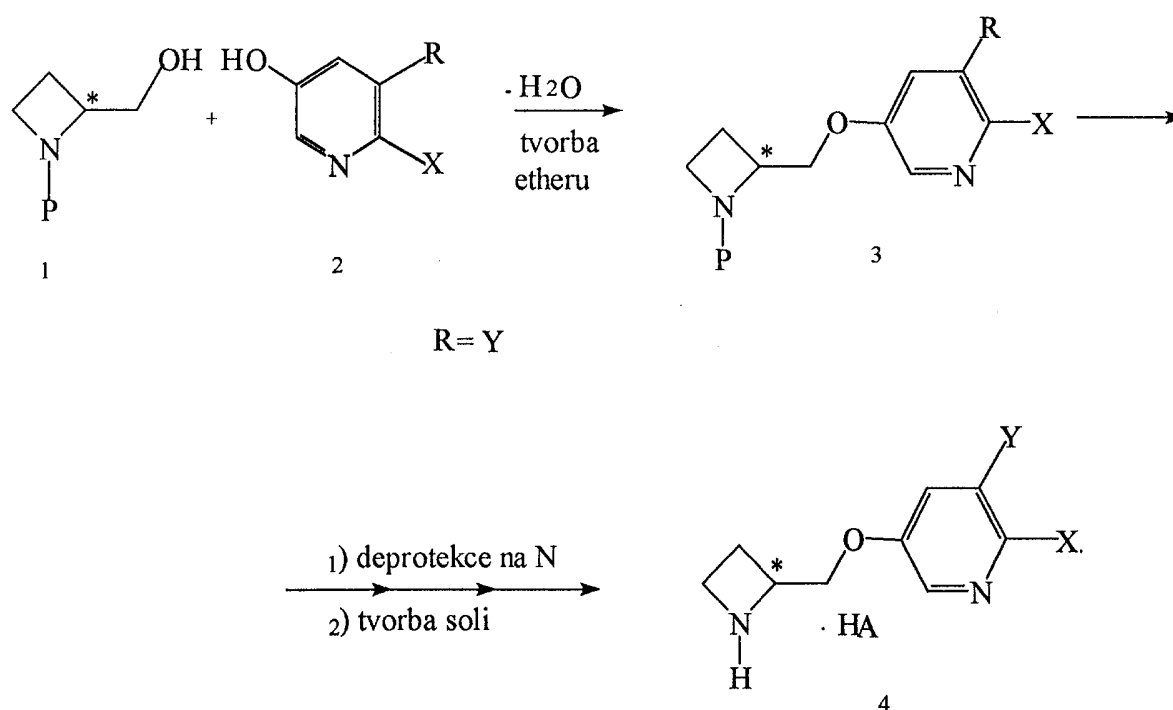
Sloučeniny podle vynálezu mohou být dodávány také ve formě liposomů, o nichž je známo, že jsou odvozeny od fosfolipidů, nebo jiných lipidových substancí. Liposomy jsou tvořeny mono- nebo multilamelárními hydratovanými kapalnými krystaly, které jsou dispergovány ve vodném prostředí. Může být použit jakýkoliv netoxický, fyziologicky přijatelný a metabolizovatelný lipid, schopný vytvářet liposomy. Formulace liposomu může také obsahovat jiné vhodné excipienty jako stabilisátory, konzervační přísady, excipienty a podobně. Obecně je dáována přednost fosfolipidům a lecithinům. Metody tvoření liposomů popisuje Prescott, vydavatel, v Methods in Cell Biology, sv. XIV, Academic Press, New York, N.Y. (1976).

Sloučeniny podle vynálezu mohou být také podávány spolu s periferně působícími anticholinergickými látkami jako je N-methylskopolamin, N-methylatropin, propanthelin, methanthelin, glykopyrrolát, trimethaphan, pentolinium, mekamlamin nebo pempidin za předpokladu, že přidané sloučeniny neovlivní u aktivní ingredience bolest modulující nebo jiné cílené účinky. Vedle toho mohou být sloučeniny podle vynálezu podávány spolu s opiátovými narkotiky nebo bolest tišícími látkami jako morfinem, při čemž přihlašovatelé prokázali, že v relaci k samotnému morfinu dochází ke zlepšenému účinku tišení bolesti, když se podávají malé dávky sloučenin podle vynálezu s opiáty jako je morfin. K tomuto "zlepšení" dochází při dávkách sloučeniny, které jsou normálně méně účinné při ošetřování bolesti (např. i.p. 2 $\mu\text{mol/kg}$ tělesné hmotnosti nebo méně) zvyšujícím se množstvím morfinu a může k nim také docházet při vyšších dávkách sloučenin podle vynálezu s morfinem. Kromě toho nebo jako alternativa společného podávání s morfinem může také docházet ke společnému podávání s kterýmkoliv známým prostředkem pro tišení bolesti nebo protizánětlivým prostředkem, pokud neexistují kontraindikace nebo omezení při ošetřování nebo tišení bolesti. Takové společné podávání tedy zahrnuje kombinace sloučenin podle vynálezu a NSAIDS (včetně ibuprofenu, (S)-ibuprofenu, solí ibuprofenu atd.).

Schema 1 je příkladem přípravy sloučenin podle vynálezu, kde P je chránící skupina pro dusík jako Boc, Cbz, arylem substituovaný Cbz, trifluoracetyl, benzensulfonyl, arylem substituovaný benzensulfonyl a jiné v oboru běžně známé skupiny (viz T.W. Greene a P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 2.

vydání, John Wiley & Sons, New York 1991); X je jak definováno svrchu; ve Schematu 1 R je Y jak definováno svrchu nebo skupina konvertovatelná na Y způsobem popsáným níže, při čemž na příklad halogen v poloze Y je nahrazen v jednom nebo více krocích C₁-C₆-alkylem, vinylem, propinyl nebo ethinyl skupinou; * značí chirální centrum, které může být R nebo S v závislosti na výchozím materiálu; a HA je kyselina, která bude snadno tvořit farmaceuticky přijatelnou sůl s aminem, jako je kyselina toluensulfonová, kyselina methansulfonová, kyselina naftalensulfonová, chlorovodík, benzoová kyselina, citronová kyselina nebo vinná kyselina.

SCHEMA 1



Reakce tvorby etheru podle Schematu 1 může být provedena různými způsoby, na příklad 1) (a) konversí hydroxylové skupiny azetidinového alkoholu **1** na odstupující skupinu působením toluensulfonylchloridu, methansulfonylchloridu nebo anhydridu trifluormethansulfonové kyseliny anebo podobně v inertním rozpouštědle jako THF, dimethylformamidu nebodichlormethanu v přítomnosti base jako triethylaminu nebo pyridinu nebo podobně; nebo alternativně provedením reakce v čistém pyridinu; (b) následným působením pyridinolu struktury **2** za dostatečně

basických podmínek, aby došlo k odštěpení fenolického protonu u **2**, na příklad hydroxidem draselným nebo hydroxidem sodným v DMF při teplotě od kolem 23°C do kolem 120°C, jak je potřeba, aby se ovlivnila vhodná reakční rychlost; jinak může být napřed vytvořena draselná nebo cesná sůl působením hydroxidu draselného nebo hydroxidu sodného na **2** ve vhodném rozpouštědle jako je methanol, které může být odpařeno a nahrazeno rozpouštědlem vhodným pro syntetickou reakci jak je shora popsáno; (2) reakce tvorby etheru lze také provést působením reaktantů s fosfinem jako trifenylofosfinem nebo tributylfosfinem a derivátem azodikarboxylátu jako diethyl azodikarboxylátem, di-terc. butyl azodikarboxylátem nebo 1,1'-(azodikarbonyl)dipiperidinem ve vhodném rozpouštědle jako THF, benzenem nebo toluenem nebo podobně při teplotě od kolem 0°C ko kolem 40°C (Mitsunobu-ova reakce: viz Hughes, Organic Reactions, 42, 335, **1992**; Abreo a spol., J. Med. Chem. **1996**, 39, 817).

Jedna z preferovaných syntéz začíná ochlazením roztoku alkoholu **1** chráněného skupinou Boc, na kolem 5°C. Přidá se triethylamin. Potom se přidává mesylchlorid takovou rychlostí, aby se teplota udržela pod kolem 10°C. Potom se roztok míchá asi 15 minut, zahřeje na teplotu místnosti a míchá dalších 4,5 hod. Na to se přidá 8 %-ní roztok bikarbonátu sodného. Byl izolován mesylovaný alkohol, rozpuštěn v DMF a podroben reakci s hydroxidem sodným a příslušným hydroxypyridinem. Potom byl roztok zahříván na cca 80°C asi 6 hod., za vzniku sloučeniny **3**. Sloučenina **3** byla izolována, rozpuštěna v ethanolu a potom zbavena chránicí skupiny toluensulfonovou kyselinou 2 hod. zahříváním pod zpětným chladičem za vzniku odpovídající sloučeniny **4** ve formě tosylátu.

Přesné podmínky deprotektce na N závisí na povaze chránicí skupiny P a jsou dobře popisovány ve vhodných literárních pramenech jako je Greene a Wuts (viz *citované dílo*) nebo v počítačových databasích jako je Synopsys Protecting Groups Database (Synopsys Scientific Systems, LTD., Leeds, UK). Pro P = Boc se deprotektce pohodlně uskuteční působením vhodných směsí (např. 1:1) trifluoroctové kyseliny a dichlormethanu nebo chlorovodíku v etherovém nebo alkoholickém rozpouštědle na sloučeninu **3**; pro P = Cbz hydrogenolýzou (plynný H₂, Pd katalyzátor, v roztoku alkoholu jako methanolu nebo ethanolu nebo jiného rozpouštědla jako ethylacetátu, ve které se výchozí materiál rozpouští) nebo pomocí trimethylsilyl jodidu, tvořeného případně *in situ* postupy v oboru běžnými, v roztoku halogenuhlovodíků jako je chloroform; pro P = trifluoroacetyl, působením nukleofilu

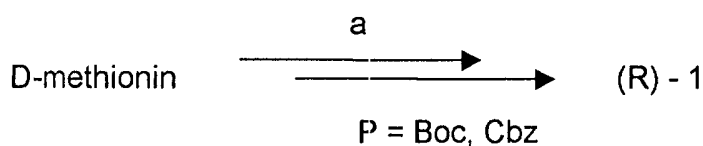
jako je hydroxid kovu, vodný amoniak nebo borohydrid sodný na **3**; pro P = arylsulfonyl, působením sodíku v kapalném amoniaku nebo naftalenidu sodného v etherovém rozpouštědle jako je dimethoxyethan anebo amalgamem sodným v roztoku alkoholu jako je methanol na **3** či elektrolýsou.

Stupeň tvorby soli sestává nejprve z izolace volné base **4**, na příklad extrakcí z vodného alkalického roztoku do organického rozpouštědla, na příklad diethyletheru, dichlormethanu nebo ethylacetátu; vysušení organického rozpouštědla vhodným sušicím prostředkem, na příklad síranem sodným nebo síranem hořečnatým; případně odstraněním rozpouštědla a jeho nahrazením alternativním vhodným rozpouštědlem jako diethyletherem, ethylacetátem nebo ethanolem; a působením na roztok kyselinou HA, vybranou ze skupiny farmaceuticky přijatelných species uvedených svrchu jako příklady.

Ve Schematu 2 je uvedena příprava čistého enantiomeru (*R*)-azetidin alkoholu **1** (R = Cbz) z D-methioninu jak je popsáno v Abreo *a spol.*, viz citované dílo. Nejprve se na D-methionin v roztoku hydroxidu sodného působí tosylchloridem a vznikne N-tosyl-D-methionin, který se podrobí reakci s MeI spolu s 1N hydroxidem sodným za vzniku α -(N-p-tosylamino)- γ -butyrolaktonu podle metody Sugano a Miyoshi, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **1973**, 46, 669. Další konverse na azetidin-2-karboxylovou kyselinu byla provedena postupem podle Miyoshi *a spol.*, *Chem. Lett.* **1973**, 5-6. Lakton byl v ethanolu zreagován s plynným HBr za vzniku ethylesteru N-tosyl- γ -bromnorvalinu. Bromester v roztoku DMF s přibližně čtyřmi ekvivalenty H₂O byl zreagován s NaOH a vytvořila se (*R*)-N-tosylazetidin-2-karboxylová kyselina (může být kontaminována (*S*)-enantiomerem jak bylo zjištěno ¹H-NMR analýzou amidového derivátu s α -methylbenzylaminem) (Abreo *a spol.*, viz citované dílo). Reakce N-tosylazetidin-2-karboxylové kyseliny se sodíkem v kapalném amoniaku poskytuje azetidin-2-karboxylovou kyselinu, která následně s N-(benzyloxykarbonyl)oxysukcinimidem podle Abreo *a spol.* poskytuje N-Cbz-azetidin-2-karboxylovou kyselinu. K odstranění kontaminujícího (*S*)-enantiomeru se N-Cbz derivát v methanolu podrobí působení hydrazidu D-tyrosinu, kdy vzniká nerozpustná sůl (*R*)-enantiomeru, která se odfiltruje. Optická rotace následně uvolněné volné kyseliny je $[\alpha]_D = +105,4$ (c 4,0, CHCl₃). Reakce volné kyseliny s boranem.THF poskytne **1** (R = Cbz). *S*-enantiomer [(*S*)-**1**] může být syntetizován analogicky z výchozího L-methioninu. Pokud je to pro obohacení enantiomerem potřeba, může být

produkt podroben optickému štěpení pomocí hydrazidu D-tyrosinu v analogii s výše popsaným postupem. Ostatní chránící skupiny, na příklad Boc jsou snadno uplatňovány pomocí standardních metod, např. reakcí intermediátu nebo azetidin-2-karboxylové kyseliny zbavené chránící Cbz skupiny s příslušným standardním reagentem za předepsaných podmínek (Greene a Wuts, viz *nahoře*).

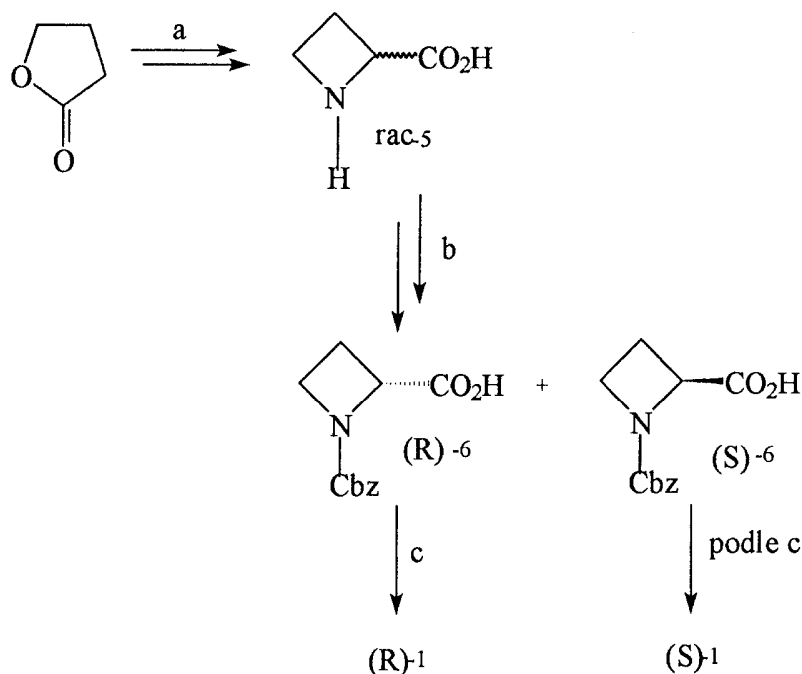
SCHEMA 2



a. Abreo a spol., J. Med. Chem. **1996**, 39, 817.

Alternativně, v souladu se Schematem 3, může být podle Rodebaugha a Cromwella, *J. Het. Chem.*, **1969**, 6, 43, připravena racemická azetidin-2-karboxylová kyselina **5** z γ -butyrolaktonu. γ -Butyrolakton se zreahuje s bromem a katalytickým množstvím fosforu nebo bromidem fosforitým, následně potom s benzylalkoholem a plynným chlorovodíkem za vzniku benzyl α,γ -dibrombutyrátu. Dibromid se ve vhodném rozpouštědle jako ethanolu nebo acetonitrilu podrobí působení jednoho ekvivalentu benzhydrlaminu, přičemž vznikne benzyl N-difenylmethylazetidin-2-karboxylát. Hydrogenolysa nad palladiovým katalyzátorem, na příklad $\text{Pd}(\text{OH})_2$, poskytne racemickou **5**. Aby se získala odděleně (R)- nebo (S)-N-Cbz-azetidin-2-karboxylová kyselina **6** provede se štěpení odpovídajícího N-Cbz derivátu podle Rodebaugha a Cromwella *J. Het. Chem.*, **1969**, 6, 993. Reakce roztoku sloučeniny **5** ve vodném alkalickém roztoku s chlormravenčanem benzylnatým dává racemickou N-Cbz-azetidin-2-karboxylovou kyselinu. Působení hydrazidu L-tyrosinu na methanolický roztok racemátu vyvolá precipitaci R-enantiomeru jako nerozpustné soli, která se dále zpracuje jak je popsáno v textu doprovázejícím Schema 2. Podle Rodebaugha a Cromwella *J. Het. Chem.*, **1969**, 6, 993 se čistý (S)-enantiomer získá z rozpustné frakce.

SCHEMA 3



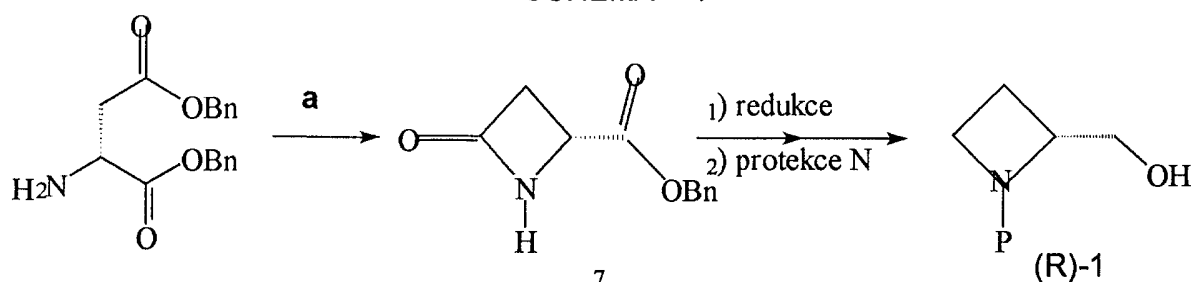
- a. Rodebaugh a Cromwell, *J. Het. Chem.* **1969**, 6, 435.
 b. Rodebaugh a Cromwell, *J. Het. Chem.* **1969**, 6, 993.
 c. Abreo, a spol., *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 817.

V souhlase se Schematem 4 může být (R)-1 připraven jinak novým způsobem vycházející z (R)-azetidinonu **7**, který se připraví z diesteru kyseliny D-asparagové podle Baldwin a spol., *Tetrahedron* **1990**, 46, 4733-48. HCl-sůl triethylaminu tvořící se během desilylace vhodným způsobem spotřebovává přebytek RMgX. Tak roztok volné base diethylesteru kyseliny asparagové v diethyletheru je podroben reakci s trimethylsilylchloridem a triethylaminem, aby se získal intermediární N-silylderivát, na který se působí terc. butylmagnesiumchloridem a tak vznikne **7**. Trimethylsilylová skupina při tomto postupu může být zaměněna za jiné silylové skupiny např. terc. butyldimethylsilylovou skupinu, kterou lze odstranit fluoridovým iontem, jak ukázal Baldwin a spol. Reakce **7** s vhodným redukčním činidlem, na příklad diisobutylaluminiumhydridem (DIBAL), lithiumaluminiumhydridem, aluminiumhydridem, mono- nebo dihalogenaluminiumhydridem anebo směsí chloridu hlinitého a lithiumaluminiumhydridu v etherovém rozpouštědle při -20°C až 40°C způsobí

redukci i 2-karbobenzyloxy skupiny na hydroxymethyl i karbonylu azetidinonu na methylen. Záměrem této nové konverse je zahrnout jiné estery, na příklad C₁-C₆ alkylestery a zahrnout také jako vhodnou postupnou redukci esterové skupiny a karbonylu azetidinonu. Je nejlépe, když je benzylester hydrogenolysován na volnou kyselinu před redukcí karbonylových uskupení. Na příklad reakce **7** s borohydridem sodným v methanolu při teplotě místnosti podle Salzmann *a spol.*, (*J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 6163-6165) nebo jinak s lithiumborohydridem nebo kalciumborohydridem v etheru nebo směsích etheru a alkoholu, nejlépe při nízké teplotě (-20°C až 10°C), dává selektivní redukci esterové skupiny a poskytuje odpovídající azetidin-2-on-4-methanol (alternativní mnohastupňovou cestu k tomuto intermediátu v řadě (S)-enantiomeru uvádí Tanner a Somfai, *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 1211-1214). Následující redukce karbonylu azetidinonu vhodným redukčním činidlem, na příklad lithiualuminiumhydridem, aluminiumhydridem, mono- nebo dihalogenaluminiumhydridem anebo směsí chloridu hlinitého a lithiualuminiumhydridu, jak je svrchu popsáno, poskytne jako intermediát azetidin-2-methanol. Je možné předpokládat další způsoby redukce azetidinonového karbonylu, např. s P₂O₅ Lawesson-ovým činidlem následovaným redukcí, na příklad v přítomnosti niklu. Ochránění N v intermediátním azetidin-2-methanolu se provádí za standardních podmínek, na příklad reakcí intermediátního sekundárního aminu s di-terc.butyl dikarbonátem za vzniku produktu (R)-**1** (P = Boc). Postup od **7** k (R)-**1** byl ukázán v případě jednostupňové redukce lithiualuminiumhydridem v etheru při 0°C až okolní teplotě, za standardní izolace (viz Fieser a Fieser, *Reagents for Organic Synthesis*, svazek 1, str 584) intermediátu sekundárního aminu následovanou ochraněním N pomocí Boc probíhající s vysokým stupněm zachování chirální čistoty (> 98 % ee).

Analogicky k preparaci (R)-**1** vycházející z D-asparagové kyseliny, může být z L-asparagové kyseliny připravena (S)-**1**.

SCHEMA 4



a. Baldwin *a spol.*, *Tetrahedron* **1990**, 46, 4773-48

Způsoby přípravy různých 5- a/nebo 6-substituovaných pyridin-2-olů jsou tyto:

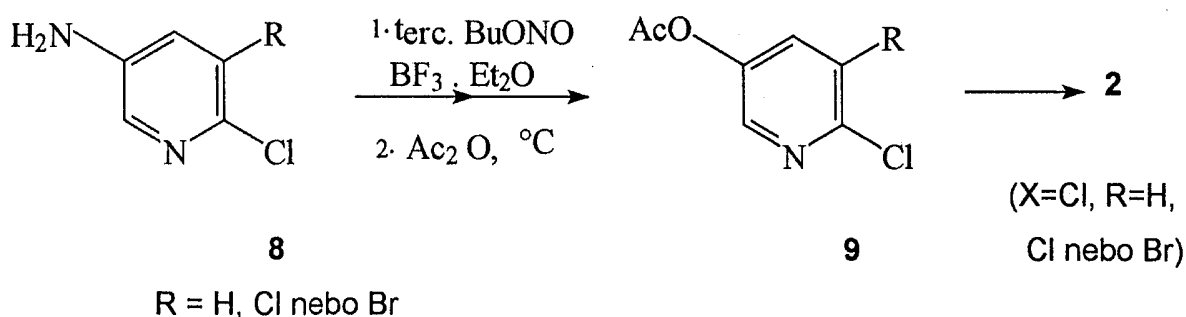
Pyridin-3-ol (**2**, X = R = H) je komerčně dostupný (např. Aldrich).

6-Methylpyridin-3-ol (**2**, X = Me, R = H) je komerčně dostupný (např. Aldrich).

5-Chlorpyridin-3-ol (**2**, X = H, R = Cl) je komerčně dostupný.

5,6-Dichlorpyridin-3-ol (**2**, X = R = Cl) a 5-brom-6-chlorpyridin-3-ol (**2**, X = Cl, R = Br) byly připraveny z komerčně dostupného (Aldrich) 2-hydroxy-5-nitropyridinu podle Kocha a Schnatterera, *Synthesis*, **1990**, 499-501. Tak působení buď chlorečnanu draselného respektive bromu na 2-hydroxy-5-nitropyridin poskytuje odpovídající 2-hydroxy-3-halogen-5-nitropyridiny, které působením oxychloridu fosforečného v přítomnosti chinolinu dávají příslušné 2-chlor-3-halogen-5-nitropyridiny. Působením železa nebo cínu v kyselém prostředí dochází k redukci nitroskupiny za vzniku 5-amino-2-chlor-3-halogenpyridinů. Diazotace intermediátu dusitanem sodným za přítomnosti kyseliny fluoroborité nebo alkylnitritu v přítomnosti bortrifluoridu poskytuje jako intermediát diazoniovou sůl, která zahříváním s acetanhydridem dává 5-acetoxy-2-chlor-3-halogenpyridin **9**. Klíčovým krokem v celé sekvenci je konverse 3-aminoskupiny na 3-hydroxyskupinu za podmínek uvedených ve Schematu 5.

SCHEMA 5

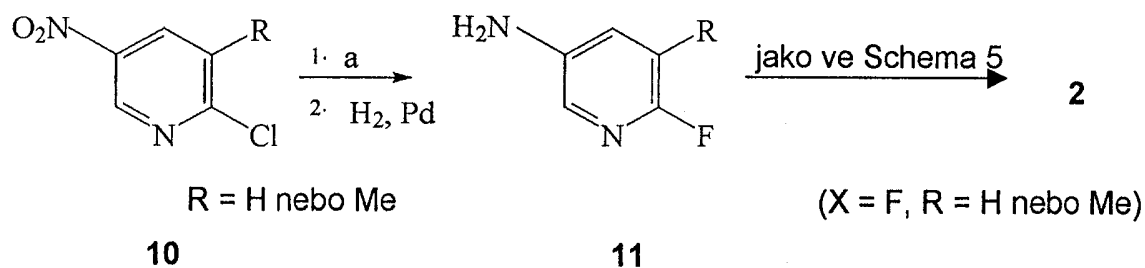


Schema 5 popisuje diazotaci **8** alkylnitritem v přítomnosti bortrifluorid etherátu, při níž jako intermediát vzniká diazoniová sůl, která zahříváním s acetanhydridem poskytuje 5-acetoxy-2-chlor-3-halogenpyridin **9**. Diazoniová sůl jako intermediát může být jinak připravena pomocí dusitanu sodného v kyselém prostředí jak je popsáno Koch-em a Schnatterer-em v *Synthesis*, **1990**, 499-501. Hydrolyza nebo alkohololýsa acetoxyskupiny ve sloučenině **9** ve středně alkalickém prostředí vede ke sloučenině **2** (X = Cl, R = Br nebo Cl).

6-Chlorpyridin-3-ol (**2**, X = Cl, R = H) byl připraven z komerčně dostupného 2-chlor-5-aminopyridinu podle Effenbergera a spol., *Chem. Ber.*, **1992**, 125, 1131-1140, reakcí s dusitanem sodným v přítomnosti vodného roztoku kyseliny sírové s následujícím zahříváním s vodným roztokem kyseliny sírové a izolací extrakcí nebo raději modifikovaným postupem podle podmínek, které jsou uvedeny ve Schematu 5, kde R = H.

5-Methyl-6-chlorpyridin-ol byl připraven z komerčně dostupného (Maybridge) 2-chlor-3-methyl-5-nitropyridinu redukcí nitroskupiny (Fe, AcOH) podle podmínek analogických těm, které jsou uvedeny ve Schematu 5.

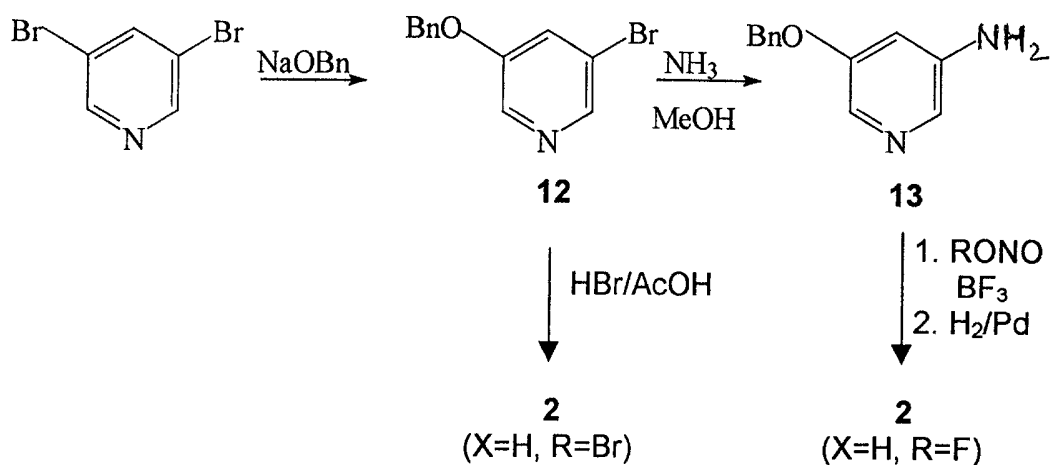
SCHEMA 6



a. Clark a Macquarrie, *Tet. Lett.* **1987**, 28 111-114

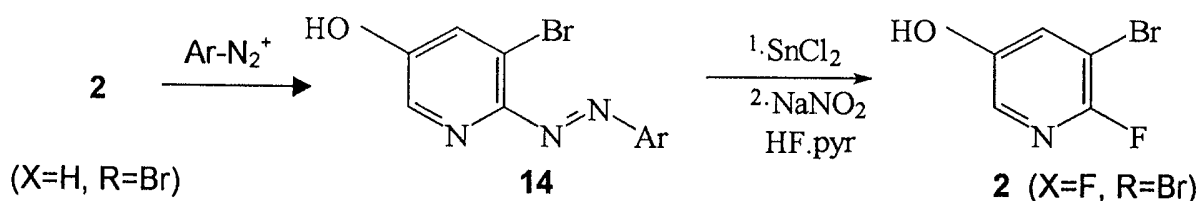
V souhlase se Schematem 6 (viz nahoře) 6-fluorpyridin-3-ol (**2**, X = F, R = H) a 6-fluor-5-methylpyridin-3-ol (**2**, X = F, R = Me) byly připraveny z odpovídajících 3-aminosloučenin **11** za podmínek analogických těm, co jsou ve Schematu 5. Sloučenina **11** byla připravena katalytickou redukcí odpovídajícího derivátu 3-nitropyridinu, který byl připraven z komerčně dostupného 6-chlorderivátu **10** podle Clarka a spol., *Tet. Lett.*, **1987**, 28, 111-114. Tak na příklad roztok **10** v acetonitrilu byl zahříván s fluoridem draselným v přítomnosti tetrafenylamonium bromidu a poskytl **11**.

SCHEMA 7



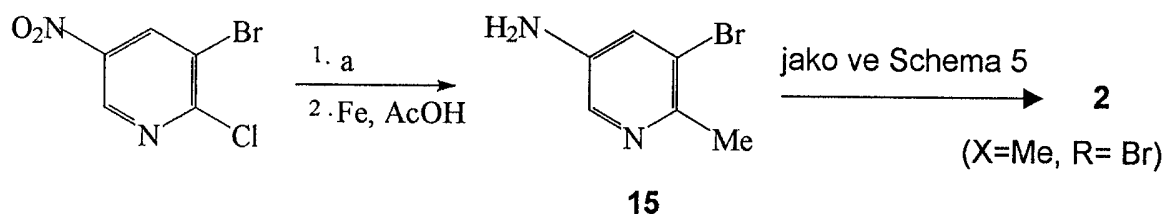
Intermediát **2** (ze Schematu 1) (X = H, R = F nebo Br) byl připraven jak je uvedeno ve Schematu 7. Komerčně dostupný 3,5-dibrompyridin byl podroben reakci s aniontem benzyloxy, na příklad s benzylátem sodným v DMF při teplotě místnosti a vznikla monobenzyloxy sloučenina **12**. Debenzylace sloučeniny **12** zahříváním se 48 % bromovodíkem v kyselině octové poskytuje **2** (X = H, Y = Br). Reakce methanolického roztoku **12** s kapalným amoniakem, následovaná zahříváním v ocelovém autoklávu při 120°C až 150°C po 16 až 48 hodin v přítomnosti soli mědi, na příklad bromidu měďného, poskytuje sloučeninu **13**. Působením alkylnitritu na **13**, na příklad terc.butyl-nitritu v přítomnosti bortrifluorid etherátu v inertním rozpouštědle jako methylenchloridu, vznikne intermediární diazonium tetrafluoroborát, který byl zahříván na 50°C až 90°C v acetanhydridu nebo nejlépe v inertním rozpouštědle jako toluenu a poskytl 3-benzyloxy-5-fluorpyridin. Benzyloxysloučenina byla při okolní teplotě míchána ve vodíkové atmosféře v přítomnosti palladia jako katalyzátoru, na příklad 10 % palladia na uhlí, ve vhodném rozpouštědle jako je methanol, ethanol nebo ethylacetát a poskytla **2** (X = H, R = F).

SCHEMA 8



Intermediát **2** (s $X = F$, $R = Br$) byl připraven jak udává Schema 8. Sloučenina **2** ($X = H$, $R = Br$) připravená jak je popsáno ve Schematu 7, byla podrobena reakci s aryl diazoniovou solí, na příklad komerčně dostupným p-nitrofenyldiazonium tetrafluoroborátem za kopulace na diazotovaný produkt **14**. Redukce diazosloučeniny na příklad působením chloridu cínatého a kyseliny chlorovodíkové v ethanolu poskytuje 2-amino-3-brom-5-hydroxypyridin jako intermediát, který se diazotuje a na který se buď současně nebo následně působí fluoridovým iontem, aby se získala sloučenina **2** ($X = F$, $R = Br$). Na příklad působení dusitanu sodného v přítomnosti HF.pyridin při 0°C až 70°C na intermediát 2-amino-3-brom-5-hydroxypyridin poskytuje **2** ($X = F$, $R = Br$).

SCHEMA 9



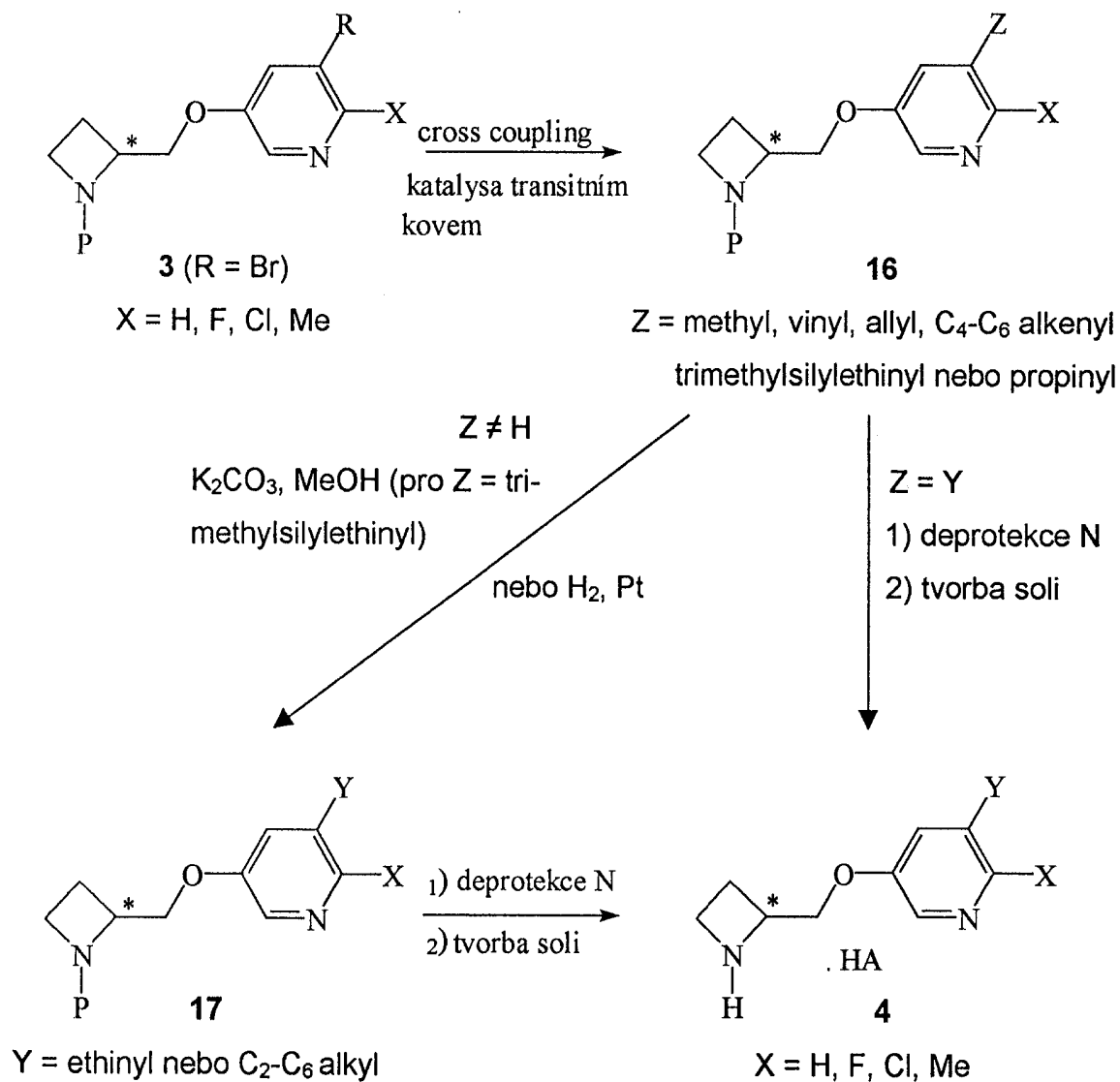
a. Odashima a spol., *Bull. Chem. Soc. Japan*, **1993**, 66, 797-803

Podle Schematu 9 byl z 3-brom-2-chlor-5-nitropyridinu (V. Koch a S. Schnatterer, *Synthesis*, **1990**, 499-501) připraven intermediát **2** ($X = \text{Me}$, $R = \text{Br}$) analogickým postupem, který popsal Odashima a spol. (*Bull. Chem. Soc. Japan*, **1993**, 66, 797-803). Výchozí materiál byl podroben reakci se sodnou solí malonanu ethylnatého, potom hydrolyse a dekarboxylaci, aby došlo k nahrazení chlorového substituentu v poloze 2 methylovou skupinou. A tak zahřívání promíchávané směsi 3-brom-2-chlor-5-nitropyridinu a diethyl malonátu sodného na 100°C asi 1 hodinu, následované varem vzniklé směsi v přítomnosti 12 N kyseliny sírové pod zpětným chladičem kolem 16 hodin, poskytlo methylovaný produkt. Redukcí nitroskupiny, na příklad železem nebo cínem v kyselém prostředí, na příklad v přítomnosti vodného roztoku kyseliny octové vzniká aminosloučenina **15**, která se za podmínek analogických uvedeným ve Schematu 5 převede na **2** ($X = \text{Me}$, $R = \text{Br}$).

Další sloučeniny podle vynálezu se připravují v soulase s postupem podle Schematu 10, kde výchozí materiály **3**, jak popisuje Schema 1, se připraví za použití příslušného pyridinolu **2**, získaného jak popisuje postupně Schema 5 (pro **2**, $X = \text{Cl}$, R

= Br); Schema 7 (pro **2**, X = H, R = Br); Schema 8 (pro **2**, X = F, R = Br); nebo Schema 9 (pro **2**, X = Me, R = Br). Bromový substituent je potom zaměněn "cross coupling" reakcí katalysovanou transiitním kovem, která může probíhat za různých podmínek v závislosti na povaze Z. Reakce bromsloučeniny **3** (R = Br; nejlépe X = H nebo Me) v THF s jedním nebo třemi ekvivalenty methylmagnesiumbromidu v diethyletheru v přítomnosti (dppp)NiCl₂ při 40°C až 70°C poskytuje **16** (Z = Me); když X = Cl nebo F je tento způsob méně uspokojivý než jiné způsoby popisované v této specifikaci. Reakce bromsloučeniny **3** (R = Br) s přebytkem vinyl-tri-n-butylcínu nebo allyl-tri-n-butylcínu a katalytickým množstvím tetrakis(trifenylfosfin)palladia v toluenu nebo benzenu při zahřívání na 80°C až 110°C poskytuje sloučeniny **16** (Z = vinyl nebo allyl).

SCHEMA 10

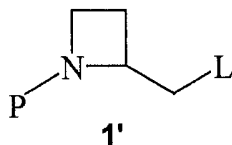


Reakce bromsloučeniny **3** ($R = Br$) v toluenu nebo benzenu s přebytkem trimethylsilylacetylenu nebo propinu s katalytickým množstvím tetrakis-(trifenylfosfin)palladia v přítomnosti soli mědi, na příklad Cu^I , při zahřívání na $80^\circ C$ až $110^\circ C$, případně v zatavené trubici, poskytuje sloučeniny **16** ($Z = \text{trimethylsilylethynyl}$ nebo $-\text{propin-1-yl}$). Reakce bromsloučeniny **3** ($R = Br$) v nitrilovém rozpouštědle, na příklad acetonitrilu nebo propionyltrilu, s přebytkem $C_4-C_6\text{-alk-1-enu}$ v přítomnosti katalytického množství soli palladia (II), na příklad acetátu palladnatého, triarylfosfinu, na příklad tri-*o*-tolylfosfinu a base, na příklad triethylaminu, za zahřívání, případně v zatavené trubici, na $60^\circ C$ až $120^\circ C$, poskytuje sloučeniny **16** ($Z = C_4-C_6\text{-alkenyl}$). Příprava sloučenin **17**, v nichž $Y = \text{ethynyl}$ se provádí reakcí odpovídajících sloučenin **16** ($Z = \text{trimethylsilylethynyl}$) s přebytkem uhličitanu draselného v methanolu při teplotě okolí až $40^\circ C$ po dobu 1 až 24 hodin. Příprava sloučenin **17**, v nichž $Y = C_2-C_6\text{-alkyl}$ se uskuteční mícháním příslušných sloučenin **16** ($Z = \text{vinyl, allyl, propinyl}$ nebo $C_4-C_6\text{-alkenyl}$) v atmosféře dusíku za přítomnosti platinového katalyzátoru, na příklad 5 % platiny na uhlí, v rozpouštědle jako je methanol, ethanol nebo ethylacetát. Sloučeniny **17** nebo sloučeniny **16** byly přeměněny na sloučeniny podle vynálezu pomocí metod vybraných z těch, které jsou popisovány ve Schematu 1, na příklad působením 1:1 směsi kyselina trifluoroctová/methylenchlorid pro deprotekcí na N u **16** nebo **17** ($P = \text{Boc}$).

Jak je svrchu popisováno, sloučeniny podle vynálezu se připravují postupem, který zahrnuje:

- (1) spojení azetidinu vzorce **1**, v němž P je jak se svrchu uvádí, s multisubstituovanou sloučeninou pyridinu vzorce **2**, s R a X je, jak se svrchu uvádí, tak, že po zreagování a deprotekcí vznikne sloučenina vzorce I, nebo prekursor sloučeniny I, u níž Y je zvoleno mezi $C_1-C_6\text{-alkylem}$, vinyl- nebo ethynyl skupinou.

Termínem "spojení" se rozumí vystavit **1** nebo modifikovanou versi **1**, která je volena ze sloučenin vzorce **1'**,



kde L je odstupující skupina představovaná toluensulfonátem, methansulfonátem nebo trifluormethansulfonátem, která se připraví reakcí sloučeniny **1** s toluensulfonylchloridem, methansulfonylchloridem nebo anhydridem kyseliny trifluormethansulfonové v inertním rozpouštědle jako THF, dimethylformamidu nebo dichlormethanu v přítomnosti base jako triethylaminu nebo pyridinu anebo v čistém pyridinu, působení

reaktantu zvolenému z multisubstituované pyridylové sloučeniny **2** nebo jejího derivátu za podmínek nezbytných k vyvolání reakce mezi **1** a **2** vedoucí po deprotekcí k produktu. Preferované reakční podmínky jsou obvykle v roztoku.

"Její derivát", jak je přímo nahoře specifikován, je vybírán ze sloučenin vzorce **2**, kde byl odštěpen (odstraněn) fenolický proton a uvolněn nukleofilní anion, nebo je vybrán mezi draselnou nebo cesnou solí deprotonovaného derivátu vzorce **2**. "Její derivát" je také volen z Mitsunobu-ova intermediátu, generovaného exponováním obou sloučenin **1** a **2** vůči fosfinu jako trifenylofosfinu nebo tributylfosfinu a azodikarboxylátu jako diethyl azodikarboxylátu, di-terc. butyl azodikarboxylátu nebo 1,1'-(azodikarbonyl)dipiperidinu ve vhodných rozpouštědlech jako THF, benzenu nebo toluenu při teplotě od kolem 0 do kolem 40 stupňů Celsia.

Předkládaný vynález se zejména pak týká způsobů přípravy R-enantiomerů, které spočívají na

- (b) přípravě sloučeniny vzorce **1** nebo jejího derivátu **1'** s (*R*)-stereochemií v poloze 2 azetidinového kruhu;
- (b) přípravě sloučeniny vzorce **2** nebo jejího derivátu **2'**;
- (b) spojení reaktantu vzniklého v kroku (a) s reaktantem vzniklým v kroku (b) za vhodných podmínek za vzniku sloučeniny **3**;
- (b) odstranění chránicí skupiny ve sloučenině vzorce **3** za vhodných podmínek za vzniku R-enantiomeru.

Alternativně mohou být uskutečněny při použití (*S*)-enantiomeru v kroku (a) kroky (a') - (d') pro získání sloučeniny vzorce I, který je (*S*)-enantiomerem v poloze 2 azetidinu.

Vynález se také týká shora popsaného způsobu přípravy obsahujícího dále za (e), nebo (e') v případě (*S*)-enantiomeru, přidávání kyseliny HA ke chránicí skupiny zbavené sloučenině z kroku (d) nebo (d'), aby se získala sloučenina vzorce 4 nebo její (*S*)-enantiomer v případě (e').

Biologické protokoly

Sloučeniny podle vynálezu byly podrobeny *in vitro* essayům vůči receptoru nikotinického acetylcholinu, jak se níže popisuje a bylo shledáno, že se efektivně vážou k receptoru. Funkční *in vitro* essaye byly také provedeny pro stanovení schopnosti sloučenin modulovat funkci receptoru nikotinického acetylcholinu z hlediska proudění iontů a neuroprotektivních činností. Vedle toho byly sloučeniny

podle vynálezu hodnoceny na známých zvířecích modelech bolesti nebo analgesie, které se používají pro predikování analgetických vlastností u vyšších živočichů, včetně lidí, právě tak jako protizánětlivých účinků (Sheen K. a Chung J. M., *Brain Res.*, 610: 62-68, 1993. Relevance zvířecích neuropathických modelů pro chronickou bolest u lidí je popisována Selzer-em (*Neurosciences*, 7, 211-220, 1995).

Bylo zjištěno, že sloučeniny podle vynálezu jsou prospěšné svojí vazbou na receptory nikotinického acetylcholinu a jako efektivní analgetika. Níže popsané testy ukazují, že sloučeniny podle vynálezu jsou účinné při živočišných modelech bolesti. Vedle obecných analgetických vlastností sloučenin, některé (*R*)-enantiomery mají vzhledem k (*S*)-enantiomerům lepší profil bezpečnosti, což bylo prokázáno dvěma způsoby (periferální vedlejší efekty související s aktivací autonomních receptorů ganglionického typu a periferální vedlejší efekty související s aktivací skeletálním svalům podobných receptorů nikotinického acetylcholinu). Data ukazující tento zlepšený profil bezpečnosti jsou rovněž uvedena níže.

Protokoly *in vitro*

Protokol pro určení vazebných sil ligandů kanálků receptoru nikotinického acetylcholinu

Vázání [³H]-cytisinu ([³H]-CYT) na neuronální receptory nikotinického acetylcholinu bylo provedeno za použití surových synaptických membránových preparátů z celého krysího mozku (Pabreza a spol., *Molecular Pharmacol.*, 1990, 39:9). Před použitím byly promyté membrány uchovávány při -80°C. Zmrazené alikvoty byly zvolna rozmrazeny a resuspendovány ve 20 objemech pufru (obsahujícího: 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 2 mM CaCl₂ a 50 mM Tris-Cl, pH 7,4, @ 4°C). Po 15 minutovém centrifugování při 20.000x g byly pelety znovu suspendovány ve 30 objemech pufru. Homogenát (obsahující 125 - 150 µg proteinu) byl přidán do trojice zkumavek obsahujících koncentrace testované sloučeniny a [³H]-CYT (1,25 nM) v konečném objemu 500 µl. Vzorky byly inkubovány 60 minut při 4°C, potom rychle filtrovány Whatman GF/B filtry předmaččenými v 0,5 % polyethyleniminu za použití 3 x 4 ml ledově chladného pufru. Radioaktivita filtrů byla zjišťována ve 4 ml Ecolume® (ICN). Nespecifická vazba byla stanovena v přítomnosti 10 µM (-)-nikotinu a hodnoty byly vyjádřeny jako procentuální obsah celkové vazby. Hodnoty IC₅₀ byly určeny přizpůsobeným programem RS-1 (BBN) nejmenších čtverců nelineární křivky a

IC₅₀ hodnoty byly konvertovány na Ki hodnoty za použití Cheng-ovy a Prusoff-ovy korekce

($K_i = IC_{50} / 1 + [\text{ligand}] / K_d \text{ ligandu}$). Střídavě byla data vyjadřována jako procentický obsah celkové specifické vazby. Data o vazbě (uvedená v Tabulce 1) svědčí, že sloučeniny podle předkládaného vynálezu mají vysokou afinitu k neuronálnímu receptoru nikotinického acetylcholinu.

TABULKA 1

Příklad	Enantiomer	X	Y	[³ H] CYT K _i (nM)
6	R	H	H	0,04
4	R	Cl	H	0,05
8	R	F	H	0,06
11	R	H	F	0,34
14	R	H	Me	0,18
16	R	Cl	Cl	0,06
18	R	Cl	Br	0,02
97*	R	H	H	85
114	R	H	Cl	0,12
115	R	Me	H	0,07
118**	R	Me	H	4,8
119	R	OMe	H	0,67
124	R	Me	Br	0,03
125	R	F	Br	0,04
127	R	Cl	Me	0,06
128	R	Br	H	0,17
129	R	F	ethenyl	0,09

7	S	H	H	0,04
19	S	Cl	H	0,04
9	S	F	H	0,16
20	S	Me	H	0,06
10	S	H	F	0,09
21	S	H	Cl	0,04
12	S	H	Br	0,26

13	S	H	Me	0,05
23	S	H	Et	0,11
24	S	H	n-Pr	0,05
22	S	H	vinyl	0,97
15	S	Cl	Cl	0,02
17	S	Cl	Br	0,02
25	S	Cl	Me	0,05
27	S	Cl	Et	0,04
28	S	Cl	n-Pr	0,03
29	S	Cl	n-Bu	0,16
26	S	Cl	vinyl	0,24
30	S	Cl	ethinyl	0,04
31	S	F	Br	0,03
32	S	F	Me	0,10
33	S	F	Cl	0,04
34	S	Me	Br	0,02
36	S	Me	Et	0,04
35	S	Me	vinyl	0,22
113	S	CHF ₂	H	0,17
116**	S	F	H	0,34
117**	S	Me	H	0,17
120	S	H	OEt	0,04
121*	S	H	H	2,3
122**	S	H	H	0,10
123	S	CN	H	1,9
126	S	F	Et	0,07
130	S	H	3-propenyl	0,04
131	S	F	ethenyl	0,13
132	S	H	NO ₂	0,33

*sloučenina má také Cl-substituent v poloze 2

** sloučenina má také F-substituent v poloze 2

Tkáňové izoláty z *Torpedo Californica* modelují vlastnosti receptorů nikotinického acetylcholinu na receptorech neuromuskulárních spojení u savců. Z tohoto důvodu byla vazba sloučenin stanovována používáním essayů vazby na tuhou fázi, které měří vazbu [^{125} I] α -bungarotoxinu (106 Ci/mmol) na tkáňové izoláty. Jímky mikrotitrační desky o 96 jímkách (Immulon Removawells Strips, Dynatech, Chantilly, VA) byly pokryty 0,5 μ g membrán *Torpeda* (ABS Inc., Wilmigton, DE) v 50 mM NaHCO₃ pufru, pH 9,6, na 12 hodin při 4°C. Potom byly jímky dvakrát promyty fyziologickým roztokem pufrovaným fosfátem (PBS) a zakončení bylo prováděno 1 hodinu 5 % albuminem hovězího sera (BSA). Potom byl do jímek na 1 hodinu přidán [^{125} I] α -bungarotoxin (~1,9 nM / 100 μ l 10 mM fosfátový pufr, pH 7,4 / 0,2 % BSA). Pro kompetitivní experimenty byly do jímek v trojím provedení přidány rostoucí koncentrace konkurenta (50 μ l), následované bezprostředně 50 μ l [^{125} I] α -bungarotoxinu a inkubováno 1 hodinu. Nespecifická vazba byla určena v přítomnosti 1 μ M α -bungarotoxinu. Po inkubaci byly jímky pětikrát promyty PBS. Obsah jednotlivých jímek byl přenesen do fiól a radioaktivita byla měřena gamma počítačem (Model 5000, Beckman, Fullerton, CA).

Data v Tabulce 2 ukazují, že (*R*)-enantiomer sloučeniny z příkladu 4 má pozoruhodně 12,8-krát sníženou afinitu (tj. zvýšenou selektivitu) pro nikotinický acetylcholinový receptor neuromuskulárních spojení, která kontrastuje s jeho ekvivalentní aktivitou neuronálních receptorů nikotinického acetylcholinu značených [^{3} H]-cytisinem (Tabulka 1). Tato data značí, že příklad 4 bude bezpečnější a méně pravděpodobně bude způsobovat motorické nebo respirační komplikace než jeho (*S*)-enantiomer.

TABULKA 2

Příklad	Enantiomer	X	Y	Ki (nm) α -bungarotoxin
19	S	Cl	H	1300
4	R	Cl	H	16,600

Protokol stanovení schopnosti ligandů receptoru nikotinického acetylcholinu aktivovat periferní ganglionické receptory

Buňky IMR-32 klonální buněčné řady lidského blastomu (ATCC, Rockville, MD) byly udržovány ve vývojové fázi růstu podle zavedených procedur. Experimentálními buňkami byla při hustotě 500,000 buněk/ml osazena mísa pro kultivaci kultury s 24 jímkami. Zakryté buňky se nechaly rozmnožovat nejméně 48 hodin před tím, než byly přes noc při 37°C naloženy s 2 μCi / ml $^{86}\text{Rb}^+$ (35 Ci / mmol). Essaye výtoku $^{86}\text{Rb}^+$ byly prováděny podle dříve publikovaných protokolů (Lukas R.J., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 265: 294-304, **1993**) s tou výjimkou, že během naložení s $^{86}\text{Rb}^+$, vymývání a agonistem indukovaných emanačních kroků bylo použito séra prosté Dulbecco's Modified Eagle's Medium. Data ukazují aktivaci $^{86}\text{Rb}^+$ toku při koncentraci 1 μM a vyjadřují odezvu jako procentuální obsah maximální odezvy vyvolané (S)-nikotinem. Data jsou interpretována tak, že čím je větší odezva, tím je silnější aktivace periferních gangliotických receptorů, která je dále vysvětlena předpokladem, že *in vivo* dojde k silnějšímu přispívání nežádoucích účinků, na příklad na kardiovaskulární a/nebo gastrointestinální systémy.

Údaje pro aktivaci $^{86}\text{Rb}^+$ toku v IMR-32 buněčné řadě pro enantiomerní pára sloučenin podle vynálezu jsou srovnávány v Tabulce 3. Data ukazují, že ve velké většině případů (5 ze 6 uvedených) (*R*)-enantiomer z každého páru je pro aktivaci $^{86}\text{Rb}^+$ toku méně potentní než odpovídající (*S*)-enantiomer. Proto lze očekávat, (*R*)-enantiomery budou mít menší schopnost vyvolávat nežádoucí účinky na periferní autonomní receptory nikotinického acetylcholinu, na příklad na kardiovaskulární nebo gastrointestinální systémy.

TABULKA 3

Příklad č.	Enantiomer	X	Y	IMR-32, % maximální nikotinové odezvy při konc. 1 μM sloučeniny
4	R	Cl	H	97
19	S	Cl	H	173
8	R	F	H	46
9	S	F	H	103

16	R	Cl	Cl	85
15	S	Cl	Cl	117
18	R	Cl	Br	93
17	S	Cl	Br	120
11	R	H	F	31
10	S	H	F	28
14	R	H	Me	15
13	S	H	Me	27

Protokol pro určení účinnosti ligandů receptoru nikotinického acetylcholinu jako působků pro prevenci odumírání neuronálních buněk v míše

(-)-Nikotin, ABT-418, ABT-089 a příbuzné receptory nikotinického acetylcholinu mají indikativní vlastnosti pro neuroprotektci *in vitro* a *in vivo* (Akaike A. a spol., *Brain Res.*, 644:181-187, **1994**; Donnelly-Roberts a spol., *Brain Res.*, 729:36-44, **1996**; Marin P a spol., *Neuroreport*, 5:1977-1980, **1994**; Martin E. J. a spol. *Drug Dev. Res.*, 31:135-141, **1994**; Shimohama S. a spol., *Annals New York Academy of Sciences* 356-361, **1996**).

Účinek sloučeniny z příkladu 4 pro ochranu proti neurotoxické u jednoho modelu týkající se neuropathické bolesti a neurodegenerace míchy, je podrobně popsán níže.

Primární míšní motoneuronové kultury smíšených velkých a malých průměrů byly připraveny z Spragueových-Dawleyových krys ve 13 dni březosti jak popsal Regan a Choi (*J. Neuroscience*, 43:585-591, **1991**). Buňkami byly pokryty L-lysinem potažené kultivační misky s 96 jímkami s hustotou kolem 50.000 buněk na jímku v L15 mediu obsahujícím 2 % koňského séra (HS) / 33 mM glukosy / 2 mM glutaminu / 50 jednotek/ml penicilin:streptomycin / B27 doplněk / 10 mg/ml NGF. Aby se z míšních kultur eliminovaly fibroplasty a Schwann-ovy buňky bylo třetí den po dva dny použito

antimitotické živné medium (L15 plus 10 nM uridinu a 10 mM 5-fluoro-2'-exoxyuridinu bez HS). Kultury byly udržovány při 36°C / 10 % CO₂.

Po 7 dnech *in vitro* (DIV) bylo na buňky po 2 hodiny předem působeno testovanou sloučeninou zředěnou v mediu L-15 s dodatkem B27. Tento předem použitý roztok byl vyměněn za HBSS (bez hořčíku, avšak s 3mM chloridu vápenatého) obsahující substanci P (SP) (30 μM) nebo glutamát (Glu) a dalších 15 minut byl podroben vzájemnému působení s testovanou sloučeninou. Tato sloučenina/narušený roztok byly odstraněny a na 24 hodin nahrazeny čistým L-15/B27 mediem. Neuronální poškození bylo stanoveno buď 1) měřením úrovní cytosolického enzymu laktát dehydrogenasy (LDH) uvolňované do media poškozenými buňkami, nebo 2) obarvením buněk 4 % Trypanovou modří 5 minut a zjištění poškození morfologicky světelnou mikroskopií. LDH byla kvantifikována za použití analytické soupravy Cytotox 96 (Promega; Madison, WI) jak bylo popsáno dříve (Donnelly-Roberts, *viz citaci*). Basální uvolnění LDH bylo typicky mezi 6-9 % LDH uvolněné po lysi buněk s 0,8 % Tritonu X-100, zatímco poškození mělo za následek dvoj- až trojnásobný vzrůst nad basální úroveň. Aby bylo možné srovnávat mezi miskami, byly všechny hodnoty normalisovány na 30 μM SP-indukované maximální uvolnění LDH (přisouzeno 100%). Tyto toxické případy jsou zprostředkované receptorem, protože efekt SP může být blokován antagonistou SP receptoru, spantide II (100 μM) a Glu-indukovaná toxicita může být blokována antagonistou NMDA receptoru, MK-801 (1 μM). Avšak tyto indukované toxicity jsou pravděpodobně rozdílné mechanisticky, vzhledem k tomu, že MK-801 nemůže zabránit SP-indukované toxicitě.

Výsledky ukazují, že sloučenina z příkladu 4 má potenciál být účinnější proti širšímu spektru neurotoxických případů než antagonisté NMDA receptoru. Na rozdíl od MK-801, sloučenina z příkladu 4 snižuje jak SP- tak Glu-indukovanou neurotoxicitu s EC₅₀ pro neuroprotektci 10 μM (Obrázek 1). Avšak (S)-enantiomer, sloučenina z příkladu 19, je desetkrát méně účinná z hlediska neuroprotektce v míše (EC₅₀ = 100 mM). Tento neuroprotektivní efekt je blokován selektivními nikotinickými antagonisty, mekamlaminem (10 μM), methyllykakonitinem (MLA, 10 nM) a α-bungarotoxinem (α-BTX, 1 nM), což ukazuje na mechanismus neuronálního nikotinického receptoru. Tyto výsledky svědčí, že sloučeniny vzorce I jsou účinné při způsobu ošetřování nebo prevenci odumírání neuronálních buněk u savců, včetně lidí a jsou užitečné při

potíží s tím spojených v podmínkách souvisejících s centrální a periferní neuropathickou

bolestí, která zahrnuje AIDS, rakovinu, mrtvici, Parkinsonovu chorobu, diabetes, osteoartritidu, tkáňové trauma, chirurgické zákroky nebo post-terapeutickou neuralgii. Předložený vynález tedy zahrnuje způsob ošetřování neurotoxicity nebo míšní neurodegenerace obsahující podávání terapeuticky účinného množství sloučeniny I pacientovi, který takové ošetření potřebuje. Preferovanou sloučeninou je R-enantiomer.

Protokoly *in vivo*

Protokol určení efektivity ligandů receptorů nikotinického acetylcholinu jako analgetických činidel na topné desce typu adaptovaného pro myš

Separátní skupiny myší ($n = 8$ /skupina dávek) byly užity pro každou skupinu dávek. Všechna léčiva byla podávána intraperitonální cestou. Zvířata byla nadávkována 30 minut před testováním na topné desce. Použitá topná deska byla topnou deskou s automatickým monitorem analgesie (model # AHP16AN, Omnitech Electronics, Inc., Columbus OH). Teplota topné desky byla udržována na 55°C a používaná doba vypínání byla 180 sekund. Doba latence až do desátého vypnutí byla zaznamenána jako závislá míra. Zvýšení latence nad desáté vypnutí vzhledem ke kontrole, bylo považováno jako efekt potlačení reakce na bolest. Tabulka 4 ukazuje mezi testovanými dávkami minimálně efektivní dávku (MED), při které byl pro sloučeniny podle vynálezu pozorován výrazný efekt potlačení reakce na bolest. Data ukazují, že sloučeniny podle vynálezu vykazují výrazný efekt potlačení reakce na bolest obvykle při dávce mezi 0,062 až 62 $\mu\text{mol/kg}$ intraperitonálně.

Protokol určení efektivity ligandů receptorů nikotinického acetylcholinu jako analgetických činidel při Chung-ově modelu neuropathické bolesti

Chung-ův model neuropathické bolesti byl uskutečňován na krysách (samci Sprague-Dawley) jednostranným podvázáním L5 a L6 nervů, které inervují zadní končetinu (Kim a Chung, *Pain*, **1992**, 50, 355-363). Po dostatečné době zotavení vykazala tato zvířata zřetelnou allodynní (ústup od normálního nebolestivého stimulu) odezvu na dotkový stimul (tj. VonFrey-ovy vlasy). Tato odezva se kvantifikovala určením 50 % prahové odezvy na různou hmotnost VonFrey-ových vlasů. Vlasy se aplikují na střední oblast chodidla zadní nožky, která je na stejné straně jako podvázání. Zvířata byla opakovaně testována v průběhu 120 minut. U každého testovaného zvířete byl v separátních dnech použit překřížovací vzorek po podání

fysiologického roztoku a každé dávky testované sloučeniny. Výrazný vzrůst 50 % prahové odezvy po ošetření testovanou sloučeninou vzhledem k 50 % prahové odezvě po ošetření fysiologickým roztokem byl považován za anti-allodynní efekt.

Anti-allodynní efekt se vyhodnocuje, aby se demonstroval silný potenciál pro ošetřování neuropathické bolesti. Vybrané sloučeniny podle vynálezu byly testovány podle tohoto modelu neuropathické bolesti s výsledky uvedenými v Tabulce 4. Tabulka uvádí mezi testovanými dávkami minimálně efektivní dávku (MED), při které vybrané sloučeniny vykazaly výrazný vzrůst 50 % prahové odezvy vzhledem ke kontrolním subjektům. Data ukazují, že sedm z osmi testovaných sloučenin vykazalo signifikantní efekt alespoň při jedné z testovaných dávek, a že k zaznamenaným výrazným účinkům docházelo v rozsahu dávek 0,19 až 0,62 $\mu\text{mol/kg}$ intraperitonálně.

TABULKA 4

Příklad	Enantiomer	X	Y	MED model topné desky ($\mu\text{mol/kg}$ i. p.)	MED Chung-ův model ($\mu\text{mol/kg}$ i. p.)
6	R	H	H	NS	
4	R	Cl	H	0,62	0,3
8	R	F	H	1,9	0,62
11	R	H	F	NS	
14	R	H	Me	62	
16	R	Cl	Cl	6,2	0,19
18	R	Cl	Br	0,62	
7	S	H	H	6,2	
19	S	Cl	H	0,62	0,3
9	S	F	H	0,62	
20	S	Me	H	0,62	
10	S	H	F	6,2	0,62
21	S	H	Cl	NS	
12	S	H	Br	NS	
13	S	H	Me	NS	
23	S	H	Et	NS	

24	S	H	n-Pr	62	
15	S	Cl	Cl	1,9	NS
17	S	Cl	Br	1,9	0,19
25	S	Cl	Me	0,062	
27	S	Cl	Et	NS	
28	S	Cl	n-Pr	NS	
29	S	Cl	n-Bu	NS	
26	S	Cl	vinyl	1,9	
30	S	Cl	ethinyl	6,2	
31	S	F	Br	6,2	
32	S	F	Me	NS	
34	S	Me	Br	0,62	
36	S	Me	Et	NS	
35	S	Me	vinyl	NS	
122**	S	H	H	-	1,9

NS = u testovaných dávek nebyl pozorován výrazný efekt vzhledem ke kontrolám s fyziologickým roztokem.

** Sloučenina má také fluorový substituent v poloze 2.

Jak je ukázáno v Tabulce 4 některé ze sloučenin v (S) nebo R) řadě nevykazují v analgetických modelech aktivitu. Způsob ošetřování nebo prevence bolesti obsahující podávání sloučeniny vzorce I s X a Y, jak bylo dříve uvedeno vysloveně vylučují ty nahoře uvedené konkrétní (S) a (R) sloučeniny, které v modelech měření bolesti nevykazují žádnou aktivitu. Sloučeniny, které aktivitu vykazují nebo, které mohou aktivitu vykazat v později vyvinutých modelech měření bolesti jsou zahrnuty do rozsahu patentových nároků. Sloučeniny vzorce I jsou také účinné jako modifikátory odumírání neuronálních buněk a/nebo zánětů.

Protokol určení efektivity ligandů receptorů nikotinického acetylcholinu v interferenci s lokomotorickou aktivitou v přístroji s rotující tyčkou

Motorická koordinace byla stanovována pomocí přístroje s tyčkou se zrychlující se rotací (Omnitech Electronics, Inc., Columbus, OH). Locomotorická aktivita byla

monitorována v rozptýleném světle na 41 x 41 cm otevřeném poli, za použití systému aktivity světelného paprsku (San Diego Instruments, San Diego, CA). Myš byla umístěna na tyčku o průměru 3,5 cm, jejíž rychlost otáčení vzrůstala během 120 sekund z 0 na 40 ot./min. Doba potřebná k tomu, aby myš spadla z tyčky byla zaznamenána s maximálním počtem 120 sekund. Dvacet pět minut po obdržení intraperitonální injekce byly myši umístěny na 5 minut do otevřeného pole. Po vynětí z otevřeného pole (tj. 30 min po injekci) byly bezprostředně testovány na rotující tyčce. Tělesná teplota byla stanovena pomocí sondy vložené 3 cm do rekta přibližně 35 minut po injekci (YSI Tele-Thermometer, Yellow Springs Instrument Co., Inc., Yellow Springs, OH). Jako pozitivní kontrola byl použit Diazepam (10,5 $\mu\text{mol/kg}$ intraperitonálně).

Sloučenina z příkladu 8 byla testována na aktivitu, teplotu a test rotující tyčky a nevykázala na rotující tyčce efekt, dokud nebylo dosaženo dávky 19. Na rozdíl od toho sloučenina z příkladu 9 vykazovala zhoršení při 0,62 $\mu\text{mol/kg}$ ve dvou ze tří experimentů. To ukazuje, že (*R*)-enantiomer (příklad 8) má méně vedlejších účinků motorické koordinace než (*S*)-enantiomer (příklad 9).

Protokol určení efektivity ligandů receptorů nikotinického acetylcholinu jako analgetických činidel při kombinaci s opiáty na topné desce typu adaptovaného pro myš

V této sadě experimentů byla neúčinná dávka sloučeniny z příkladu 4 kombinována s podprahovými a účinnými dávkami morfinu. Sloučeniny byly spolu smíseny v injekční stříkačce a intraperitonálním způsobem spolu podány 30 minut před testováním na topné desce typu adaptovaného pro myš, jak je uváděno shora. Pro každou skupinu dávek byly použity oddělené skupiny zvířat ($n = 7-8/\text{skupina dávek}$).

Výsledky na obrázku 2 ukazují, že sloučenina z příkladu 4 spojená s podprahovými dávkami morfinu může způsobit efektivní vyvolání aktivity v potlačování reakce na bolest. Vedle toho, výsledkem kombinování neefektivních dávek sloučeniny z příkladu 4 s efektivními dávkami morfinu je zvýšená účinnost proti reakci na bolest.

Celkem vzato tyto výsledky svědčí, že kombinovaná terapie objevených sloučenin spolu s opiáty může vyústit ve výrazně zvýšenou analgetickou účinnost. Je myslitelné, že kombinaci těchto ligandů nikotinického acetylcholinu s jinými dostupnými analgetiky může rovněž poskytnout další blahodárné účinky.

Protokol určení efektivity ligandů receptorů nikotinického acetylcholinu jako analgetických činidel při Chung-ově modelu neuropathické bolesti v důsledku opakovaného dávkování

Zvířata byla chirurgicky preparována jak se svrchu popisuje u Chung-ova modelu. Pro stanovení každé testované sloučeniny byly vytvořeny dvě ošetřované skupiny, každá o šesti zvířatech. Jedna skupina dostávala testovanou sloučeninu intraperitonálně dvakrát denně po 5 dní a druhé skupině byla podle stejného rozvrhu injektován fyziologický roztok. Odezvy na vonFrey-ovy vlasy byly stanoveny jak bylo oboje popsáno svrchu před a po 15 minutách, injekce první dva dny a také pátý den. Solným fyziologickým roztokem ošetřované skupině byla podávána fyziologická solanka první 4 dny a ráno pátého dne, ale stimulaci testovanou sloučeninou dostala odpoledne pátého dne. Výsledky testovacích sloučenin jako sloučeniny z příkladu 4 a pro morfin jsou uvedeny na obrázcích 3 a respektive 4, při čemž světlé sloupce zobrazují odezvy před podáním testovaných sloučenin a tmavé sloupce zobrazují odezvy patnáct minut po podání testované sloučeniny.

Výrazný anti-allodynní účinky sloučeniny z příkladu 4 byly pozorovány během každé testovací směny a nebyly zaznamenány žádné rozdíly v anti-allodynních účincích této stimulace se sloučeninou z příkladu 4 mezi krysami, které dostaly b.i.d. injekce sloučeniny z příkladu 4 (0,3 $\mu\text{mol/kg}$ intraperitonálně) a krysami, které předběžně dostaly injekce fyziologické solanky. Tento výsledek značí, že anti-allodynní efekt sloučeniny z příkladu 4 nesnižuje následující opakované dávkování. Na rozdíl od toho účinky morfinu (21 $\mu\text{mol/kg}$) v tomto modelu byly výrazně sníženy po opakovaném b.i.d. dávkování. Tento výsledek svědčí že sloučenina z příkladu 4 je při ulevování chronické neuropathické bolesti užitečná více než morfin.

Protokol určení efektivity ligandů receptorů nikotinického acetylcholinu jako analgetických činidel při formalinovém modelu setrvalé bolesti

Test je podle protokolu uvedeného v literatuře (Tjølsen a spol., *Pain*, **1992**, 51, 5-17). 50 μl injekce silného chemického iritantu, formalinu, byla provedena subkutánně do hřbetního povrchu jedné ze zadních končetin samčích Spragueových-Dawleyových krys. Stupeň chování k bolestivé reakci (např. cukání, kousání, lízání nebo zvedání nožky) vykazuje v čase charakteristicky dvě fáze, s krátkou iniciační periodou následující po formalinové injekci s trváním kolem 5 minut a delší fází odezvy

počínající kolem 20 minut po formalinové injekci. Tato druhá fáze odezvy je maximální kolem 30 - 50 minut po injekci a zdá se, že zahrnuje zánětlivou složku. Chování k bolestivé reakci byla zaznamenávána během této druhé fáze odezvy (30 - 50 minut po formalinové injekci) při průběžném prohlížení (doba pozorování každé krysy 15 sekund během každé minuty). Testovaná sloučenina byla podávána orálně skupině sedmi krys v různých dávkách 15 minut před formalinovou injekcí. Odezvy byly srovnávány s podobnou skupinou, která obdržela solný fyziologický roztok.

Výsledky na obrázku 5 ukazují, že sloučenina z příkladu 4 vyvolává po orální aplikaci při tomto modelu setrvalé bolesti výrazné účinky proti reakci na bolest a naznačují, že tato sloučenina může být užitečná jako orální analgetikum pro ošetřování akutní bolesti.

Protokol určení efektivity ligandů receptorů nikotinického acetylcholinu jako analgetických činidel při modelu tepelného stimulatoru tlapky (Hotbox)

Pro stanovení na bolest reagujících odezev na akutní tepelný stimul byl použit komerčně dostupný tepelný stimulator končetin (Anesthesiology Research Laboratory, Department of Anesthesiology, University of California at San Diego, La Jolla, CA). Tento přístroj byl popsán dříve (Dirig D. M. a Yaksh T. L., *Pain*, 62:321-328, **1995**) a je založen na původní práci Hargreaves a spol. (*Pain*, 32:77-78, **1998**). Krysy byly umístěny do kojí z plexiskla, které byly umístěny na skleněný povrch aparátu. Povrch skla byl udržován na 30°C. Tepelný stimul byl proveden na spodek zadní nohy krysy pomocí pohyblivé fokusované projekční žárovky. Stimulační proud byl udržován na 4,8 A. Latenční doba, dokud zvíře nepohlo svoji nohu od stimulu, byla zaznamenávána automaticky za použití fotodiodových pohybových sensorů. Při probíhajících studiích bylo používáno vypínání po 20 sekundách, aby se omezilo možné poškození tkáně po expozici na stimul.

Všechny studie počínaly aklimatisační periodou 20 minut. Po aklimatisační periodě byla určena pro každé zvíře naměřena základní linie. Po stanovení základní linie, byla skutečně ošetření a měření byla prováděna v různých časových úsecích po ošetření (např. 15, 30 a 45 minut). Pro jasnost byla po čase data shromážděna pro statistickou analýzu (pokud není uvedeno jinak).

Zásobní roztoky sloučenin byly připraveny v absolutním ethanolu v koncentraci 62 $\mu\text{mol/ml}$. Z toho byly získávány s 10 % ethanolom roztoky a dávkovány jako

intraperitonální injekce. Sloučeniny byly testovány v rozmezí dávek od 0,62 do 6,2 $\mu\text{mol/kg}$.

Pro měření byl použit následující protokol. V každé serii bylo použito šest zvířat. Pro jakékoliv dané měření (např. časový úsek) byla testována jedna noha každého ze šesti zvířat a potom byl pochod opakován u druhé nohy. Střední hodnoty pro odezvy byly potom počítány na základě dvou údajů. Data z tohoto experimentu jsou udána v následující tabulce a ukazují, že vybrané sloučeniny vykazují analgesii při dávkách od 0,62 do 6,2 $\mu\text{mol/kg}$.

TABULKA

ANALGETICKÝCH DÁVEK VYBRANÝCH SLOUČENIN PŘI HOTBOX MODELU

Sloučenina z příkladu číslo	Analgetická dávka ($\mu\text{mol/kg}$)
54	>6,2
71	0,62
72	0,62
75	6,2
79	0,62
80	0,62
81	0,62
92	>6,2
95	>6,2

Protokol určení protizánětlivých účinků ligandů receptorů nikotinického acetylcholinu

Samci Spragueových-Dawleyových krys (Charles River, Portage, MI) vážící přibližně 200 g byly 16 hodin podrobeny hladovění s volným přístupem k vodě. Spragueovy-Dawleyovy krysy, u kterých byla provedena adrenalektomie (Charles River, Portage, MI), použité ve vybraných studiích, byly rovněž podrobeny hladovění, ale byl jim umožněn volný přístup solnému fyziologickému roztoku. Jednoho dne při experimentu byly krysy zváženy a výtlačem vody byl změřen objem každé zadní tlapy pomocí Buxco pletysmografu. Při těchto studiích byla všechna testovaná činidla solubilisována ve sterilním 0,9 %-ním solném roztoku a aplikována intraperitonální injekcí. V době stimulace bylo podle metody Wintera a spol. (Winter C.A., a spol., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 111:554, 1962) do pravé zadní tlapy subkutánně

injektováno 100 μ l 1 %-ní karagénové soluce (Sigma) ve sterilním 0,9 %-ním solném roztoku. Po dvou hodinách (pokud není poznamenáno jinak) byl znovu změřen objem levé a pravé zadní tlapky, aby se určil otok.

Po injekci karagénu do chodidel krysy dochází v nejbližších 2-6 hodinách k akutní zánětlivé reakci. Tlapka dramaticky naběhne jak se dokáže přímým pletysmografickým měřením objemů tlapky. Tento vzrůst objemu tlapky sensitivisuje nociceptory (tj. receptory bolesti) fyzikálním tlakem na šlachy a nervy a způsobuje hyperalgesii (tj. zvýšenou odezvu na škodlivý stimul).

Sloučenina z příkladu 4 snižuje karagénem indukovaný edém tlapky s ED_{30} , obnášející 0,21 μ mol/kg intraperitonálně. Mimo to je sloučenina z příkladu 4 pro snížení edému tlapky tak účinná jako dexamethason (panel A, obrázek 6). Účinek sloučeniny z příkladu 4 na edém tlapky je zabraňován antagonistou receptoru nikotinického acetylcholinu, mekamlaminem (panel B, obrázek 6). Tato data demonstrují že sloučenina z příkladu 4 je účinná v modelech, které se užívají pro stanovení protizánětlivých účinků, a že účinky jsou zprostředkovány receptory nikotinického acetylcholinu. Jak nasvědčují hořejší údaje, sloučeniny vzorce I, s variantami jak je definováno shora u metody ošetřování bolesti, vedle toho budou účinné při omezování nebo ošetřování zánětů.

Tyto údaje také naznačují, že sloučeniny z tohoto vynálezu budou mít také protizánětlivé účinky, a že další užitek ze snižování zánětů těchto ligandů nikotinického acetylcholinu může přispět k lepší úlevě od bolesti.

Protokol měření kardiovaskulárních účinků u psů

Psí samci rasy bíglů byli podrobeni anestezii fenobarbitalem (35 mg/kg intravenosně) a potom konstantní intravenosní infusi fenobarbitalu (5 mg/kg/h). Zvířata byla ventilována vzduchem místnosti pomocí mechanické respirační pumpy. Krevní tlak byl měřen mikromanometrem v katetru s dvěma hroty (Millar, Model SPC-770, 7F) vsunutém krční tepnou do levé srdeční komory. Pomocí katetru byly do pravé stehenní vény injektovány sloučeniny. Hemodynamické proměny byly samočinně zaznamenávány na zařízení pro zpracování signálů za použití XYZ časového zapisovače (Modular Instruments, Inc.) Po chirurgickém zákroku bylo ponecháno šedesát minut pro ustavení stabilní základní linie pro měřené proměny. Testované sloučeniny byly podávány jako intravenosní bolus (10 nmol/kg) a byly srovnávány z

hlediska jejich relativní schopnosti vyvolat změny krevního tlaku a srdečního rytmu během pětiminutové doby snímání údajů.

TABULKA

UDÁVAJÍCÍ KARDIVASKULÁRNÍ ÚČINKY PŘÍKLADU 1 PROTI PŘÍKLADU 19

Essay	Sloučenina z příkladu 19	Sloučenina z příkladu 1
Vzrůst diastolického krevního tlaku (mm Hg)	$67,3 \pm 3,2$	$23,2 \pm 4,6$
Vzrůst srdečního rytmu (pulsy/min)	$26,0 \pm 7,8$	$7,8 \pm 2,9$

Sloučenina z příkladu 1, (*R*)-enantiomer 5-(azetidinylmethoxy)-2-chlorpyridin, zvyšuje krevní tlak pouze přibližně na 1/3 hodnoty, kterou vykazuje sloučenina z příkladu 19, (*S*)-enantiomer 5-(azetidinylmethoxy)-2-chlorpyridin. Vedle toho sloučenina z příkladu 1 zvyšuje srdeční rytmus psů jen na 1/3 toho, co poskytuje sloučenina z příkladu 19. Tyto údaje svědčí o tom, že sloučenina z příkladu 1 vyvolává méně robustní účinky na kardiovaskulární parametry než to činí sloučenina z příkladu 19, a proto je sloučeninou bezpečnější. To znamená, že (*R*)-isomer je bezpečnější než (*S*)-isomer.

Konverse prekursoru léčiva u psů

Ukázalo se, že se prekursory ve formě ($R = \text{ArCO}$, $Z = Y = \text{H}$, $X = \text{F}$) po orálním podání psům rychle mění na účinné léčivo ($R = Z = Y = \text{H}$, $X = \text{F}$). Údaje jsou v tabulce. U každého příkladu byl pozorován vrchol hladiny matečné sloučeniny ($R = \text{H}$) v plasmě během 0,6 - 0,8 h a v úrovních ($C_{\max}$) odpovídajících účinné dávce matečné látky. Účinnost konverse (F) kolísá od 27 % až do 61 %. Žádná z těchto sloučenin nebyla účinná ve funkčních essayích na účinnost u nikotinických receptorů (buněčná řada K177) *in vitro*, což svědčí, že aktivita *in vivo* pochází z konverse na $R = \text{H}$ formu.

R	$C_{\max}$ (ng/ml)	$T_{\max}$ (h)	$t_{1/2}$ (h)	$\text{AUC}_{0-\infty}$ (ng.h/ml)	$F^{\dagger}$ (%)
PhCO	6,31	0,6	1,8	18,89	27,3
4-NO ₂ C ₆ H ₄ CO	6,01	0,8	1,9	18,76	27,1
4-MeOC ₆ H ₄ CO	7,43	0,8	2,0	26,09	37,7

4-FC ₆ H ₄ CO	3,25	0,8	1,6	9,35	13,5
4-ClC ₆ H ₄ CO	4,54	0,8	2,5	18,61	26,9
4-MeC ₆ H ₄ CO	7,05	0,8	2,4	29,85	43,1
4-MeO ₂ CC ₆ H ₄ CO	10,31	0,8	1,8	42,37	61,2

[†]Biologická užitečnost zjištěna z 20 nmol/kg dávky IV (R = H) v separátní skupině psů

Psi-bíglové byli před nadávkováním podrobeni hladovění přes noc, ale byl jim umožněn volný přístup k vodě. Každý z prekursorů léčiv byl podán skupině tří zvířat v dávce 200 nmol/kg. Formulace byla podávána orálním nakrmováním. Prekursory byly připravovány jako roztoky 200 nmol/ml (1 ml/kg) v normální fyziologické solance. Vzorky krve byly odebírány z krční vény každého psa před nadávkováním a 0,17, 0,33, 0,5, 0,75, 1, 1,5, 2, 3, 4, 6 a 8 hodin po podání drogy. Plasma, oddělená od červených krvinek centrifugováním, byla podrobena nejprve derivatisaci a pak HPLC s fluorescenční detekcí pro kvantifikaci koncentrací aktivní drogy.

Přehled obrázků na výkresech

Obrázek 1 ukazuje, že sloučenina z příkladu 4 jako (*R*)-enantiomer chrání proti SP-indukované neurotoxicitě u kultur krysí míchy způsobem, který je závislý na koncentraci.

Obrázek 2 ukazuje, že pokud byla sloučenina z příkladu 4 v malé dávce (0,2 μmol/kg intraperitonálně) podávána spolu s měnicími se dávkami morfinu (0 - 21 μmol/kg intraperitonálně) vyvolávala antinociceptivní účinky při testu na topné desce typu adaptovaného pro myš.

Obrázek 3 znázorňuje antialodynní efekt sloučeniny z příkladu 4 při Chung-ově modelu neuropathické bolesti. Světlé sloupce odpovídají odezvám před podáním testované sloučeniny (příklad 4). Tmavé sloupce představují odezvy 15 minut po podání testované sloučeniny. Sloučenina z příkladu 4 je srovnávána se solným fyziologickým roztokem.

Obrázek 4 znázorňuje antialodynní efekt morfinu během a po opakované administraci 21 μmol/kg intraperitonálně, ve srovnání s odezvou následující po opakované administraci solného fyziologického roztoku.

Obrázek 5 ukazuje, že sloučenina z příkladu 4 vyvolává výrazné antinociceptivní účinky při formalinovém modelu setrvalé bolesti v relaci k solance (kontrola), a že zvyšování dávkování snižuje nociceptivní odezvy. Rozsah dávkování v tomto testu byl 0,1 - 0,3 $\mu\text{mol/kg}$ per os (orální administrace).

Obrázek 6 ukazuje protizánětlivé účinky sloučeniny z příkladu 4 při karagénovém modelu edému pracky, při kterém se sloučenina při uvedeném dávkování prokázala tak účinná jako dexametason (panel A). Obrázek 6 ukazuje také, že nikotinický antagonist, mekamlamin zabraňuje tento efekt vykázaný v tomto modelu sloučeninou z příkladu 4.

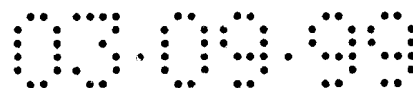
Příklady provedení vynálezu

Následující příklady ukazují jak byly konkrétní příklady provedeny ze snadno připravených nebo komerčně dostupných výchozích materiálů. Předchozí diskuse přípravy sloučenin v rámci tohoto vynálezu je rovněž významná s ohledem na obecnou přípravu výchozích reaktantů využitých k přípravě analgetik nebo sloučenin zde nárokováných a uváděných. Příklady presentované v tabelární formě lze snadno připravovat postupy popsány zde pro preparaci konkrétních sloučenin. Tyto příklady nejsou omezující a je třeba chápat, že sloučeniny v rámci rozsahu, jak se zde uvádí, jsou podle vynálezu stejně, jako jejich využití.

V této části jsou některé termíny uváděny ve zkratkách. Níže se vedle těchto zkratk podává jejich vysvětlení:

Boc, terc, butyloxykarbonyl; Cbz, benzyloxykarbonyl; DMF, N,N-dimethylformamid; MED, minimálně účinná dávka; THF, tetrahydrofuran; TFA, trifluoroctová kyselina; TLC, chromatografie na tenké vrstvě; Ts, tosyl neboli p-toluensulfonyl; OTs, je tosylát neboli p-toluensulfonát.

Jak se v příkladech níže uvádí, byly z hlediska nomenklatury, sloučeniny této třídy obecně označovány jako 3-pyridylethery mající v poloze 3 pyridinového kruhu etherovou funkci (O), na níž se váže methylenazetidinylové seskupení. Je-li však pyridinový kruh di- nebo multisubstituován, může se číslování pyridinového kruhu změnit tím, že na příklad sloučenina vzorce I je v příkladu 4 konkrétně pojmenována tak, že chlorový substituent je v poloze 2 pyridinového kruhu a etherová vazba v poloze 5. Ten, kdo má obvyklé zkušenosti, může sloučeniny snadno identifikovat.



Příklad 1

5-[(2-*R*)-Azetidinylmethoxy]-2-chlorpyridin**1a. 5-[(2-*R*)-Azetidinylmethoxy]-2-chlorpyridin**

Roztok (*R*)-1-terc.butyloxykarbonyl-2-azetidinmethanolu (36,5 g, 0,195 mol) ve 195 ml dichlormethanu byl podroben působení triethylaminu (35,6 ml, 0,255 mol) a potom *p*-toluensulfonylchloridu (48,5 g, 0,254 mol). Vzniklá směs byla 16 hodin míchána při teplotě místnosti. Rychle byl přidán 10 % roztok hydroxidu sodného a směs byla jednu hodinu míchána. Po oddělení fází byla vodná fáze extrahována dalším dichlormethanem, spojena s organickou fází, promyta roztokem NaHCO₃ a solným roztokem, vysušena (MgSO₄), potom sfiltrována a zkoncentrováním ve vakuu poskytla 63,1 g (*R*)-1-terc.butyloxykarbonyl-2-toluensulfonyloxymethylazetidinu (94,8%). Hned potom byl roztok 2-chlor-5-hydroxypyridinu (27 g, 0,185 mol, z kroku 1g) v DMF (690 ml) smísen s pevným KOH (17,95 g, 0,295 mol) a míchán 30 minut při 80°C. K této směsi byl rychle přidán (*R*)-1-terc.butyloxykarbonyl-2-toluensulfonyloxymethylazetidin (63,1 g) rozpuštěný v DMF (395 ml) a směs byla 16 hodin míchána při 80°C. Ve vakuu byl ze směsi odstraněn DMF a vzniklý zbytek byl zředěn vodou a extrahován třikrát AcOEt. Organické extrakty byly spojeny, vysušeny (MgSO₄), sfiltrovány a zkoncentrováním ve vakuu poskytly 58,5 g surového produktu. Tento materiál byl chromatografován (silikagel, 25 % AcOH v hexanu) a bylo získáno 43,2 g 5-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2-*R*)-azetidinylmethoxy]-2-chlorpyridin jako čirý olej (74 %). K roztoku 5-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2-*R*)-azetidinylmethoxy]-2-chlorpyridinu (30 g, 0,1 mol) ve 450 ml dichlormethanu bylo během 30 minut při 0°C po kapkách přidáno 225 ml trifluořctové kyseliny. Po dvou hodinách byla většina rozpouštědla odstraněna ve vakuu a zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu, promyt 1,0 M K₂CO₃ a solným roztokem, vysušen (Na₂SO₄) a zkoncentrován ve vakuu za vzniku 19,1 g žlutého oleje. "Flash" gelovou chromatografií na silikagelu (90:10 CHCl₃ : MeOH, potom 90:10:0,5 CHCl₃ : MeOH : NH₄OH) bylo získáno 16,5 g titulní sloučeniny (výtěžek 83 %). MS (CI / NH₃) *m/z*: 199 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 2,21-2,43 (m, 2H), 3,42-3,50 (m, ¹H), 3,69-3,78 (m, ¹H), 3,98-4,07 (m, 2H), 4,25-4,34 (m, ¹H), 7,22 (d, *J* = 1,7 Hz, 2H), 8,07 (dd, *J* = 2,0 Hz, ¹H).

1b. Benzyl (*R*)-azetidin-2-on-4-karboxylát

Do baňky obsahující dibenzyl (*R*)-asparagovou kyselinu (BACHEM, 6,5 g, 20,6 mol) pod dusíkem bylo přidáno 82 ml diethyletheru. Bílá heterogenní směs byla ochlazená na 0°C, potom bylo přidáno 2,6 ml (2,23 g, 20,6 mmol) chlortrimethylsilanu a následovalo míchání po 15 minut. Pak bylo injekční stříkačkou přidáno 2,9 ml (2,08 g, 20,6 mmol) triethylaminu. Vzniklá bílá heterogenní směs byla 1 hodinu míchána a pak byla rychle pod proudem dusíku sfiltrována skleněnou filtrační nálevkou s fritou střední hustoty. Zakalený bílý filtrát byl umístěn do dusíkové atmosféry a po 20 minut byl podroben po kapkách působení 10,3 ml 2 M terc.butylmagnesiumchloridu v diethyletheru. Vzniklý světle žlutý homogenní roztok byl přes noc ponechán ohřátí na teplotu místnosti a potom byl ochlazen na 0°C. K tomu bylo pomalu přidáno 50 ml 2 N HCl, která byla nasycena NH₄Cl. Tato směs o dvou fázích byla přenesena do dělicí nálevky, vrstvy byly odděleny a vodná fáze byla pak extrahována ethylacetátem a dichlormethanem. Organické extrakty byly spojeny, promyty solným roztokem, vysušeny (Na₂SO₄) a po zkoncentrování ve vakuu poskytly 6,65 g žlutého oleje, který stáním ztuhl. Žlutá tuhá látka byla rozmělněna s octanem ethylnatým a po filtraci bylo získáno 1,7 g benzyl (*R*)-azetidin-2-on-4-karboxylátu jako bílé krystalické tuhé látky. Matečné louhy byly spojeny, koncentrovány, roztřepány s diethyletherem a po filtraci poskytly dalších 350 mg titulní sloučeniny. Spojený výtěžek je 49 %. MS (CI / NH₃) *m/z*: 206 (M+H)⁺, 223 (M+NH₃) ; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 3,08 (ddd. *J* = 2,2, 2,8, 15,1 Hz, ¹H), 3,34 (ddd. *J* = 1,5, 5,9, 15,1 Hz, ¹H), 4,22 (dd. *J* = 2,8, 5,9, Hz, ¹H), 5,21 (s, 2H), 6,17 (s, (br), ¹H), 7,37 (m, 5H).

1c. (*R*)-1-terc.butyloxykarbonyl-2-azetidinmethanol

Do suché baňky s kulatým dnem bylo dáno 410 mg (2 mmol) benzyl (*R*)-azetidin-2-on-4-karboxylátu a 10 ml suchého tetrahydrofuranu, propláchnuto dusíkem a ochlazená na 0°C. K tomuto čirému homogennímu roztoku bylo injekční stříkačkou po kapkách přidáno 10 ml 1 M LiAlH₄ v THF. Po 76 hodinách byla reakce ochlazená na 0°C a pomalu bylo přidáváno 400 μl destilované vody (silný vývoj plynu). Směs byla míchána 15 minut a potom bylo přidáno 400 μl 15 %-ního NaOH a směs byla míchána dalších 15 minut. Nakonec bylo přidáno 800 μl destilované vody, bílá heterogenní reakční směs se nechala ohřát na teplotu místnosti a potom byla sfiltrována přes půl coullovou (1,25 cm) vrstvu Celitu a po zkoncentrování ve vakuu bylo získáno 420 mg

světle žlutého oleje. Část oleje (310 mg) byla smísena se 4 ml CH_2Cl_2 a podrobena působení 460

mg di-terc.butyldikarbonátu (2,1 mmol). Tato kalná, světle žlutá směs byla 4,5 hodiny míchána při teplotě místnosti a potom koncentrována ve vakuu za vzniku 632 mg žlutého oleje. "Flash" chromatografie (silikagel s 2:1 až 1:1 směsí hexan : ethylacetát) poskytla 167 mg titulní sloučeniny (výtěžek 61 %). $[\alpha]_D^{20} +22,3$ (c 1,28, CHCl_3); MS (CI / NH_3) m/z: 188 (M+H)⁺; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,45 (s, 9H), 1,94 (m, ^1H), 2,15 (m, ^1H), 3,68-3,92 (m, 5H), 4,44 (m, ^1H).

1d. (R)-1-terc.butyloxykarbonyl-2-azetidinmethanol

Jako alternativa k postupům příkladů 1b-1c byl (R)-1-terc.butyloxykarbonyl-2-azetidinmethanol připraven z γ -butyrolaktonu podle postupu Rodebaugha R. M. a Cromwella N. H. (*J. Heterocyclic Chem.*, **1969**, 435). Při tomto postupu z literatury byl γ -butyrolakton podroben působení bromu a katalytického množství fosfortribromidu, potom následně benzylalkoholu a plynného chlorovodíku, aby poskytl benzyl α,γ -dibrombutyrát v 62 %-ním výtěžku. Tento dibromid působením jednoho ekvivalentu benzhydrolaminu a uhlčitanu draselného v ethanolu při bodu varu po 16 hodin poskytl v 52 %-ním výtěžku benzyl N-difenylmethylazetidin-2-karboxylát. Hydrogenolysou v MeOH nad $\text{Pd}(\text{OH})_2$ vznikla racemická azetidin-2-karboxylová kyselina ve výtěžku 62 %. Podle postupu Rodebaugha R.M. a Cromwella N.H. (*J. Heterocyclic Chem.*, **1969**, 993) byla racemická azetidin-2-karboxylová kyselina konvertována na N-Cbz derivát působením chlormravenčanu benzylnatého ve vodném NaOH při 0°-5°C. Po izolaci v kvantitativním výtěžku bylo na Cbz-derivát působeno jedním ekvivalentem hydrazidu L-tyrosinu a v 77-87 %-ním výtěžku se vyloučila sůl tyrosin hydrazidu a (R)-azetidin-2-karboxylové kyseliny. (R)-1-Cbz-azetidin-2-karboxylová kyselina byla ze soli uvolněna normálními extraktivními postupy. Hydrogenolysou volné kyseliny působením plynného vodíku v přítomnosti 10 % Pd/C na methanolický roztok vznikla roztřepáním s methanolem (R)- azetidin-2-karboxylová kyselina ve výtěžku 88 %. Tento produkt byl zreagován s di-terc. butyl dikarbonátem v 1:1 směsi dioxan/voda a v kvantitativním výtěžku byla získána (R)-1-Boc-azetidin-2-karboxylová kyselina. Reakce THF roztoku (R)-1-Boc-azetidin-2-karboxylové kyseliny s komplexem boran-methylsulfid 16 hodin při teplotě okolí poskytla titulní sloučeninu ve výtěžku 92 %.

1e. (R)-1-benzyloxykarbonyl-2-azetidinmethanol

Sloučenina byla připravena z D-methioninu podle postupu Sugano a Miyoshi, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **1973**, 46, 669. D-methionin (29,84 g, 200 mmol) byl rozpuštěn ve vodě (100 ml) a byl přidán 1 N NaOH (200 ml, 200 mmol) do vzniku homogenního roztoku. Za chlazení, potřebného k udržování teploty na $\sim 20^{\circ}\text{C}$, byl přidáván p-toluensulfonyl chlorid (53,4 g, 280 mmol). Během 2 hodin byl přidáván v malých dávkách další 1 N NaOH jak bylo zapotřebí udržovat pH ~ 9 (celkem cca 280 ml) a potom byla směs míchána přes noc při teplotě okolí. 4,5 N HCl byla směs okyselena na pH 3-4 a uchovávána při -20°C . Nashromáždilo se množství bílých krystalů (26,1 g, 43 %). Další podíl se vydělil jako olej jantarové barvy, který byl sebrán a po vysušení ve vakuu poskytl 24,8 g (41 %). NMR a MS [m/z 321, $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$] obou podílů bylo konsistentní s čistým N-tosyl-D-methioninem. Spojené podíly N-tosyl-D-methioninu (53,5 g, 176 mmol) byly rozpuštěny v AcOH (53 ml) a 88 %-ní HCO_2H (106 ml), potom byl přidán methyljodid (20 ml) a směs byla ve tmě ponechána přes noc. Těkavé komponenty byly odpařeny ve vakuu, zbytek byl opakovaně roztírán s diethyletherem a vznikl polotuhý zbytek, který byl rozpuštěn v 1 N NaOH (180 ml). Roztok byl 3 hodiny udržován při 90°C , přičemž bylo přidáváním 3 N NaOH udržováno pH 6-7. Roztok byl okyselen na pH 2-3 pomocí 3 N HCl, bílý precipitát byl shromážděn filtrací, vysušen a bylo získáno 28 g α -(N-p-tosylamino)- γ -butyrolaktonu. Další podíly byly získány po uchovávání matečných louhů při -20°C a představovaly 8,3 g produktu (spojený výtěžek 81 %), b.t. $132-134^{\circ}\text{C}$, MS: m/z 273 $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$, 291 $[\text{M}+2(\text{NH}_4)]^+$. Podle postupu Miyoshi-ho a spol. (*Chem. Lett.*, **1973**, 5-6) byla suspence (*R*)- α -(N-p-tosylamino)- γ -butyrolaktonu (20 g) v EtOH (150 ml) udržována na 65°C a probublávána HBr(g). Když se směs zhomogenisovala, bylo pokračováno v pomalém probublávání HBr při 65°C , aby se udrželo během reakce maximální nasycení. Těkavé komponenty byly odpařeny a zbytek byl chromatografován (silikagel; 30 % AcOEt / hexan). Bylo získáno 17,8 g (cca 65 %) ethylesteru (*R*)-N-tosyl- γ -bromvalinu jako světle žlutý olej. MS: (Cl/NH_3) m/z 301 $(\text{M}-\text{HBr}+\text{NH}_4)^+$, 381 $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$; $[\text{M}+2(\text{NH}_4)]^+$. K ethylesteru N-tosyl- γ -bromvalinu (24,24 g, 66,5 mmol) v DMF (725 ml) byla přidána H_2O (3,64 ml) a potom 60 % NaH (8 g). Směs byla 20 minut při $10-20^{\circ}\text{C}$ míchána, potom byla okyselena 1 N HCl, rozpouštědla byla odpařena a následně byl dvakrát přidán CH_2Cl_2 a odpařen. Přidání 10 % HCl způsobilo precipitaci produktu, který byl shromážděn a rekrystalován ze

48 a

22.09.99

směsi AcOEt/petrolether. Vzniklo 12,3 g (72 %) (*R*)-N-tosylazetidin-2-karboxylové kyseliny jako bílé vločkovité krystaly: b.t. 144-145°C;



$[\alpha]_D^{+146}$ (c 0,61, CHCl_3); MS (Cl/NH_3) m/z 273 ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺. Další manipulace byly provedeny jak popsal Abreo a spol., *J. Med. Chem.*, **1996**, 39, 817-825. Analýza optické čistoty byla provedena konversí na α -methylbenzylamid a vyhodnocením ^1H NMR, které ukázalo směs enantiomerů circa 4:1. Z této směsi (1,48 g, 5,8 mmol) byla připravena kaše v kapalném NH_3 25 ml) při -78°C . Byl přidáván kovový sodík dokud setrvávala modrá barva po 30 minut a potom byl přidán pevný chlorid amonný až modré zabarvení zmizelo. Chladicí lázeň byla zaměněna za vodní lázeň a amoniak se nechal odpařit. Zbylá bílá tuhá látka byla opatrně rozpuštěna ve H_2O (30 ml) a byla přidána AcOH pro adjustaci pH směsi na 7,0. Potom byl přidán dioxan (30 ml) a N-(benzyloxykarbonyl)sukcinimid (2,1 g, 8,7 mmol) a směs byla míchána 2 hodiny. Směs, která měla dvě fáze, byla podělena mezi nasycený roztok K_2CO_3 a Et_2O a fáze byly odděleny. Vodná fáze byla okyselena 12 N HCl a pak extrahována CH_2Cl_2 . Organická fáze byla vysušena (MgSO_4), koncentrována a po chromatografii (silikagel, $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{AcOH}$, 95:5:0,5) poskytla bezbarvý olej (955 mg, 70 %). MS (Cl/NH_3) m/z 236 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 2,47-2,60 (m, 2H), 3,98-4,07 (m, 2H), 4,78-4,87 (m, ^1H), 5,65 (s, 2H), 7,28-7,40 (m, 5H). Vzniklá 1-(benzyloxykarbonyl)azetidin-2-karboxylová kyselina (932 mg, 3,96 mmol) byla rozpuštěna v MeOH (20 ml) a smísena s hydrazidem L-tyrosinu (773 mg, 3,96 mmol). Kašovitá směs byla zahřívána k bodu varu po 10 minut, ponechána k ochlazení na teplotu okolí a pak sfiltrována. Filtrační koláč byl rozpuštěn v 6 N HCl a dvakrát extrahován AcOEt. Organické frakce byly spojeny, vysušeny (MgSO_4) a poskytly (R)-1-(benzyloxykarbonyl)azetidin-2-karboxylovou kyselinu jako bezbarvý olej (403 mg, 55 %); $[\alpha]_D^{+104,7}$ (c 4,0, CHCl_3). (R)-1-(benzyloxykarbonyl)azetidin-2-karboxylová kyselina (2,0 g, 8,6 mmol) v THF (35 ml) byla ochlazená na 0°C a po kapkách byl přidáván 1,0 M $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ (12,9 ml, 12,9 mmol). Směs se nechala ohřát na teplotu okolí a 2,5 hodiny byla míchána. Potom byl opatrně přičiněn roztok 2 N HCl a heterogenní směs byla 1 hodinu míchána. Kašovitá směs byla extrahována CH_2Cl_2 , vysušena (MgSO_4), koncentrována a po chromatografii (silikagel, AcOEt / hexan, 1:1) poskytla titulní sloučeninu jako bezbarvý olej (1,46 mg, 77 %): $[\alpha]_D^{+15,5}$ (c 1,2, CHCl_3). MS (Cl/NH_3) m/z 222 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,93-2,08 (m, ^1H), 2,18-2,29 (m, ^1H), 3,72-4,01 (m, 4H), 4,47-4,58 (m, ^1H), 5,12 (s, 2H), 7,30-7,41 (m, 5H).

1f. 5-Acetoxy-2-chlorpyridin

K roztoku 5-amino-2-chlorpyridinu (40,0 g, 0,311 mol, Aldrich) ve 180 ml 3:1 směsi 1,2-dimethoxyethan/CH₂Cl₂ při -10°C byl pomalu přidáván bortrifluorid diethyetherát (76,5 ml, 0,662 mol). Potom byl během 15 minut pomalu přidáván roztok terc.butylnitritu (44,4 ml, 0,373 mol) v 40 ml 1,2-dimethoxyethanu tak, aby byla reakční teplota udržována pod -5°C. Směs byla 10 minut míchána při -10°C, potom ohřáta na 0°C a míchána dalších 30 minut. Byl přidán pentan a tuhá látka byla odsáta (promyto studeným pentanem) a tak bylo získáno 69,1 g soli jako diazonium tetrafluoroborát. Ten byl rozpuštěn ve 350 ml acetanhydridu, zahřát na 75°C (vývin dusíku) a míchán 3 hodiny. Těkavé podíly byly odstraněny ve vakuu a tmavý zbytek byl rozpuštěn diethyletherem a promyt nasyceným vodným roztokem NaHCO₃. Vodná fáze byla extrahována Et₂O. Spojené etherové extrakty byly promyty solným roztokem, vysušeny (MgSO₄) a zkoncentrovány. Čistění pomocí chromatografie (silikagel, hexan/AcOEt 90:10 až 70:10) poskytlo titulní sloučeninu jako bílou tuhou látku (29,4 g, 55 %): b.t. 45°C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 2,35 (s, 3H), 7,35 (d, J = 2,9, 8,5 Hz, ¹H), 8,21 (d, J = 2,9 Hz, ¹H); MS (CI/NH₃) m/z : 172, 174 (M+H)⁺; 189, 191 (M+NH₄)⁺.

1g. 2-Chlor-5-hydroxypyridin

5-Acetoxy-2-chlorpyridin (11,1 g, 64,7 mmol) z příkladu 1f byl při teplotě okolí rozpuštěn v MeOH a byl k němu přidán pevný uhličitán draselný (4,47 g, 32,4 mmol). Po dvouhodinovém míchání byly ve vakuu odstraněny těkavé podíly a zbytek byl zředěn Et₂O a H₂O. Vodná fáze byla přidáním vodného 1 N HCl adjustována na pH 7. Vrstvy byly rozděleny a vodná fáze byla extrahována dvakrát Et₂O. Spojené extrakty byly vysušeny (MgSO₄) a po zkoncentrování poskytly titulní sloučeninu jako bílou tuhou látku (8,03 g, 96 %): b.t. 155°C; ¹H NMR (CD₃OD, 300 MHz) δ 7,20-7,28 (m, 2H), 7,88 (m, ¹H); MS (CI/NH₃) m/z : 130, 1132 (M+H)⁺; 147, 149 (M+NH₄)⁺.

Příklad 2**5-[(2R)-Azetidinylmethyloxy]-2-chlorpyridin p-toluensulfonát**

Baňka obsahující 5-[(2R)-azetidinylmethyloxy]-2-chlorpyridin z příkladu 1 (750 mg, 3,78 mmol, Aldrich) byla naplněna 15 ml absolutního ethanolu a poté monohydrátem kyseliny p-toluensulfonové (718 mg, 3,78 mmol, Aldrich). Směs byla

při teplotě místnosti míchána a potom zkoncentrována ve vakuu. Vzniklá bílá krystalická látka byla roztřepána s AcOEt, sfilrována a přes noc umístěna do vakuové sušárny (~16 hodin, cca 15 mm Hg). Titulní sloučenina byla získána jako bílá krystalická tuhá látka (1,38 g, 99 %): b.t. 158-161°C; $[\alpha]_D^{20} +5,4^\circ$ (c 1,05, MeOH). ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 8,88 (s (br), 2H), 8,19 (d, $J = 2,9$ Hz, ^1H), 7,46-7,58 (m, 4H), 7,11 (d, $J = 7,0$ Hz, 2H), 4,73 (m, ^1H), 4,42 (dd, $J = 7,0, 11,4$ Hz, ^1H), 4,33 (dd, $J = 3,3, 11,4$ Hz, ^1H), 3,86-3,97 (m, 2H), 2,35-2,55 (m, 2H); MS (CI/ NH_3) m/z 199 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 216 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$.

Příklad 3

5-[(2*R*)-Azetidinylmethyloxy]-2-chlorpyridin benzoát

Baňka obsahující 5-[(2*R*)-azetidinylmethyloxy]-2-chlorpyridin z příkladu 1 (780 mg, 3,93 mmol) byla naplněna 16 ml absolutního ethanolu a propláchnuta dusíkem. K tomuto roztoku byla přidána benzoová kyselina (480 mg, 3,93 mmol). Po jedné hodině byla směs zkoncentrována ve vakuu a poskytla hustý žlutý olej. Na tento olej bylo za míchání deset minut působeno diethyletherem a to poskytlo bílý jemně krystalický precipitát. Tuhá látka byla odfiltrována, promyta diethyletherem a přes noc umístěna do vakuové sušárny (~20°C, cca 15 mmHg). Byla získána titulní sloučenina (1,1 g, 88 %): b.t. 102-104°C; $[\alpha]_D^{20} +5,35$ (c 1,03, MeOH). ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8,02 (d, $J = 2,7$ Hz, ^1H), 7,92 (m, 2H), 7,33-7,50 (m 5H), 7,10 (m, 2H), 4,64 (m, 2H), 4,23 (m, 2H), 3,91 (m, 2H), 2,44-2,65 (m, 2H); MS (CI/ NH_3) m/z 199 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; 216 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$.

Příklad 4

5-[(2*R*)-Azetidinylmethyloxy]-2-chlorpyridin hydrochlorid

5-[(2*R*)-Azetidinylmethyloxy]-2-chlorpyridin z příkladu 1 (478 mg, 2,4 mmol) byl roztřepán v Et_2O (100 ml) a při teplotě okolí byl pomalu přidáván Et_2O nasycený HCl, dokud se dále nevylučovala tuhá látka. Rozpouštědlo bylo odstraněno a žlutá tuhá látka byla rekrystalována ze směsi MeOH/ Et_2O . Vznikla titulní sloučenina jako jemný bílý prášek (365 mg, 64 %): b. t. 116-117°C; MS (CI/ NH_3) m/z 199/201 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; ^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 2,65-2,76 (m, 2H); 4,03-4,21 (m, 2H), 4,42 (d, $J = 4,1$ Hz, 2H),



4,92-5,00 (m, ^1H), 7,47 (d, $J = 8,8 \text{ Hz}$, ^1H), 7,56 (dd, $J = 3,0, 8,8 \text{ Hz}$, ^1H), 8,15 (d, $J = 3,0, \text{ Hz}$, ^1H). Analýza pro $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}$, vypočteno: 45,98 % C, 5,14 % H, 11,91 % N; nalezeno: 46,03 % C, 5,06 % H, 11,76 % N. $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +8,6$ (c 0,52, MeOH).

Příklad 5

5-[(2*R*)-Azetidinylmethyloxy]-2-chlorpyridin dihydrochlorid

Do baňky obsahující 5-[(2*R*)-azetidinylmethyloxy]-2-chlorpyridin z příkladu 1 (25,0 mg, 0,126 mmol) v dichlormethanu byl při 0°C přidán přebytek nasyceného roztoku HCl v diethyletheru. Když byla adice skončena, byla bílá heterogenní směs zkoncentrována ve vakuu. Rekrystalisace z methanolu a diethyletheru poskytla titulní sloučeninu (30,5 g, 89 %) jako bílou hygroskopickou tuhou látku: b. t. $113-115^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +11,8$ (c 0,84, MeOH); ^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 2,65-2,76 (m, 2H); 4,03-4,21 (m, 2H), 4,42 (d, $J = 4,1 \text{ Hz}$, 2H), 4,95 (m, ^1H), 7,47 (d, $J = 8,8 \text{ Hz}$, ^1H), 7,56 (dd, $J = 3,0, 8,8 \text{ Hz}$, ^1H), 8,15 (d, $J = 3,0, \text{ Hz}$, ^1H). Analýza pro $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{Cl}_3\text{N}_2\text{O}$, vypočteno: 37,78 % C, 4,72 % H, 9,79 % N; nalezeno: 37,5 % C, 4,70 % H, 9,55 % N.

Příklad 6

(*R*)-3-(2-Azetidinylmethyloxy)pyridin dihydrochlorid

Diethyl azodikarboxylát (1,2 ml, 7,9 mmol) byl při 0°C přidán k míchanému roztoku trifenyfosfinu (2,1 g, 7,9 mmol) v THF (60 ml). Po 15 minutách byl přidán do reakční nádoby (*R*)-1-benzyloxykarbonyl-2-azetidinmethanol (1,46 g, 6,6 mmol, viz krok 1e nahoře) v THF (6,6 ml) a potom 3-hydroxypyridin (690 mg, 7,3 mmol, Aldrich). Po míchání 18 hodin při okolní teplotě, bylo odstraněno rozpouštědlo, zbytek byl rozpuštěn v CH_2Cl_2 , promyt nasyceným roztokem K_2CO_3 , vysušen (MgSO_4), zkoncentrován a chromatografován (silikagel; AcOEt/hexan 1:2). byla získána směs (2,8 g) (*R*)-1-(benzyloxykarbonyl)-3-[(2-azetidinylmethyl)oxy]pyridin a trifenyfosfin-oxidu: MS (Cl/ NH_3) m/z 299 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Vzorek této směsi (1,6 g) byl rozpuštěn v ethanolu (25 ml) a v atmosféře H_2 (1 atm) 4 hodiny míchán v přítomnosti 10 % Pd/C (320 mg). Reakční směs byla sfiltrována, koncentrována a po chromatografii (silikagel, CHCl_3 / MeOH / NH_4OH , 90:10 až 90:10:0,5) byla získána volná base titulní

sloučeniny jako jantarově zbarvený olej (465 mg, celkový výtěžek 75 %): $[\alpha]_D^{20} +5,8$ (c 1,6, CHCl_3); MS (CI/NH_3) m/z 165 ($\text{M}+\text{H}^+$); ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 2,22-2,46 (m, 2H), 3,45-3,51 (m, ^1H), 3,73 (dd, $J = 7,7, 8,5$ Hz, ^1H), 4,00-4,10 (m, 2H), 4,26-4,35 (m, ^1H), 7,21-7,24 (m, 2H), 8,22 (dd, $J = 2,9, 3,0$ Hz, ^1H), 8,33 (dd, $J = 1,5, 2,2$ Hz, ^1H). (*R*)-3-(2-Azetidinylmethyloxy)pyridin (450 mg, 2,74 mmol) byl roztřepán v Et_2O (20 ml) a MeOH (~2 ml) a potom byl při teplotě okolí přidán Et_2O nasycený plynným HCl. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbylá tuhá látka byla rekrystalována z MeOH/ Et_2O a byla získána titulní sloučenina jako rozplývavá bílá tuhá látka (206 mg, 31 %): b. t. 138-140°C; $[\alpha]_D^{20} +9,8$ (c 0,5, MeOH); MS (CI/NH_3) m/z 165 ($\text{M}+\text{H}^+$); ^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 2,71 (dd, $J = 8,5, 17,3$ Hz, 2H); 4,05-4,21 (m, 2H), 4,57 (d, $J = 4,4$ Hz, 2H), 4,96-5,03 (m, ^1H), 7,99 (dd, $J = 5,7, 9,0$ Hz, ^1H), 8,21 (ddd, $J = 1,2, 2,8, 9,0$ Hz, ^1H), 8,46 (d, $J = 5,7$ Hz, ^1H), 8,59 (d, $J = 2,8$ Hz, ^1H). Analýza pro $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O} \cdot 2\text{HCl} \cdot 0,2 \text{H}_2\text{O}$ vypočteno: 44,90 % C, 6,03 % H, 11,64 % N; nalezeno: 44,90 % C, 5,98 % H, 11,54 % N.

Příklad 7

(*S*)-3-(2-Azetidinylmethyloxy)pyridin dihydrochlorid

7a. (*S*)-3-(2-Azetidinylmethyloxy)pyridin dihydrochlorid

Ledem chlazený roztok 1-butyloxykarbonyl-2-(*S*)-azetidinmethanolu (2,8 g, 15,0 mmol, krok 7c, viz níže) v THF (40 ml) byl míchán pod dusíkovou atmosférou. K tomu byl přidán DEAD (3,54 ml, 22,46 mmol), pak trifenylofosfin (4,78 g, 22,5 mmol) a směs byla míchána 10 minut. Potom byl do reakce přidán 3-hydroxypyridin (2,14 g, 22,5 mmol) v dalším THF (40 ml). Po 18 hodinách byl přidán další 3-hydroxypyridin (0,10 g, 1,05 mmol) a reakce byla míchána dalších 24 hodin. Když byl spotřebován veškerý výchozí azetidinalkohol, byla reakční směs zkoncentrována ve vakuu. Surová směs byla potom okyselena (pH <2) 10 %-ním roztokem hydrogensíranu draselného (80 ml) a promyta ethylacetátem (3 x 75 ml). Vodný podíl byl potom alkalizován nasyceným roztokem uhličitanu draselného (pH = 10) a produkty byly extrahovány ethylacetátem (4 x 75 ml). Tyto extrakty byly vysušeny (MgSO_4), sfiltrány a ve vakuu zkoncentrovány na červenohnědý olej (1,84 g, výtěžek 50 %). Čistění "flash" chromatografií na silikagelu $R_f = 0,19$ (ethylacetát : hexan = 2 : 1) poskytl

skopulovaný produkt jako světle žlutý olej ve výtěžku 25 %; MS (CI/NH₃) m/z 265 (M+H)⁺, 282 (M+NH₄)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8,36-8,35 (dd, J = 3,7 Hz, J = 0,7 Hz, ¹H), 8,24-8,22 (dd, J = 4,0 Hz, J = 1,5 Hz, ¹H), 7,25-7,22 (m, ¹H), 4,56-4,48 (m, ¹H), 4,36-4,31 (dd, J = 10 Hz, J = 4,9 Hz, ¹H), 4,17-4,12 (dd, J = 10 Hz, J = 2,9 Hz, ¹H), 3,92-3,87 (dd, J = 8,2 Hz, J = 6,8 Hz, 2H), 2,42-2,25 (m, 2H), 1,42 (s, 9H). K ledem chlazenému roztoku hořejší sloučeniny (286 mg, 1,08 mmol) v absolutním alkoholu (4 ml) byl pod dusíkem přidán roztok ethanolu nasycený chlorovodíkem. Reakční směs byla 18 hodin míchána a postupně se oteplovala na teplotu místnosti. Potom byla reakční směs zkoncentrována ve vakuu, produkt byl rozpuštěn v absolutním ethanolu a vysrážen diethyletherem. Po dvou rekrytalisacích z ethanolu a etheru byla získána titulní sloučenina jako bílý prášek (174 mg, 87 mmol, výtěžek 81 %): b. t. 135-137°C; [α]_D²⁰ -5,0 (c 0,4, MeOH); MS (CI/NH₃) m/z 165 (M+H)⁺, 182 (M+NH₄)⁺. ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 8,60-8,59 (d, J = 2,9 Hz, ¹H), 8,48-8,46 (d, J = 5,8 Hz, ¹H), 8,25-8,21 (ddd, J = 9,0 Hz, J = 2,6 Hz, J = 1,1 Hz, ¹H), 5,05-4,97 (m, ¹H), 4,59-4,57 (d, J = 4,0 Hz, 2H), 4,22-4,05 (m, 2H), 2,77-2,67 (dd, J = 16,9 Hz, J = 8,45, 2H);). Analýza pro C₉H₁₂N₂O.2,7 HCl.0,2 H₂O vypočteno: 40,60 % C, 5,71 % H, 10,52 % N; nalezeno: 40,75 % C, 5,76 % H, 10,51 % N.

7b. 1-Butyloxykarbonyl-2-(S)-azetidinkarboxylová kyselina

K ledem chlazenému roztoku 2-(S)-azetidinkarboxylové kyseliny (10,2 g, 100 mmol, Aldrich) v 300 ml 1:1 směsi voda/1,4-dioxan byl přidán di-terc.butyl dikarbonát (28,5 g, 131 mmol) a potom 4-methylmorfolin (11,7 g, 115 mmol). Reakce byla ohřívána na teplotu místnosti a míchána 18 hodin. Reakční směs byla potom nalita do ledem chlazeného nasyceného roztoku bikarbonátu sodného (250 ml) a promyta ethylacetátem. Pak byla vodná fáze okyselena hydrogensíranem draselným (pH = 1) a produkt byl extrahován ethylacetátem. Tyto organické extrakty vysušeny (NaSO₄), sfiltrvány a zkoncentrovány ve vakuu poskytly titulnísloučeninu jako bílou polotuhou látku: MS (CI/NH₃) m/z 202 (M+H)⁺, 219 (M+NH₄)⁺. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 10,0 (br s, ¹H), 4,81-4,76 (t, J = 15 Hz, ¹H), 3,99-3,83 (m, 2H), 2,62-2,38 (m, 2H), 1,48 (s, 9H).

7c. 1-Terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinmethanol

K ledem chlazenému roztoku sloučeniny z kroku 7b (9,39 g, 46,7 mmol) v THF (100 ml) byl pod dusíkem přidán komplex boran.THF (1 M, 210 ml, 4,50 ekviv.). Reakce byla 48 hodin míchána a postupně se ohřála na teplotu místnosti. Postupně byl pak přidán 10 %-ní vodný roztok hydrogen sulfátu draselného (60 ml) a těkavé komponenty byly potom odpařeny ve vakuu. Získaná kaše byla extrahována AcOEt. Organické extrakty byly promyty nasyceným vodným roztokem hydrogenuhlčitanu sodného, vysušeny (MgSO_4), sfiltrovány a zkoncentrovány ve vakuu. Byla získána titulní sloučenina jako bezbarvý olej (8,4 g, 96 %): MS (Cl/NH_3) m/z 188 ($\text{M}+\text{H}$)⁺; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 4,49-4,40 (ddd, , $J = 9,0$, Hz, $J = 9,0$ Hz, $J = 3,0$, ^1H), 3,95-3,68 (m, 4H), 2,23-2,12 (m, ^1H), 1,99-1,87 (m, ^1H), 1,46 (s, 9H).

Příklad 8

5-[(2R)-Azetidinylmethyloxy]-2-fluorpyridin dibenzoát**8a. 5-[(2R)-Azetidinylmethyloxy]-2-fluorpyridin dibenzoát**

K roztoku trifenyfosfinu (0,80 g, 3,0 mmol) v THF (20 ml) byl přidán diethylazodikarbonát (4,7 ml, 3,0 mmol) při 0°C a směs byla míchána 0,5 hodiny. Potom byly přidány 1-terc.butyloxykarbonyl-2-(R)-azetidinmethanol (0,51 g, 2,7 mmol, z příkladu 1c viz nahoře) a 2-fluor-5-hydroxypyridin (0,32 g, 2,8 mmol, viz krok 8e níže). Směs byla ponechána pomalu ohřát na teplotu místnosti a byla přes noc míchána. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek byl chromatografován (silikagel; hexan / AcoEt 9:1 až 7:3). Bylo získáno 0,80 g reakčního produktu: MS (Cl/NH_3) m/z 283 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 300 ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,42 (m, 9H), 3,33 (m, ^1H), 3,89 (t, $J = 7,31$ Hz, ^1H), 4,11 (m, ^1H), 4,31 (m, ^1H), 4,51 (m, ^1H), 6,85 (m, ^1H), 7,38 (m, ^1H), 7,87 (m, ^1H). 6-Fluor-3-[1-terc.butyloxykarbonyl-2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin (760 mg, 2,70 mmol) byl zreagován s TFA (2 ml) v methylenchloridu (2 ml) při 0°C roztok byl 30 minut míchán. Těkavé komponenty byly pak ve vakuu odstraněny. Zbytek byl zalkalisován nasyceným vodným roztokem NaHCO_3 a extrahován methylenchloridem. Organické extrakty byly vysušeny nad MgSO_4 a zkoncentrovány. Zbytek byl chromatografován (silikagel; methylenchlorid : methanol : NH_4OH 10 : 1 : 0,1) a poskytl volnou basi titulní sloučeniny (240 mg, 49 %). Base byla pomocí benzoové kyseliny v etheru

konvertována na dibenzoát a tak byla získána titulní sloučenina (235 mg, 42 %): b. t. 76-80°C; $[\alpha]_D^{25}$ 2,9 (c 1, MeOH); MS (Cl/NH₃) m/z 183 (M+H)⁺; ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,23 (m, ¹H), 2,34 (m, ¹H), 3,49 (m, ¹H), 3,66 (m, ¹H), 4,14 (m, ¹H), 4,35 (m, ¹H), 7,12 (dd, J = 2,44, 8,81 Hz, ¹H), 7,45 (m, 4H), 7,56 (m, 2H), 7,63 (m, ¹H), 7,93 (m, 3H). Analýza pro C₉H₁₁N₂OF. 2 C₆H₅COOH vypočteno: 64,78 % C, 5,44 % H, 6,57 % N; nalezeno: 64,65 % C, 5,48 % H, 6,45 % N.

8b. 2-Fluor-5-nitropyridin

2-Chlor-5-nitropyridin (100 g, 0,656 mol, Aldrich), fluorid draselný (84,1 g, 1,45 mol, Aldrich), tetrafenylfosfonium bromid (95,3 g, 0,227 mol, Aldrich) a acetonitril (1,5 l) byly smíseny a zahřívány k bodu varu dokud nebyl všechen 5-chlor-2-nitropyridin spotřebován. Objem směsi byl snížen na 750 ml, zředěn 2 l etheru, sfiltrován a zkoncentrován. Vzniklý zbytek byl rozetřen v horkém hexanu, spojené hexanové extrakty byly zkoncentrovány a poskytly titulní sloučeninu (48 g, 54%): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,15 (dd, J = 3,6 Hz, ¹H), 8,64 (m, ¹H), 9,15 (d, J = 1,6 Hz, ¹H).

8c. 3-Amino-6-fluorpyridin

2-Fluor-5-nitropyridin (52,4 g, 368 mmol, z kroku 8b nahoře) byl spolu s 5 % Pd/C (100 mg, Aldrich) v EtOH (100 ml) míchán 4 dny v atmosféře H₂. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan / AcOEt, 9 : 1 až 1 : 1) a bylo získáno 30,9 g (75 %) titulní sloučeniny: ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 6,74 (dd, J = 3,6 Hz, ¹H), 7,11 (m, ¹H), 7,26 (t, J = 1 Hz, ¹H); MS (Cl/NH₃) m/z 113 (M+H)⁺, 130 (M+NH₄)⁺.

8d. 3-Acetoxy-6-fluorpyridin

Roztok 3-amino-6-fluorpyridinu (5,0 g, 45 mmol, z kroku 8c nahoře) v DME (30 ml) byl přidán ke chlazenému (-15 °C) roztoku bortrifluorid etherátu (12,2 ml, 99 mmol). Potom byl přidáván terc.butylnitrit (6,3 ml, 54 mmol) takovou rychlostí, aby se udržovala teplota pod 0°C. Po 10 minutách při -10°C byla reakční směs zahřáta na 5°C a míchána 30 minut. K reakční směsi byl potom přidán pentan (150 ml) a vzniklá tuhá látka byla odsáta, promyta studeným etherem, vysušena na vzduchu a rozpuštěna v acetanhydridu (75 ml). Roztok byl zahříván na 105°C dokud neskončil vývoj dusíku. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a zbytek byl suspendován v nasyceném vodném roztoku Na₂CO₃ (200 ml) a extrahován etherem (2 x 150 ml). Spojené

organické extrakty byly vysušeny (MgSO_4) a zkoncentrovány. Čistěním pomocí chromatografie (silikagel; hexan / AcOEt, 9 : 1 až 7 : 3) byla získána titulní sloučenina (2,25 g, 33 %): ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 2,32 (s, 3H), 6,96 (d, J = 3,9 Hz, ^1H), 7,59 (m, ^1H), 8,03 (dd, J = 0,5, 1 Hz, ^1H); MS (CI/NH_3) m/z 156 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 171 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$.

8e. 2-Fluor-5-hydroxypyridin

3-Acetoxy-6-fluorpyridin (2,26 g, 14,6 mmol, z kroku 8d nahoře) byl rozpuštěn ve 20 %-ním vodném NaOH (15 ml). Po jednohodinovém míchání při teplotě okolí byl roztok neutralisován přidavkem koncentrované HCl. Vodná směs byla extrahována ethylacetátem. Spojené organické extrakty byly vysušeny (MgSO_4) a rozpouštědlo bylo odpařeno. Čistěním pomocí chromatografie (silikagel; CHCl_3 / MeOH, 98 : 2) bylo získáno 1,31 g (79 %) titulní sloučeniny. MS (CI/NH_3) m/z 114 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 131 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 6,84 (dd, J = 1,85, 5,14 Hz, ^1H), 7,43 (m, ^1H), 7,81 (t, J = 2,84 Hz, ^1H).

Příklad 9

5-[(2S)-Azetidinylmethyloxy]-2-fluorpyridin dibenzoát

Podle postupu z příkladu 8, zaměněním 1-terc.butyloxykarbonyl-2-(*R*)-azetidinmethanolu za 1-terc.butyloxykarbonyl-2-(*S*)-azetidinmethanol byla připravena titulní sloučenina: b. t. 76-80°C; MS (CI/NH_3) m/z 183 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; ^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 2,65 (m, 2H), 4,11 (m, 2H), 4,38 (d, J = 4,39, 2H), 4,92 (m, ^1H), 7,09 (dd, J = 2,83, 9,28 Hz, ^1H), 7,50 (m, 4H), 7,56 (m, 2H), 7,63 (m, ^1H), 7,92 (m, 4H). Analýza pro $\text{C}_{19}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{OF}$ · 2 $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$ vypočteno: 64,78 % C, 5,44 % H, 6,57 % N; nalezeno: 64,55 % C, 5,46 % H, 6,59 % N.

Příklad 10

5-[(2S)-Azetidinylmethyloxy]-3-fluorpyridin dihydrochlorid**10a. 5-[(2S)-Azetidinylmethyloxy]-3-fluorpyridin dihydrochlorid**

K roztoku 3-fluor-5-hydroxypyridinu (500 mg, 4,43 mmol, jak byl připraven v kroku 10f níže) v dimethylformamidu (20 ml) byl přidán tuhý KOH (400 mg, 7,10 mmol) a byl míchán při 80°C 30 minut. K této směsi byl rychle přidán 1-(terc.butyloxykarbonyl)-(2S)-p-toluensulfonyloxymethylazetidin (1,05 g, 4,39 mmol, jak byl připraven v kroku 10b níže) v dimethylformamidu (5 ml) a reakční směs byla pak při 80°C míchána 16 hodin. Směs byla zkoncentrována, aby se odstranil dimethylformamid a vzniklý zbytek byl zředěn vodou a extrahován AcOEt (3 x). Organické extrakty byly spojeny, vysušeny (MgSO₄), sfiltrány a zkoncentrovány ve vakuu. Tento materiál byl čistěn "flash" chromatografií (silikagel; hexan / AcOEt, 10 : 1) a poskytl 5-fluor-3-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin (692 mg, 56 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,40 (s, 9H), 2,30 (m, 2H), 3,92 (m, 2H), 4,16 (m, ¹H), 4,40 (m, ¹H), 4,54 (m, ¹H), 7,05 (m, ¹H), 8,20 (m, 2H); MS (CI/NH₃) m/z 283 (M+H)⁺. K shora uvedenému 5-fluor-3-[1-Boc-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridinu (320 mg, 1,14 mmol) byl při 0°C přidán HCl / Et₂O v methylenchloridu a roztok byl míchán 2 hodiny. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek byl rekrystalován z EtOH / Et₂O za vzniku titulní sloučeniny (250 mg): b. t. 165-167°C; [α]_D²⁵ 27,8 (c 0,56, MeOH); ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,70 (m, 2H), 4,10 (m, 2H), 4,50 (d, J = 4,5 Hz, 2H), 5,01 (m, ¹H), 7,80 (tt, J = 3 Hz, ¹H), 8,42 (dd, J = 3,6 Hz, 2H); MS (CI/NH₃) m/z 183 (M+H)⁺, 200 (M+NH₄)⁺.

10b. (S)-1-(terc.butyloxykarbonyl)-2-toluensulfonyloxymethylazetidin

Roztok (2S)-1-terc.butyloxykarbonyl-2-azetidinmethanolu (22,6 g, 0,121 mol) v 40 ml pyridinu byl podroben reakci s p-toluensulfonylchloridem (27,6 g, 0,145 mol). Vzniklá směs byla míchána při teplotě místnosti 16 hodin, zředěna CH₂Cl₂ a postupně promyta 1 N vodným roztokem HCl, nasyceným vodným roztokem K₂CO₃ a solným roztokem. Organická fáze byla vysušena (Na₂SO₄) a zkoncentrována. Čistění chromatografií (silikagel; hexan / AcOEt, 80 : 20) poskytlo 32,8 g bílé tuhé látky, která

rekrytalována ze směsi CH_2Cl_2 / hexan, poskytla titulní sloučeninu jako tenké bílé jehličky: b. t. 59-60°C; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,37 (s, 9H), 2,15-3,28 (m, 2H), 2,44 (s, 3H), 3,74-3,81 (m, 2H), 4,13 (dd, $J = 3,1, 10,2$ Hz, ^1H), 4,23-4,34 (m, 2H), 7,35 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 7,80 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H); MS (CI/NH_3) m/z 242 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

10c. 3-Benzoyloxy-5-bromopyridin

NaH (60 % v minerálním oleji) (40,9 g, 1,0225 mol) v 800 ml DMF byl ochlazen na 0°C a pomalu byl přidáván benzylalkohol (105 ml, 1,014 mol). Reakční směs byla při 20°C míchána 1 hodinu, potom byl přidán 3,5-dibrompyridin (200,4 g, 846 mmol) a směs byla míchána 16 hodin. Reakce směsi byla ukončena nasyceným roztokem NH_4Cl (500 ml), zředěna vodou a extrahována Et_2O . Spojené Et_2O extrakty byly promyty 50 %-ním solným roztokem a vysušeny (MgSO_4). Rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu a surový produkt byl rekrytalován z Et_2O . Byl získán titulní produkt (161 g, 72 %): b. t. 63-68°C; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8,37-8,27 (m, 2H), 7,5-7,35 (m, 6H), 5,1 (s, 6H); MS (CI/NH_3) m/z 264, 266 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

10d. 3-Amino-5-benzoyloxy-pyridin

Produkt z příkladu 10c nahoře (41,3 g, 156 mmol), bromid měďný (22,43 g, 156 mmol), MeOH (275 ml) a kapalný NH_3 (50 ml) byly smíchány do nerezového reaktoru a zahřívány na 130°C 24 hodin. Směs se nechala ochladit na teplotu okolí a pak byla zkoncentrována. Zbytek byl suspendován ve 300 ml nasyceného vodného roztoku Na_2CO_3 a extrahován CH_2Cl_2 . Spojené CH_2Cl_2 roztoky byly promyty solným roztokem, vysušeny (MgSO_4) a zkoncentrovány. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan / AcOEt, 9 : 1 až 7 : 3) a byla získána titulní sloučenina (15,6 g, 50 %): ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8,21-8,29 (m, 2H), 7,44-7,26 (m, 6H), 5,1 (s, 2H); MS (CI/NH_3) m/z 201 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

10e. 3-Fluor-5-benzoyloxy-pyridin

K bortrifluorid etherátu (9,3 ml, 75 mmol) ochlazenému na -15°C, byl pod dusíkem přidán produkt z příkladu 10d (10 g, 50 mmol) rozpouštěný v DME (100 ml). Rychlostí, kterou se udržovala teplota pod -5°C byl přidán terc.butylinitrit (7,8 ml, 65 mmol). Po 10 minutách při -10°C byla reakce zahřáta na 5°C a míchána 30 minut.

Potom byl k reakční směsi přidán pentan (200 ml), tuhá látka byla odsáta, promyta studeným etherem a pak rozpuštěna v acethydridu (150 ml). Vzniklý roztok byl zahříván na 70°C dokud nepřestal vývoj N₂. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a zbytek byl suspendován v nasyceném vodném roztoku Na₂CO₃ a extrahován diethyletherem. Etherový roztok byl vysušen (Na₂SO₄) a zkoncentrován. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan / AcOEt, 6 : 1) a byly získány 2 g titulní sloučeniny: ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 5,17 (s, 2H); 7,04 (tt, J = 3 Hz, ¹H), 7,41 (m, 5H), 8,15 (d, J = 3 Hz, ¹H), 8,25 (d, J = 3 Hz, ¹H); MS (CI/NH₃) m/z 204 (M+H)⁺, 221 (M+NH₄)⁺.

10f. 3-Fluor-5-hydroxypyridin

Produkt z příkladu 10e (2,0 g, 9,85 mmol) v MeOH (50 ml) byl v atmosféře H₂ v přítomnosti 10 % Pd/C (50 mg) míchán 4 hodiny. Směs byla sfiltrována, zkoncentrována a poskytla 1,1 g (93 %) titulní sloučeniny jako bílou tuhou látku: ¹H NMR (300 MHz) δ 7,78 (tt, J = 3 Hz, ¹H), 8,38 (d, J = 3 Hz, ¹H), 8,56 (d, J = 3 Hz, ¹H), 10,72 (b, ¹H); MS (CI/NH₃) m/z 114 (M+H)⁺, 131 (M+NH₄)⁺.

Příklad 11

5-[(2*R*)-Azetidinylmethoxy]-3-fluorpyridin dihydrochlorid

Bylo postupováno podle způsobu z příkladu 10a nahrazením 1-(terc.butyl-oxykarbonyl)-(2*S*)-p-toluensulfonyloxymethylazetidinu odpovídajícím (*R*) isomerem (příklad 1c) a byla získána volná aminová sloučenina (65 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,42 (s, 9H), 2,30 (m, 2H), 3,92 (m, 2H), 4,16 (dd, J = 3 Hz, ¹H), 4,38 (m, ¹H), 4,58 (m, ¹H), 7,05 (tt, J = 3 Hz, ¹H), 8,20 (dd, J = 3 Hz, 2H); MS (CI/NH₃) m/z 283 (M+H)⁺. K shora uvedenému 5-[N-Boc-(2*R*)-azetidinylmethoxy]-3-fluorpyridinu (692 mg, 2,45 mmol) byl při 0°C přidán HCl / Et₂O v methylenchloridu a roztok byl míchán 2 hodiny. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek byl rekrystalován z EtOH / Et₂O za vzniku titulní sloučeniny (365 mg): b. t. 163-165°C; [α]_D²⁵ -30,0 (c 0,51, MeOH); ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,72 (m, 2H), 4,15 (m, 2H), 4,52 (d, J = 4,5 Hz, 2H), 4,98 (m, ¹H), 7,40 (d, J = 12 Hz, ¹H), 8,42 (b, 2H); MS (CI/NH₃) m/z 183 (M+H)⁺, 200 (M+NH₄)⁺.

Analýza pro $C_9H_{12}FCIN_2O$. 0,3 HCl vypočteno: 47,08 % C, 5,40 % H, 12,20 % N; nalezeno: 47,25 % C, 4,90 % H, 12,04 % N.

Příklad 12

5-[(2S)-Azetidinylmethyloxy]-3-brompyridin dihydrochlorid

12a. 5-[(2S)-Azetidinylmethyloxy]-3-brompyridin dihydrochlorid

Trifenylfosfin (4,01 g, 15,3 mmol) a DEAD (2,43 ml, 15,3 mmol) byly rozpuštěny v 30 ml THF při $^{\circ}C$ a směs byla míchána 10 minut. Byly přidány vzorky 1-terc.butyloxykarbonyl-2-(S)-azetidinmethanolu (2,86 g, 15,3 mmol, krok 7c svrchu) a 3-brom-5-hydroxypyridinu (1,51 g, 10,2 mmol, krok 10c svrchu) a směs byla při teplotě místnosti míchána 40 hodin. Ve vakuu byly odstraněny těkavé komponenty a zbytek byl roztřepán s hexanem. Oddělená hexanová frakce byla zkoncentrována a zbytek byl chromatografován (silikagel; hexan/ether, 10 : 1 až 10 : 2). Byl získán 5-brom-3-[(1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinyl)methoxy]pyridin jako bezbarvý olej (1,669 g): ^1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 1,42 (s, 9H), 2,31 (m, 2H), 3,89 (m, 2H), 4,12 (m, ^1H), 4,322 (m, ^1H), 4,52 (m, ^1H), 7,43 (m, ^1H), 8,29 (m, 2H); MS (CI/ NH_3) m/z 344 (M+H) $^+$. 5-Brom-3-[2-(1-Boc-2-(S)-azetidinyl)methoxy]pyridin byl zreagován s 4 M HCl v dioxanu za vzniku volné base titulní sloučeniny. Ta byla konvertována na dihydrochlorid a rekrystalována ze směsi methanol/ether na titulní sloučeninu: b. t. 163-165 $^{\circ}C$; $[\alpha]_D^{25}$ 5,1 (c 0,57, methanol); ^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 8,36 (d, J = 1,8 Hz, ^1H), 8,32 (d, J = 2,6 Hz, ^1H), 7,84 (dd, J = 1,8, 2,6 Hz, ^1H), 4,98-4,90 (m, ^1H), 4,43 (d, J = 4,0 Hz, 2H), 4,20-4,02 (m, 2H), 2,67 (q, J = 8,5 Hz, 2H); MS (CI/ NH_3) m/z 243/246 (M+H) $^+$, 260/262 (M+ NH_4) $^+$. Analýza pro $C_9H_{13}N_2OBrCl_2$ vypočteno: 34,21 % C, 4,15 % H, 8,86 % N; nalezeno: 34,18 % C, 4,17 % H, 8,89 % N.

12b. 3-Brom-5-hydroxypyridin

3-Benzoyloxy-5-brom pyridin z příkladu 10c byl vařen 16 hodin se 48 % HBr/AcOH. Přebytkem $NaHCO_3$ byla reakce přerušena, zásaditá směs byla extrahována ethylacetátem a extrakt byl vysušen nad Na_2SO_4 . Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek po chromatografii (silikagel; MeOH/ CCl_4 , 1:10) poskytl titulní

sloučeninu: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8,27 (d, $J = 1,8$ Hz, ^1H), 8,23 (d, $J = 2,6$ Hz, ^1H), 7,44 (dd, $J = 2,6$ Hz, ^1H); MS (Cl/NH_3) m/z 174, 176 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 191, 193 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$.

Příklad 13

5-Methyl-3-[(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin dihydrochlorid

K roztoku 5-brom-3-[(1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinyl)methoxy]pyridinu (400 mg, 1,20 mmol, viz krok 12a nahoře) v THF (10 ml) bylo při 0°C přidáno katalytické množství chloridu [1,3-bis(difenylofosfino)-propan] nikelnatého a potom MeMgBr (0,8 ml z 3,0 M roztoku v THF, Aldrich). Směs byla vařena 3 hodiny, ochlazená na teplotu okolí a reakční směs byla rozložena nasyceným vodným roztokem chloridu amonného. Těkavé komponenty byly odpařeny, zbytek byl zředěn CH_2Cl_2 nasyceným vodným roztokem amonium chloridu. Organický extrakt byl vysušen nad MgSO_4 a zkoncentrován. Zbytek byl chromatografován (silikagel; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 10 : 0,2 až 10 : 0,5) a poskytl 5-methyl-3-[(1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinyl)methoxy]pyridin jako olej (177 mg, 53 %): ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,42 (s, 9H), 2,20-2,40 (m, 2H), 3,90 (t, $J = 8,33$ Hz, 2H), 4,14 (m, ^1H), 4,31 (m, ^1H), 4,51 (m, ^1H), 7,04 (s, ^1H), 8,06 (s, ^1H), 8,18 (d, $J = 3,33$ Hz, ^1H); MS (Cl/NH_3) m/z 279 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. K roztoku hořejšího produktu (170 mg, 0,6 mmol) v CH_2Cl_2 (2 ml) byla při 0°C přidána TFA (1,0 ml). Po 30-ti minutovém míchání byl roztok zalkalisován 15 %-ním vodným roztokem NaOH a extrahován CH_2Cl_2 . Spojené organické extrakty byly vysušeny nad MgSO_4 a zkoncentrovány. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 10 : 1) a poskytl 5-methyl-3-[azetidinyl-(2S)-methoxy]pyridin jako olej (93 mg, 64 %): ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 2,28 (m, ^1H), 2,36 (m, 3H), 2,39 (m, ^1H), 3,43 (m, ^1H), 3,65 (q, $J = 3,33$, ^1H), 3,98-4,02 (m, 2H), 4,22 (m, ^1H), 7,12 (m, ^1H), 8,04 (s, ^1H), 8,14 (d, $J = 3,33$ Hz, ^1H); MS (Cl/NH_3) m/z 179 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Svrchu uvedený produkt byl rozmíchán v Et_2O a po kapkách byl přidáván HCl v Et_2O . Rozpouštědlo bylo odstraněno, vzniklá tuhá látka byla rekrystalována z $\text{MeOH}/\text{Et}_2\text{O}$ a byla získána titulní sloučenina jako světle žlutá, velice hygroskopická tuhá látka: ^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 2,36 (s, 3H), 2,67 (q, $J = 8,33$ Hz, 2H), 4,04-4,21 (m, 2H), 4,40 (d, $J = 3,40$ Hz, 2H), 4,90 (m, ^1H), 7,40 (s, ^1H), 8,04 (s, ^1H), 8,14 (s, ^1H);

MS (Cl/NH₃) m/z 179 (M+H)⁺. Analýza pro C₁₀H₁₄N₂O.1,5 HCl vypočteno: 51,57 % C, 6,71 % H, 12,03 % N; nalezeno: 51,53 % C, 6,86 % H, 12,03 % N.

Příklad 14

5-Methyl-3-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

Podle příkladu 12a byl připraven 5-brom-3-[(1-terc.butyloxykarbonyl-(2*R*)-azetidinyl)methoxy]pyridin tím způsobem, že v něm uvedený 1-terc.butyloxykarbonyl-2-(*S*)-azetidinmethanol byl nahrazen 1-terc.butyloxykarbonyl-2-(*R*)-azetidinmethanolem (z příkladu 1 d). Podle postupu z příkladu 13 byla titulní sloučenina připravena tak, že v něm uvedený 5-brom-3-[(1-terc.butyloxykarbonyl-(2*S*)-azetidinyl)methoxy]pyridin byl nahrazen enantiomerním 5-brom-3-[(1-terc.butyloxykarbonyl-(2*R*)-azetidinyl)methoxy]pyridinem. Titulní sloučenina byla připravena jako bílá tuhá látka: [α]_D 5,38 (c 0,93, MeOH); ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,40 (s, 3H), 2,70 (q, J = 9,30 Hz, 2H), 4,04-4,20 (m, 2H), 4,42 (d, J = 5,0 Hz, 2H), 4,95-5,00 (m, ¹H), 7,45 (s, ¹H), 8,08 (s, ¹H), 8,15 (s, ¹H); MS (Cl/NH₃) m/z 179 (M+H)⁺, 196 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₁₀H₁₄N₂O.1,5 HCl vypočteno: 51,57 % C, 6,71 % H, 12,03 % N; nalezeno: 51,53 % C, 6,86 % H, 12,03 % N.

Příklad 15

5-[(2*S*)-Azetidinylmethoxy]-2,3-dichlorpyridin hydrochlorid

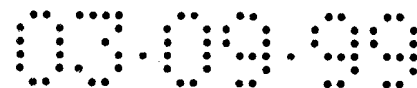
15a. 5-[(2*S*)-Azetidinylmethoxy]-2,3-dichlorpyridin hydrochlorid

Roztok trifenylofosfinu (2,6 g, 9,94 mmol) a diethyl azodikarboxylátu (1,6 ml, 9,94 mmol) v THF (16 ml) byl při 0°C míchán 15 minut. Pak byl přidán 1-terc.-butyloxy-karbonyl-2-(*S*)-azetidinmethanol (1,55 g, 8,28 mmol, krok 7c svrchu) a 5,6-dichlor-pyridinol (1,5 g, 9,1 mmol). Směs se nechala ohřát na teplotu místnosti a byla míchána přes noc. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek byl znovu rozpuštěn v methylenchloridu. Roztok byl promyt nasyceným vodným roztokem K₂CO₃, solankou, vysušen nad MgSO₄ a zkoncentrován. Zbytek byl chromatografován (silicagel; ethylacetát : hexan, 1:5). Byl získán 5,6-dichlor-3-[1-terc.butyloxy-karbonyl-2-(*S*)-

639

22.09.99

azetidinylmethoxy]pyridin (1,08 g): MS (CI/NH₃) m/z 333 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃,
300



MHz) δ 1,42 (s, 9H), 2,22-2,42 (m, 2H), 3,85-3,92 (m, 2H), 4,12 (dd, $J = 2,7, 10,1$ Hz, ^1H), 4,30-4,40 (m, ^1H), 4,48-4,56 (m, ^1H), 7,41 (d, $J = 2,8$ Hz, ^1H), 7,97 (d, $J = 2,8$ Hz, ^1H). K roztoku 5,6-dichlor-3-[1-terc.butyloxy-karbonyl-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridinu (1,06 g, 3,11 mmol) v CH_2Cl_2 (10 ml) byla při 0°C přidána TFA (10 ml). Roztok se nechal ohřát na teplotu místnosti při míchání 45 minut. Potom byly ve vakuu odstraněny těkavé komponenty. Zbytek byl smísen s nasyceným roztokem K_2CO_3 , a pak extrahován methylenchloridem. Organický extrakt byl vysušen nad MgSO_4 a zkoncentrován. Zbytek byl chromatografován (silikagel; $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3/\text{NH}_4\text{OH}$, 1:10:0,05) a byla získána volná base titulní sloučeniny (475 mg, výtěžek 64 %): b.t. $59-60^\circ\text{C}$; MS (Cl/NH_3) m/z 233 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 2,21-2,44 (m, 2H), 3,45 (m, ^1H), 3,73 (dd, $J = 8,4, 15,8$ Hz, ^1H), 3,98-4,08 (m, 2H), 4,28 (m, ^1H), 7,37 (d, $J = 2,8$ Hz, ^1H), 8,01 (d, $J = 2,8$ Hz, ^1H). Base (336 mg) byla rozmíchána v etheru a působením etheru nasyceného HCl konvertována na hydrochlorid. Titulní sloučenina byla získána rekrytalizací ze směsi methanol/ether (317 mg, výtěžek 81 %): b.t. $181-182^\circ\text{C}$; MS (Cl/NH_3) m/z 233 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; ^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 2,65-2,74 (m, 2H), 4,03-4,21 (m, 2H), 4,44 (d, $J = 4,4$ Hz, ^1H), 4,95 (m, ^1H), 7,79 (d, $J = 2,9$ Hz, ^1H), 8,13 (d, $J = 2,9$ Hz, ^1H). Analýza pro $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_2\text{OCl}_2 \cdot 1,0 \text{ HCl}$ vypočteno: 40,10 % C, 4,11 % H, 10,39 % N; nalezeno: 39,89 % C, 4,08 % H, 10,25 % N.

15b. 5-Amino-2,3-dichlorpyridin

Bylo postupováno podle způsobu Kocha a Schnatterera, *Synthesis*, 1990, 499-501. K 2-hydroxy-5-nitropyridinu (70,0 g, 0,5 mol) v 12 N chlorovodíkové kyselině byl přidáván po kapkách roztok chlorečnanu draselného (21,4 g, 0,18 mol) v H_2O (300 ml) takovou rychlostí, aby se teplota udržovala $\leq 60^\circ\text{C}$. Směs byla míchána při cca 50°C dalších 30 minut, pak se nechala zchladnout na teplotu okolí a poté byla znovu ochlazena v ledové lázni. Filtrací byla oddělena žlutá tuhá látka, promyta studenou vodou a při 50°C ve vakuu vysušena a poskytla 3-chlor-2-hydroxy-5-nitropyridin (72,4 g, 83 %) jako žlutý prášek. K fosforoxychloridu (37,4 ml, 0,4 mol) o teplotě 0°C byl přidán chinolin (23,6 ml, 0,2 mol) a poté výše uvedený 3-chlor-2-hydroxy-5-nitropyridin (70 g, 0,4 mol). Směs byla 2,5 h zahřívána na 120°C , což vedlo k vytvoření tmavé kapaliny. Po ochlazení na 100°C byla opatrně přidána H_2O (150 ml) a směs byla ochlazena na 0°C . Vysrážená tuhá látka byla shromážděna filtrací, promyta studenou H_2O a při 50°C ve vakuu vysušena. Tak byl získán 2,3-dichlor-5-nitropyridin (68,6 g,

89 %). K 2,3-dichlor-5-nitropyridinu (68,5 g, 0,39 mol) ve směsi s H₂O (800 ml) a kyselinou octovou (160 ml) byly za míchání přidávány kousky kovového železa dokud nebyl výchozí materiál spotřebován (TLC analýza). Směs byla sfiltrována a filtrační koláč byl opakovaně promyt AcOEt. Vodný filtrát byl extrahován AcOEt, organické frakce byly spojeny a zkoncentrovány. Zbytek byl chromatografován (silikagel; MeOH : CHCl₃, 0,5:99,5 až 1:99) a tak byla získána titulní sloučenina (44,5 g, 70 %) jako světle oranžový prášek: MS (Cl/NH₃) m/z 163 a 165 (M+H)⁺, 180 a 182 (M+NH₄)⁺.

15c. 5-Acetoxy-2,3-dichlorpyridin

Do baňky obsahující bortrifluorid etherát (11,3 ml, 91,9 mmol) byl při -15°C přikapán roztok sloučeniny z příkladu 15b (10,0 g, 61,3 mmol) v dimethoxyethanu (20 ml). Potom byl přidáván roztok terc. (8,7 ml butylnitritu, 73,5 mmol) v dimethoxyethanu (61 ml) takovou rychlostí, aby teplota reakční směsi zůstávala -5°C. Směs byla kolem 5°C míchána 0,75 hodiny a pak byl přidán pentan (200 ml). Směs byla sfiltrována a filtrační koláč byl promyt studeným diethyletherem, potom ponechán usušit a tak poskytl 15 g světle oranžové tuhé látky. Tento materiál byl v přítomnosti acetanhydridu postupně zahřát na 70°C, při této teplotě udržován dokud nepřestal vyvíjet plyn a potom ještě další 0,5 hodiny. Směs se nechala ochladit na teplotu okolí, byla zkoncentrována ve vakuu a pak zředěna diethyletherem. Roztok byl promyt vodou, pak byla organická fáze vysušena (MgSO₄) a zkoncentrována. Zbytek byl chromatografován (silikagel; ethylacetát:hexan, 1:9) a byla získána titulní sloučenina (9,2 g, 73 %) jako čirý žlutý olej: MS (Cl/NH₃) m/z 206 a 208 (M+H)⁺.

15d. 5,6-Dichlor-3-pyridinol

Produkt z příkladu 15c (9,15 g, 44,4 mol) byl smísen s roztokem 2 N hydroxidu draselného (67 ml, 133 mmol) a směs byla 18 hodin míchána. Směs byla zředěna vodou a okyselena kyselinou octovou na pH 6-7. Precipitát tuhé látky byl odfiltrován, promyt vodou a po vysušení při 50°C poskytl 5,4 g (94 %) titulní sloučeniny jako bílou tuhou látku: MS (Cl/NH₃) m/z 164, 166, 168 (M+H)⁺.

Příklad 16

5-[(2*R*)-Azetidinylmethoxy]-2,3-dichlorpyridin hydrochlorid

Titulní sloučenina (212 mg, výtěžek 83 %) byla připravena podle postupu v příkladu 15a tak, že v něm uvedený 1-Boc-2-(*S*)-azetidinmethanol byl nahrazen 1-terc.butyloxy-karbonyl-2-(*R*)-azetidinmethanolem (3 mmol) (z kroku 1d). b.t. 166-168°C; $[\alpha]_D^{25}$ 9,5 (c 0,55, MeOH); MS (Cl/NH₃) *m/z* 233, 235, 237 (M+H)⁺; ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,65-2,74 (m, 2H), 4,03-4,20 (m, 2H), 4,44 (d, *J* = 4,4 Hz, ¹H), 4,91-5,00 (m, ¹H), 7,79 (d, *J* = 2,7 Hz, ¹H), 8,13 (d, *J* = 2,7 Hz, ¹H). Analýza pro C₉H₁₁N₂OCl₂·1,0 HCl vypočteno: 40,10 % C, 4,11 % H, 10,39 % N; nalezeno: 40,01 % C, 4,02 % H, 10,33 % N.

Příklad 17

5-[(2*S*)-Azetidinylmethoxy]- 3-brom-2-chlorpyridin hydrochlorid

K roztoku diethyl azodikarboxylátu (1,52 ml, 9,6 mmol) v THF (56 ml) byl při 0°C přidán trifenylofosfin (2,52 g, 9,6 mmol) a reakční směs byla 0,5 hodiny míchána. Potom byl přidán 1-terc.butyloxy-karbonyl-2-(*S*)-azetidinmethanol (1,44 g, 7,7 mmol, krok 7c) a 5-brom-6-chlorpyridin-3-ol (1,4 g, 6,4 mmol; připravený z 2-hydroxy-5-nitropyridinu podle V. Kocha a S. Schnatterera, *Synthesis*, **1990**, 499-501). Reakční směs se nechala pomalu ohřát na teplotu místnosti a byla přes noc míchána. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek byl chromatografován (silikagel; chloroform : methanol, 100:1). Byl získán 5-brom-6-chlor-3-[1-terc.butyloxy-karbonyl-2-(*S*)-azetidinylmethoxy]pyridin: MS (Cl/NH₃) *m/z* 377, 379 (M+H)⁺. K roztoku tohoto produktu (360 mg, 0,95 mmol) v methylenchloridu byla při 0°C přidána TFA a směs byla míchána 30 minut. Těkavé podíly byly pak ve vakuu odstraněny. Zbytek byl neutralisován NaHCO₃, potom extrahován methylenchloridem, který byl vysušen nad MgSO₄ a zkoncentrován. Zbytek byl chromatografován (silikagel; methylenchlorid : methanol : NH₄OH, 10:1:0,1) a dal volnou basi titulní sloučeniny. Base byla převedena na sůl působením chlorovodíku v etheru a byla získána titulní sloučenina (224 mg): b.t. 168-169°C; $[\alpha]_D^{25}$ -4,81 (c 0,13, MeOH); ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,69 (dd, *J* = 7,0,

8,5 Hz, 2H), 4,06-4,20 (m, 3H), 4,43 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 4,95 (m, 1H), 7,94 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H), 8,17 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); MS (CI/NH₃) m/z 277, 279 (M+H)⁺; Analýza pro C₉H₁₀N₂OBrCl·0,9 HCl vypočteno: 34,83 % C, 3,54 % H, 9,03 % N; nalezeno: 34,85 % C, 3,56 % H, 8,82 % N.

Příklad 18

5-[(2R)-Azetidinylmethoxy]- 3-brom-2-chlorpyridin hydrochlorid

Roztok trifenylfosfinu (1,10 g, 4,20 mmol) a diethyl azodikarboxylát (0,65 ml, 4,2 mmol) v THF (10 ml) byl při 0°C míchán 0,5 hodiny. Pak byl přidán roztok obsahující (R)-azetidinol (0,6 g, 3,2 mmol, z kroku 1d svrchu) a 5-brom-6-chlorpyridin-3-ol (0,80 g, 3,8 mmol, připraven jak popsáno v příkladu 17) v THF (5 ml). Směs byla po 24 hodin ohřívána na teplotu místnosti a potom byla zkoncentrována. Zbytek byl roztřepán se směsí hexan/Et₂O a filtrací byl odstraněn trifenylfosfinoxid. Filtrát byl zkoncentrován a surový produkt byl chromatografován (silicagel; hexan : ethylacetát, 60:40). Byl získán 5-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2R)-3-brom-2-chlorpyridin jako olej (1,10 g, 91 %). Shora uvedený produkt byl potom rozpuštěn v CH₂Cl₂ (30 ml) a ochlazen na 0°C. Byl přidán přebytek TFA a směs byla ohřívána na teplotu místnosti po dobu 1 hodiny. Roztok byl pak zkoncentrován, byl přidán nasycený roztok Na₂CO₃ (30 ml) a bylo extrahováno AcOEt a CH₂Cl₂. Spojené organické extrakty byly vysušeny (Na₂SO₄) a po zkoncentrování daly volnou bází titulní sloučeniny (0,83 g, 100 %). Roztok obsahující volnou bází (0,34 g, 1,2 mmol) v CH₂Cl₂ (10 ml) byl ochlazen na 0°C a potom, dokud se nezakalil, byl k němu po kapkách přidáván roztok HCl v Et₂O. Rozpouštědlo bylo odstraněno a produkt byl rekrystalován z EtOH / CH₂Cl₂ / Et₂O. Vznikla titulní sloučenina jako bílá tuhá látka (0,34 g, 81 %): b.t. 175°C; $[\alpha]_D^{23}$ 7,2 (c 0,5, MeOH); ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,65-2,73 (q, 2H), 4,03-4,20 (m, 2H), 4,43 (d, $J = 4,2$ Hz, 2H), 4,92-4,98 (m, 1H), 7,93 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H), 8,17 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H); MS (CI/NH₃) m/z 277, (M+H)⁺; Analýza pro C₉H₁₁BrCl₂N₂O · 0,1H₂O: vypočteno: 34,23 % C, 3,57 % H, 8,87 % N; nalezeno: 34,26 % C, 3,36 % H, 8,68 % N.

Příklad 19

5-[(2S)-Azetidinylmethoxy]-2-chlorpyridin dihydrochlorid

Vzorek 950 mg (5,1 mmol) 1-terc.butyloxy-karbonyl-2-(S)-azetidinmethanolu, připraveného jako v příkladu 7c shora, a 550 mg (4,25 mmol) 2-chlor-5-hydroxypyridinu (příklad 1g, nahoře) byly přidány k roztoku trifenylofosfinu a DEAD (každý 5,1 mmol) ve 20 ml THF podle postupu v příkladu 12a. Bylo získáno 1,09 g 3-[1-terc.butyloxy-karbonyl-(2S)-azetidinmethoxy]-6-chlorpyridinu: $[\alpha]_D^{25}$ -67,3 (c 1,1, CHCl₃); ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 8,14 (d, J = 3,3 Hz, ¹H), 7,48 (dd, J = 8,8, 3,3 Hz, ¹H), 7,37 (d, J = 8,8 Hz, ¹H), 4,47-4,42 (m, ¹H), 4,36 (dd, J = 11,0, 4,4 Hz, ¹H), 4,20 (dd, J = 11,0, 3,3 Hz, ¹H), 3,77 (t, J = 7,7 Hz, 2H), 2,36-2,29 (m, ¹H), 2H), 2,19-2,12 (m, ¹H), 1,36 (s, 9H); MS (CI/NH₃) m/z 299/301 (M+H)⁺. Část tohoto materiálu (1,02 g) byla míchána s 10 ml 4,5 N HCl 30 minut při teplotě místnosti. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek byl rekrystalován ze směsi methanol/ether, což poskytlo 340 mg titulní sloučeniny: b.t. 113-115°C; ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 8,15 (d, J = 3,0 Hz, ¹H), 7,57 (dd, J = 8,9, 3,0 Hz, ¹H), 7,47 (d, J = 8,9 Hz, ¹H), 4,98-4,89 (m, ¹H), 4,42 (d, J = 4,4 Hz, 2H), 4,19-4,02 (m, 2H), 2,68 (q, J = 8,5 Hz, 2H); MS (CI/NH₃) m/z 299/301 (M+H)⁺. Analýza pro C₉H₁₃N₂OCl₃ vypočteno: 39,80 % C, 4,82 % H, 10,32 % N; nalezeno: 40,12 % C, 4,84 % H, 10,35 % N.

Příklad 20

5-[(2S)-Azetidinylmethoxy]-2-methylpyridin dihydrochlorid

Ledem chlazený roztok sloučeniny z příkladu 7c (0,232 g, 1,24 mmol) byl podroben reakci s 5-hydroxy-2-methylpyridinem (0,142 g, 1,30 mmol, Aldrich) za podmínek příkladu 15a a po vyčištění na silikagelu (ethylacetát/hexan 2:1) byl získán 2-methyl-5-[1-terc.butyloxy-karbonyl-(2S)-azetidinmethoxy]pyridin (0,123 g, 36 %): MS (CI/NH₃) m/z 279 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8,22 (d, J = 2,6 Hz, ¹H), 7,20 (dd, J = 8,5, 3,0 Hz, ¹H), 7,08 (d, J = 8,5 Hz, ¹H), 4,50 (m, ¹H), 4,29 (m, ¹H), 4,13 (dd, J = 9,9, 2,9 Hz, ¹H), 3,89 (t, J = 7,75 Hz, 2H), 2,51 (s, 3H), 2,37-2,28 (m, 2H), 1,41 (s, 9H). Tento materiál (0,12 g, 0,44 mmol) byl 18 hodin ponechán s nasyceným

ethanolickým HCl (5 ml). Ve vakuu byly odstraněny těkavé podíly a tuhá látka byla promyta Et₂O, odpařena do sucha a rekrystalována (EtOH/Et₂O), což poskytlo titulní sloučeninu (0,074 g, 63 %) jako bílou tuhou látku: b.t. 141-144°C; $[\alpha]_D^{24}$ -7,89 (c 0,19, MeOH); MS (Cl/NH₃) m/z 179 (M+H)⁺; ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 8,33 (d, J = 2,9 Hz, ¹H), 7,89 (dd, J = 9,0, 2,8 Hz, ¹H), 7,64 (d, J = 8,8 Hz, ¹H), 4,97 (m, ¹H), 4,48 (d, J = 4,4 Hz, 2H), 4,21-4,04 (m, 2H), 2,70 (q, J = 8,5 Hz, 2H), 2,62 (s, 3H). Analýza pro C₁₀H₁₆Cl₂N₂O · H₂O vypočteno: 44,62 % C, 6,74 % H, 10,41 % N; nalezeno: 44,55 % C, 7,02 % H, 10,50 % N.

Příklad 21

5-[(2S)-Azetidinylmethoxy]-3-chlorpyridin dihydrochlorid

Ledem chlazený roztok sloučeniny z příkladu 7c (0,242 g, 1,20 mmol) byl podroben reakci s 3-chlor-5-hydroxypyridinem (0,187 g, 1,40 mmol) za podmínek příkladu 15a a po vyčistění chromatografií (silikagel, ethylacetát/hexan 2:1) byl získán 5-[1-terc.butyloxy-karbonyl-2-(S)-azetidinylmethoxy]-3-chlorpyridin (0,137 g, 88 %): MS (Cl/NH₃) m/z 299 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 8,25 (d, J = 1,38 Hz, ¹H), 8,21 (br. s, ¹H), 7,29 (t, J = 2,2 Hz, ¹H), 4,52 (m, ¹H), 4,34 (m, ¹H), 4,13 (dd, J = 10,3, 2,9 Hz, ¹H), 3,91-3,86 (m, 2H), 2,51 (s, 3H), 2,38-2,29 (m, 2H), 1,43 (s, 9H). Část tohoto materiálu (0,13 g, 0,44 mmol) byla míchána s nasyceným ethanolickým HCl (5 ml) 16 hodin. Těkavé podíly byly odstraněny ve vakuu a tuhá látka byla rekrystalována ze směsi methanol/ether, což poskytlo titulní sloučeninu (0,094 g, 80 %) jako bílou tuhou látku: b.t. 156-157°C; $[\alpha]_D^{23}$ -3,23 (c 0,16, MeOH); MS (Cl/NH₃) m/z 199 (M+H)⁺, 216 (M+NH₄)⁺; ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 8,41 (d, J = 5,1 Hz, ¹H), 8,39 (d, J = 4,4 Hz, ¹H), 7,94 (t, J = 2,1 Hz, ¹H), 4,97 (m, ¹H), 4,50 (d, J = 4,0 Hz, 2H), 4,20-4,03 (m, 2H), 2,69 (q, J = 8,45 Hz, 2H), 2,62 (s, 3H). Analýza pro C₉H₁₃Cl₃N₂O · 0,5H₂O vypočteno: 38,53 % C, 5,03 % H, 9,98 % N; nalezeno: 38,51 % C, 5,16 % H, 9,96 % N.

Příklad 22

5-Vinyl-3-[(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin dihydrochlorid

5-Brom-3-[2-(1-terc.butyloxykarbonyl-2-(S)-azetidinyl)methoxy]pyridin (1,37 g, 3,99 mmol, příklad 12a nahoře) v toluenu (30 ml) byl smísen s vinyltributylcinem (1,44 ml, 4,79 mmol, Aldrich) a tetrakis(trifenylfostin)palladiem (140 mg, 0,200 mmol). Směs byla při 100°C přes noc míchána, ochlazená na teplotu okolí a pak byly ve vakuu odstraněny těkavé složky. Vyčištění chromatografií (silikagel; hexan/ AcOEt 5:1 až 1:1) poskytlo vinylsubstituovaný pyridin jako olej (1,06 g, 92 %): MS (CI/NH₃) m/z 291 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,40 (s, 9H), 2,30-2,42 (m, 2H), 3,87 (t, J = 7,72 Hz, 2H), 4,11 (dd, J = 2,94, 9,92 Hz, ¹H), 4,35 (m, ¹H), 4,53 (m, ¹H), 5,80 (d, J = 12,67 Hz, ¹H), 5,83 (d, J = 19,33 Hz, ¹H), 6,68 (dd, J = 12,67, 19,33 Hz, ¹H), 7,29 (t, J = 2,67 Hz, ¹H), 8,24 (d, J = 3,30 Hz, ¹H). Část tohoto materiálu (191 mg, 0,66 mmol) byla při 0°C rozpuštěna v CH₂Cl₂ (2 ml) a byla přidána TFA (1,8 ml). Po 30-ti minutovém míchání byl roztok zalkalisován 15 %-ním vodným roztokem NaOH a extrahován CH₂Cl₂. Spojené organické extrakty byly vysušeny nad MgSO₄ a zkoncentrovány. Po vyčištění chromatografií (silikagel, CH₂Cl₂ / MeOH / NH₄OH, 10:0,4 až 10:1:0,3) byla získána volná base titulní sloučeniny jako olej (101 mg, 81 %): MS (CI/NH₃) m/z 191 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,40 (s, 9H), 2,44-2,56 (m, 2H), 3,72 (m, ¹H), 3,88 (m, ¹H), 4,16 (m, 2H), 4,54 (m, ¹H), 5,40 (d, J = 11,03 Hz, ¹H), 5,82 (d, J = 17,65 Hz, ¹H), 6,66 (dd, J = 11,0, 17,65 Hz, ¹H), 7,26 (m, ¹H), 8,18 (d, J = 3,33 Hz, ¹H), 8,22 (d, J = 1,67 Hz, ¹H). Amin byl roztřepán v Et₂O a po kapkách byl přidán 1 M roztok HCl v Et₂O. Rozpouštědlo bylo odstraněno a produkt byl rekrystalován ze směsi MeOH / Et₂O. Byla získána titulní sloučenina jako žlutý hygroskopický prášek: b.t. 88-90°C; [α]_D²³ +2,58 (c 0,62, MeOH); MS (CI/NH₃) m/z 191 (M+H)⁺; ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,64-2,76 (m, 2H), 4,04-4,20 (m, 2H), 4,49 (d, J = 4,1 Hz, 2H), 4,96 (m, ¹H), 5,58 (d, J = 11,0 Hz, ¹H), 6,04 (d, J = 17,7 Hz, ¹H), 6,83 (dd, J = 11,0, 17,7 Hz, ¹H), 7,85 (d, J = 1,9 Hz, 1H), 8,33 (d, J = 14,3 Hz, ¹H). Analýza pro C₁₁H₁₄N₂O · 1,8 HCl vypočteno: 51,64 % C, 6,22 % H, 10,95 % N; nalezeno: 51,59 % C, 5,92 % H, 10,75 % N.

Příklad 23

5-Ethyl-3-[(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin dihydrochlorid

5-[N-1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]-3-brompyridin (1,37 g, 3,99 mmol, příklad 12a nahoře) v toluenu (30 ml) byl smísen s vinyltributylcínem (1,44 ml, 4,79 mmol) a tetrakis(trifenylfostin)palladiem (140 mg, 0,200 mmol). Reakční směs byla při 100°C 16 hodin míchána. Rozpouštědlo bylo za sníženého tlaku odstraněno a zbytek byl chromatografován (silikagel; hexan/ AcOEt 5:1 až 1:1). Byl získán 3-vinyl-5-[N-terc.butyloxykarbonyl-(S)-azetidinyl-2-methoxy]pyridin jako olej (1,06 g, 92 %): MS (Cl/NH₃) m/z 291 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,40 (s, 9H), 2,30-2,42 (m, 2H), 3,87 (t, J = 7,72 Hz, 2H), 4,11 (dd, J = 2,9, 9,9 Hz, ¹H), 4,35 (m, ¹H), 4,53 (m, ¹H), 5,80 (d, J = 12,7 Hz, ¹H), 5,83 (d, J = 19,3 Hz, ¹H), 6,68 (dd, J = 12,6, 19,3 Hz, ¹H), 7,29 (t, J = 2,7 Hz, ¹H), 8,24 (d, J = 3,3 Hz, ¹H). Suspense 5% Pt na uhlí (54 mg, Aldrich) a 3-vinyl-5-[N-terc.butyloxykarbonyl-(S)-azetidinyl-2-methoxy]pyridinu (540 mg, 1,87 mmol) v MeOH (10 ml) byla při teplotě místností 16 hodin podrobena působení vodíkové atmosféry. Po odstranění katalysátoru filtrací a odehnání rozpouštědla byl získán 3-ethyl-5-[N-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinyl-2-methoxy]pyridin jako olej (480 mg, 88 %): MS (Cl/NH₃) m/z 293 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,25 (t, J = 8,3 Hz, 3H), 1,42 (s, 9H), 2,20-2,40 (m, 2H), 2,64 (q, J = 8,3 Hz, 2H), 3,88 (t, J = 8,3 Hz, 2H), 4,12 (dd, J = 3,3, 8,0 Hz, ¹H), 4,32 (m, ¹H), 4,51 (m, ¹H), 7,08 (t, J = 3,3 Hz, ¹H), 8,08 (d, J = 1,7 Hz, ¹H), 8,16 (d, J = 2,3 Hz, ¹H). K roztoku hořejší sloučeniny (479 mg, 1,64 mmol) v CH₂Cl₂ (6 ml) při 0°C byla přidána TFA (5,5 ml). Po 30 minutách byl roztok zalkalisován 15 % vodným roztokem NaOH a extrahován CH₂Cl₂ (3 x). Organický extrakt byl vysušen nad MgSO₄, sfiltrován a koncentrován. Čistění pomocí chromatografie (silikagel; CH₂Cl₂ / MeOH / NH₄OH, 10:0,4:0 až 10:1:0,3) poskytlo volnou basi titulní sloučeniny jako olej (228 mg, 72 %): MS (Cl/NH₃) m/z 193 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,24 (t, J = 8,3 Hz, 3H), 2,20-2,48 (m, 2H), 2,62 (q, J = 8,3 Hz, 2H), 3,46-3,54 (m, 2H), 3,64 (q, J = 8,7 Hz, ¹H), 4,06 (t, J = 5,7 Hz, ¹H), 7,16 (t, J = 2,7 Hz, ¹H), 8,07 (d, J = 1,7 Hz, ¹H), 8,13 (d, J = 3,3 Hz, ¹H). Volný amin byl rozpuštěn v Et₂O a opatrně po kapkách byl přidáván roztok HCl v Et₂O. Potom bylo rozpouštědlo odstraněno a sůl byla překrystalována z MeOH / Et₂O. Tak byla získána titulní sloučenina jako bílá hygroskopická tuhá látka:

$[\alpha]_D^{25} +3,85^\circ$ (c 3,64, MeOH); MS (Cl/NH₃) m/z 193 (M+H)⁺; ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 1,23 (t, J = 7,8 Hz, 3H), 3,84-3,90 (m, 3H), 4,37 (dd, J = 3,4, 11,2 Hz, 2H), 4,54 (dd, J = 7,5, 11,2 Hz, ¹H), 4,64-4,60 (m, 2H), 4,92 (m, ¹H), 7,62 (s, ¹H), 8,26 (s, ¹H). Analýza pro C₁₁H₁₆N₂O · 1,8 HCl vypočteno: 51,23 % C, 6,96 % H, 10,86 % N; nalezeno: 51,03 % C, 6,70 % H, 10,96 % N.

Příklad 24

5-Propyl-3-[(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin dihydrochlorid

K roztoku 5-[N-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]-3-brompyridinu (1,50 g, 4,37 mmol, příklad 12a nahoře) v THF (30 ml) byl při 0°C přidán komplex [1,3-bis(difenylfosfino)-propan]nikelnatý (14,0 mg) a pak propylmagnesiumchlorid (5,50 ml 2 M roztoku v diethyletheru, Aldrich). Reakční směs byla vařena 3 hodiny, ochlazena na teplotu okolí a pak rozložena nasyceným vodným roztokem chloridu amonného. Požadovaný produkt byl extrahován CH₂Cl₂. Organická fáze byla vysušena nad MgSO₄, sfiltrována a zkoncentrována. Zbytek byl chromatografován (silikagel, hexan / AcOEt, 10:1 až 1:1) a byl získán 5-propyl-3-[N-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin jako olej (292 mg, 22 %): MS (Cl/NH₃) m/z 307 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0,95 (t, J = 8,3 Hz, 3H), 1,42 (s, 5H), 1,46 (s, 4,5 H), 1,60-1,70 (m, 2H), 2,20-2,40 (m, 2H), 2,56 (t, J = 8,3 Hz, 2H), 3,70-3,80 (m, 2H), 3,90 (m, ¹H), 4,13 (m, ¹H), 4,51 (m, ¹H), 7,04 (s, ¹H), 8,06 (s, ¹H), 8,18 (d, J = 3,3 Hz, ¹H). K roztoku 5-propyl-3-[N-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridinu (290 mg, 0,950 mmol) v CH₂Cl₂ (3 ml) byla přidána TFA (3 ml). Po 30-ti minutovém míchání byla reakční směs zalkalisována 15 %-ním vodným NaOH a extrahována CH₂Cl₂ (3 x). Spojené organické extrakty byly vysušeny nad MgSO₄, sfiltrovány a zkoncentrovány. Po vyčištění chromatografií (silikagel, CH₂Cl₂ / MeOH, 10:0,5) byla získána titulní sloučenina jako olej (103 mg, 53 %): MS (Cl/NH₃) m/z 207 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0,94 (t, J = 8,3 Hz, 3H), 1,58-1,70 (m, 2H), 2,30-2,48 (m, 2H), 2,55 (t, J = 8,3 Hz, 2H), 3,57 (m, ¹H), 3,76 (q, J = 8,3 Hz, ¹H), 4,04-4,10 (m, 2H), 4,39 (m, ¹H), 7,03 (t, J = 3,0 Hz, ¹H), 8,04 (s, ¹H), 8,14 (d, J = 3,3 Hz, ¹H). Volná base byla rozpuštěna v Et₂O a opatrně po kapkách byl přidáván nasycený roztok HCl v Et₂O. Potom bylo rozpouštědlo odstraněno a vzniklá tuhá látka byla překrystalována z

MeOH / Et₂O. Tak byla získána titulní sloučenina jako žlutá hygroskopická tuhá látka: b.t. 79-80°C; MS (Cl/NH₃) m/z 207 (M+H)⁺; ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 1,01 (t, J = 3,05 Hz, 3H), 1,68-1,80 (m, 2H), 2,62-2,78 (m, 2H), 2,80 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 4,04-4,21 (m, 2H), 4,44-4,60 (m, 2H), 7,40 (s, ¹H), 8,04 (s, ¹H), 8,14 (s, ¹H). Analýza pro C₁₂H₁₈N₂O · 2 HCl · H₂O vypočteno: 48,49 % C, 7,46 % H, 9,43 % N; nalezeno: 48,35 % C, 7,23 % H, 9,48 % N.

Příklad 25

2-Chlor-3-methyl-5-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin citrát

25a. 2-Chlor-3-methyl-5-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin citrát

K roztoku trifenylofosfinu (0,55 g, 2,09 mmol) a (S)-1-terc.butyloxykarbonyl-2-azetidinmethanolu (0,39 g, 2,09 mmol, příklad 7c) v THF (5 ml) byl přidán při 0°C 2-chlor-3-methyl-5-hydroxypyridin (0,20 g, 1,39 mmol, krok 25b níže). Směs se nechala ohřát na teplotu okolí, pak byl po kapkách přidán diethyl-azodikarbonát (0,33 ml, 2,09 mmol) a směs byla míchána 16 hodin. Potom bylo ve vakuu odstraněno rozpouštědlo a zbytek byl zředěn hexanem a bylo na něj 30 minut působeno ultrazvukem. Vzniklý precipitát byl oddělen filtrací a promyt hexanem. Hexan byl ve vakuu odstraněn a zbytek byl chromatografován (silikagel; hexan / AcOEt 1:1). Byl získán produkt kontaminovaný trifenylofosfinoxidem.

K roztoku seshora uvedeného produktu v methylenchloridu (6 ml) byla při 0°C přidána kyselina trifluoroctová (6 ml). Směs byla 40 minut při 0°C míchána, potom se nechala ohřát na teplotu místnosti a byla dalších 30 minut míchána. Potom byl přidán nasycený roztok K₂CO₃ a směs byla extrahována CH₂Cl₂. Organická vrstva byla pak vysušena (MgSO₄) a zkoncentrována. Zbytek byl vyčištěn (silikagel; 1% NH₄OH/ 10 % MeOH/AcOEt) a vznikl 2-chlor-3-methyl-5-[(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin jako světle žlutý olej: MS (Cl/NH₃) m/z 213 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 2,34 (s, 3H), 2,34-2,55 (m, 2H), 3,64 (m, ¹H), 3,84 (q, J = 9 Hz, ¹H), 4,03-4,98 (m, 2H), 4,45 (m, ¹H), 7,16 (t, J = 3,0 Hz, ¹H), 7,93 (d, J = 3,0 Hz, ¹H).

Nahoře uvedený produkt byl rozpuštěn v ethanolu a smísen s kyselinou citronovou (108 mg) v ethanolu. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Vzniklá sůl byla rozmíchána s etherem a ve vakuu vysušena ze vzniku bílého prášku: b.t. 125-

127°C; $[\alpha]_D^{25}$ -4,2 (c 1,0, MeOH); MS (CI/NH₃) m/z 213 (M+H)⁺; ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,27 (d, J = 10,5 Hz, ¹H), 2,36 (m, 3H), 2,41-2,91 (m, 8H); 4,0-4,21 (m, 2H), 4,40 (d, J = 5 Hz, ¹H), 4,93 (m, ¹H), 7,48 (d, J = 3,1 Hz, ¹H), 7,97 (d, J = 3,0 Hz, ¹H). Analýza pro C₁₀H₁₃N₂OCl · 1,2 C₆H₈O₇ · H₂O vypočteno: 44,79 % C, 5,38 % H, 6,07 % N; nalezeno: 44,85 % C, 5,29 % H, 5,91 % N.

25b. 2-Chlor-3-methyl-5-hydroxypyridin

2-Chlor-3-methyl-5-nitropyridin (3,2 g, 18,5 mmol, Maybridge Chemical Co.) byl rozpuštěn v mechanicky míchaném roztoku H₂O/AcOH (60 ml, 5:1). Během pěti hodin byl přidáván železný prach tak, aby teplota zůstávala pod 40°C a v míchání bylo pokračováno dokud nebyl výchozí materiál spotřebován. Reakční směs byla sfiltrována a filtrační koláč byl promyt AcOEt. Vodný filtrát byl extrahován AcOEt a spojené organické frakce byly promyty nasyceným roztokem NaOH, vysušeny (MgSO₄) a zkoncentrovány. Zbytek byl chromatografován (silikagel; CHCl₃/MeOH, 98:2) a vznikl 5-amino-2-chlor-3-methylpyridin jako oranžová tuhá látka (2,34 g, 89 %): MS (CI/NH₃) m/z 143 (M+H)⁺; ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ 2,17 (s, 3H), 5,40 (br s, 2H), 6,90 (d, J = 2,2 Hz, ¹H), 7,54 (d, 2,2 Hz, ¹H).

K roztoku bortrifluorid diethyletherátu (5,8 ml, 47,5 mmol) v DME (18 ml) při -14°C byl po kapkách přidán roztok 5-amino-2-chlor-3-methylpyridinu (4,5 g, 31,7 mmol) v DME (60 ml). Směs byla 15 minut míchána a potom byl po kapkách přidán roztok terc.butylinitritu (4,5 ml, 38 mmol) v DME (60 ml). Směs byla míchána při 0°C

1 hodinu a po přidání pentanu (100 ml) vypadla tuhá látka. Tuhá látka byla odfiltrována, vysušena a tak vznikla titulní sloučenina (6,9 g): ^1H NMR (MeOH- d_4 , 300 MHz) δ 2,58 (s, 3H), 8,86 (d, J = 2,1 Hz, ^1H), 9,41 (d, J = 2,2 Hz, ^1H).

Roztok shora uvedené látky byl (2,49 g) v acetanhydridu (20 ml) byl 4 hodiny zahříván na 70°C. Pak bylo za sníženého tlaku odpařeno rozpouštědlo a byla přidána voda (200 ml). Tuhým K_2CO_3 bylo pH roztoku adjustováno na 9 a roztok byl extrahován AcOEt. Organická vrstva byla potom promyta vodou a solankou, vysušena (Na_2SO_4) a zkoncentrována. Zbytek byl chromatografován (silikagel, hexan/AcOEt, 50:50). 5-Acetoxy-2-chlor-3-methylpyridin byl získán jako olej (1,45 g, 76 %): ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 2,32 (s, 3H), 2,39 (s, 3H), 7,37 (dd, J = 1,5, 1,5 Hz, ^1H), 8,06 (d, J = 2,7 Hz, ^1H); MS (CI/ NH_3) m/z 186 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 203 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$.

Nahoře získaný acetát (1,25 g, 6,7 mmol) byl hydrolysován 2 N vodným roztokem hydroxidu draselného. Octovou kyselinou byl roztok adjustován na pH 6 a extrahován ethylacetátem. Organická vrstva byla promyta vodou a solankou, vysušena (MgSO_4) a zkoncentrována. Zbytek byl chromatografován (silikagel, hexan/AcOEt, 50:50). Titulní sloučenina byla získána jako olej (1,2 g, 100 %): ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 2,36 (s, 3H), 7,19 (d, J = 3,0 Hz, ^1H), 7,89 (d, J = 3,0 Hz, ^1H); MS (CI/ NH_3) m/z 144 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 146 ($\text{M}+3\text{H}$) $^+$, 161 ($\text{M}+\text{H}+\text{NH}_4$) $^+$, 163 ($\text{M}+2\text{H}+\text{NH}_4$) $^+$.

Příklad 26

2-Chlor-3-vinyl-5-[(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

K 5-brom-6-chlor-3-[1-terc.butyloxykarbonyl-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridinu z příkladu 17 nahoře (1,00g, 2,65 mmol) v toluenu (30 ml) bylo, přidáno tetrakis-(trifenylfosfin)palladium (93 mg, 0,081 mmol) a vinyltributylcín (0,93 ml, 3,18 mmol). Směs byla přes noc zahřívána na 95°C a pak byly těkavé komponenty odstraněny ve vakuu. Po chromatografii (silikagel, $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 100:2) byl získán 2-chlor-3-vinyl-5-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin jako olej (720 mg, 84 %): ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,42 (s, 9H), 2,33 (m, 2H), 3,89 (t, J = 8,5 Hz, 2H), 4,14 (m, ^1H), 4,36 (m, ^1H), 4,52 (m, ^1H), 5,50 (d, J = 10,2 Hz, ^1H), 5,80 (d, J = 17 Hz, ^1H), 6,98 (dd, J = 17,6 Hz, J = 11,2 Hz, ^1H), 7,44 (d, J = 2,7 Hz, ^1H), 8,02 (d, J = 2,7 Hz, ^1H); MS (CI/ NH_3) m/z 325 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Tento produkt byl smísen s TFA v CH_2Cl_2 a po zpracování

extrakcí byla získána volná base titulní sloučeniny. Volný amin byl převeden na sůl hydrochloridu působením roztoku HCl v diethyletheru a vznikla titulní sloučenina jako světle žlutá hygroskopická tuhá látka: b.t. 121°C (rozklad); MS (Cl/NH₃) m/z 225 (M+H)⁺, 242 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₁₁H₁₃ClN₂O . 1,1 HCl vypočteno: 49,90 % C, 5,37 % H, 10,58 % N; nalezeno: 49,84 % C, 5,25 % H, 10,27 % N.

Příklad 27

2-Chlor-3-ethyl-5-[(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

Suspense 5% Pt na uhlí a 2-chlor-3-vinyl-5-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridinu (příklad 26 nahoře, 440 mg, 1,36 mmol) v MeOH (10 ml) byla přes noc míchána v atmosféře vodíku (balón). Směs byla sfiltrována a filtrát poskytl po zkoncentrování 2-chlor-3-ethyl-5-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin jako bezbarvý olej (219 mg, 51 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,25 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 1,42 (s, 9H), 2,32 (m, 2H), 2,71 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 3,89 (t, J = 7,85 Hz, 2H), 4,12 (dd, J = 3,0, 9,8 Hz, 1H), 4,30 (m, ¹H); 4,50 (m, ¹H), 7,16 (d, J = 3,1 Hz, ¹H), 7,94 (d, J = 3,0 Hz, 1H); MS (Cl/NH₃) m/z 327 (M+H)⁺. K roztoku sloučeniny uvedené shora (216 mg, 0,66 mmol) v CH₂Cl₂ (2 ml) byla při 0°C přidána kyselina trifluoroctová (1,8 ml). Roztok se nechal ohřát na teplotu místnosti, potom byl adjustován vodným 10 %-ním roztokem NaOH na pH 11 a extrahován CH₂Cl₂. Organický extrakt byl vysušen MgSO₄ a zkoncentrován. Zbytek byl chromatografován (silikagel; CH₂Cl₂/MeOH, 100:3 až 100:15) a poskytl volnou basi titulní sloučeniny jako olej (60 mg, 40 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,22 (m, 3H), 2,38 (m, 2H), 2,71 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 3,57 (m, 1H), 3,80 (m, 1H), 4,08 (m, 2H), 4,38 (m, 1H), 7,15 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,92 (d, J = 3,0 Hz, 1H); MS (Cl/NH₃) m/z 227 (M+H)⁺. Volná base byla rozpuštěna v THF, podrobena reakci s 1 M HCl v Et₂O a poskytla sůl hydrochloridu, která byla rozmíchána s Et₂O a ve vakuu vysušena, čímž vznikla titulní sloučenina jako bílá tuhá látka: b.t. 102-104°C; [α]_D²⁵ -9,68 (c 0,62, MeOH); ¹H NMR (D₂O, 300) , δ 1,24 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 2,71 (m, 4H), 4,11 (m, 2H), 4,42 (d, J = 4 Hz, 2H), 4,95 (m, 1H), 7,51 (d, J = 3 Hz, 1H), 8,00 (d, J = 3,0 Hz, 1H). Analýza pro C₁₁H₁₅N₂OCl . 1,1 HCl vypočteno: 49,52 C, 6,08 % H, 10,50 % N; nalezeno: 49,63 % C, 5,89 % H, 10,20 % N.

Příklad 28

2-Chlor-3-propyl-5-[(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

2-Chlor-3-brom-5-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin (1,20 g, 3,18 mmol, z příkladu 17 nahoře) v toluenu (10 ml) byl smísen s allyltributylcínem (1,98 ml, 6,36 mmol) a tetrakis(trifenylfosfin)palladiem (305 mg). Reakční směs byla 16 hodin míchána při 100°C. Ve vakuu bylo odstraněno rozpouštědlo a zbytek byl chromatografován (silikagel, hexan/AcOEt, 5:1). Byl získán 2-chlor-3-(3-propenyl)-5-[1-terc.butyloxykarbonyl-(S)-azetidinyl-2-methoxy]pyridin jako olej (947 mg, 88 %): MS (Cl/NH₃) m/z 339 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,40 (s, 9H), 2,20-2,40 (m, 2H), 3,45 (d, J = 6,60 Hz, 2H), 3,89 (t, J = 7,72 Hz, 2H), 4,11 (dd, J = 2,94, 9,92 Hz, ¹H), 4,30 (m, ¹H), 4,51 (m, ¹H), 5,10-5,20 (m, 2H), 5,93 (m, ¹H), 7,17 (d, J = 2,94 Hz, ¹H), 7,98 (d, J = 3,31 Hz, ¹H). Suspense tohoto produktu (945 mg, 2,79 mmol) a 5 % Pt na uhlí (500 mg) v MeOH (10 ml) byla 16 hodin míchána v atmosféře vodíku. Katalysátor byl odfiltrován, rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a požadovaný produkt byl získán jako olej (770 mg, 81 %). MS (Cl/NH₃) m/z 341 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0,99 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 1,42 (s, 9H), 1,60-1,74 (m, 2H), 2,20-2,40 (m, 2H), 2,65 (t, J=7,5 Hz, 3H), 3,89 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 4,11 (dd, J = 3,1, 9,8 Hz, 1H), 4,32 (m, 1H); 4,50 (m, 1H), 7,14 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 3,1 Hz, 1H). Produkt shora uvedený (759 mg, 2,22 mmol) byl rozpuštěn v CH₂Cl₂ (4 ml) a při 0°C byla přidána TFA (3 ml). Po 30-ti minutovém míchání se směs nechala pomalu ohřát na teplotu místnosti. Potom byla směs zalkalisována 15 %-ním vodným roztokem NaOH a extrahována CH₂Cl₂. Spojené organické extrakty byly vysušeny nad MgSO₄, sfiltrvány a zkoncentrovány. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; CH₂Cl₂/MeOH, 10:0,4 až 10:1:0,3 CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH). Byla získána volná base titulní sloučeniny jako olej (193 mg, 50 %): MS (Cl/NH₃) m/z 241 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 0,98 (t, J = 7,35 Hz, 3H), 1,58-1,70 (m, 2H), 2,60-2,70 (m, 4H), 3,96-4,10 (m, 2H), 4,24-4,32 (m, 2H), 4,79 (m, 1H), 7,16 (d, J = 3,4 Hz, 1H), 7,91 (d, J = 2,9 Hz, 1H). Volná base uvedená ze shora byla rozpuštěna v Et₂O a po kapkách byl přidán HCl v Et₂O. Rozpouštědlo bylo odstraněno a produkt byl rekrystalován z MeOH/Et₂O. Byl získán jako bílá hygroskopická tuhá látka: b.t. 148-150°C; [α]_D -8,54 (c 2,67, MeOH); MS (Cl/NH₃) m/z 241 (M+H)⁺; ¹H NMR (D₂O, 300) , δ 0,95 (t, J = 7,1

Hz, 3H), 1,60-1,74 (m, 2H), 2,71 (t, $J = 8,1$ Hz, 4H), 4,04-4,22 (m, 2H), 4,41 (d, $J = 4,1$ Hz, 2H), 4,97 (m, 1H), 7,48 (d, $J = 3,1$ Hz, ^1H), 8,00 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H). Analýza pro $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{OCl} \cdot 1,6 \text{ HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ vypočteno: 47,90 C, 6,30 % H, 9,31 % N; nalezeno: 47,97 % C, 5,91 % H, 9,14 % N.

Příklad 29

3-Butyl-2-chlor-5-[(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

K 2-chlor-3-brom-5-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridinu (1,00 g, 2,70 mmol, z příkladu 17 nahoře) v toluenu (10 ml) byl přidán $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (67 mg, Aldrich) a tri-*o*-tolylfosfin (335 mg, Aldrich). Reakční směs byl 20 minut probubláván 1-buten. Reakční směs byla 16 hodin míchána při 100°C v zatavené trubici, ochlazená na teplotu okolí a pak byly ve vakuu odstraněny těkavé podíly. Zbytek byl chromatografován (silikagel, hexan/AcOEt, 5:1 až 2:1). Byl získán olej (715 mg, 76 %): MS (Cl/NH_3) m/z 353 ($\text{M}+\text{H}^+$); ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,13 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H), 1,42 (s, 9H), 2,20-2,50 (m, 4H), 3,89 (t, $J = 7,77$ Hz, 2H), 4,09 (m, 1H), 4,28 (m, 1H), 5,00 (m, 1H), 5,54 (m, 1H), 7,14 (d, $J = 2,9$ Hz, 1H), 7,96 (d, $J = 3,30$ Hz, ^1H). Suspense 2-chlor-3-butenylpyridinu ze shora (420 mg, 1,19 mmol) a 5 % Pt na uhlí (40 mg) v MeOH (10 ml) bylo umístěno na 16 hodin do atmosféry vodíku (balón). Katalysátor byl odfiltrován, rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a tak byl získán požadovaný produkt (310 mg, 74 %): MS (Cl/NH_3) m/z 355 ($\text{M}+\text{H}^+$); ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 0,96 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H), 1,42 (s, 9H), 1,56-1,60 (m, 4H), 2,22-2,40 (m, 2H), 2,67 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 3,84-3,94 (m, 2H), 4,12 (m, 1H), 4,32 (m, ^1H), 4,50 (m, 1H), 7,14 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H), 7,94 (t, $J = 7,1$ Hz, 1H). Shora uvedený produkt (310 mg, 0,87 mmol) byl rozpuštěn v CH_2Cl_2 (2 ml) a při 0°C byla přidána TFA (1,2 ml). Po 30-ti minutovém míchání byla směs zalkalisována 15 %-ním vodným roztokem NaOH a extrahována CH_2Cl_2 . Spojené organické extrakty byly vysušeny nad MgSO_4 , sfiltrvány a zkoncentrovány. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$, 10:0,4:0 až 10:1:0,3). Byla získána volná base titulní sloučeniny jako olej (165 mg, 75 %): MS (Cl/NH_3) m/z 255 ($\text{M}+\text{H}^+$); ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 0,95 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,32-1,44 (m, 2H), 2,54-2,66 (m, 4H), 2,38-2,56 (m, 2H), 2,67 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 3,67 (m, 1H), 3,86 (m, 1H), 4,04-4,20 (m, 2H), 4,49

(m, 1H), 7,15 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H), 7,91 (d, $J = 2,7$ Hz, 1H). Volná base byla rozpuštěna v Et₂O a po kapkách byl opatrně přidán HCl v Et₂O. Rozpouštědlo bylo odstraněno a vzniklá sůl rekrystalována z MeOH/Et₂O. Byla získána titulní sloučenina jako bílá tuhá látka: b.t. 88-90°C; $[\alpha]_D -8,00$ (c 1,92, MeOH); MS (Cl/NH₃) m/z 255 (M+H)⁺; ¹H NMR (D₂O, 300 MHz), δ 0,93 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H), 1,35-1,42 (m, 2H), 1,58-1,68 (m, 2H), 2,60-2,78 (m, 4H), 4,02-4,22 (m, 2H), 4,41 (d, $J = 4,1$ Hz, 2H), 4,97 (m, 1H), 7,50 (s, 1H), 8,00 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H). Analýza pro C₁₃H₁₉N₂OCl · 1,5 HCl · 0,1 H₂O vypočteno: 50,17 C, 6,70 % H, 9,00 % N; nalezeno: 50,27 % C, 6,95 % H, 8,89 % N.

Příklad 30

2-Chlor-3-ethinyl-5-[(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

2-Chlor-3-brom-5-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin (1,00 g, 2,65 mmol, z příkladu 17 nahoře) byl smísen s trimethysilylacetylenem (0,45 ml, 3,18 mmol), tetrakis(trifenylfosfin)palladiem (305 mg), jodidem měďným (50 mg) a triethylaminem (1 ml) v toluenu (20 ml). Reakční směs byla 16 hodin míchána při 100°C. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek byl chromatografován (silikagel, hexan/AcOEt, 5:1 až 2:1). Byl získán trimethylsilylethynyl substituovaný pyridin jako olej (770 mg, 74 %): MS (Cl/NH₃) m/z 395 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,43 (s, 9H), 2,20-2,40 (m, 2H), 3,80-3,92 (m, 2H), 4,12 (m, 1H), 4,32 (m, 1H), 4,49 (m, 1H), 7,38 (d, $J = 3,1$ Hz, 1H), 8,05 (d, $J = 3,30$ Hz, 1H). K hořejšímu produktu (760 mg, 1,93 mmol) v MeOH (20 ml) byl přidán tuhý K₂CO₃ (293 mg, 2,12 mmol). Reakční směs byla 2 hodiny míchána při teplotě okolí, pak zředěna AcOEt a promyta vodou. Organická vrstva byla vysušena nad MgSO₄ a po zkoncentrování poskytla ethinylsubstituovaný pyridin (610 mg, 98 %): MS (Cl/NH₃) m/z 323 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,42 (s, 9H), 2,20-2,40 (m, 2H), 3,46 (s, 1H), 3,84-3,92 (m, 2H), 4,07 (m, 1H), 4,33 (m, 1H), 4,52 (m, 1H), 7,41 (d, $J = 2,9$ Hz, 1H), 8,08 (d, $J = 2,9$ Hz, 1H). Shora uvedený produkt (605 mg, 1,88 mmol) byl rozpuštěn v CH₂Cl₂ (2 ml) a při 0°C byla přidána TFA (2 ml). Po půlhodinovém míchání se reakční směs nechala pomalu ohřát na teplotu místnosti. Potom byla směs zalkalisována 15 %-ním vodným roztokem NaOH a extrahována CH₂Cl₂. Spojené organické extrakty byly vysušeny nad MgSO₄, sfiltrány a zkoncentrovány. Surový produkt byl chromatografován (silikagel;

CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH, 10:0,4:0 až 10:1:0,3). Byla získána volná base titulní sloučeniny jako olej (265 mg, 64 %): MS (Cl/NH₃) m/z 223 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 2,20,2,40 (m, 2H), 3,45 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 3,98-4,06 (m, 2H), 4,25 (m, 1H), 7,38 (d, J = 2,9 Hz, 1H), 8,08 (d, J = 3,0 Hz, 1H). Volná base ze shora byla rozpuštěna v Et₂O a po kapkách byl opatrně přidán HCl v Et₂O. Rozpouštědlo bylo odstraněno a produkt rekrystalován z MeOH/Et₂O. Byla získána hnědá hygroskopická tuhá látka; b.t. 90°C (rozklad); MS (Cl/NH₃) m/z 223 (M+H)⁺; ¹H NMR (D₂O, 300) , δ 2,71 (q, J = 8,2 Hz, 2H), 4,04-4,22 (m, 2H), 4,44 (d, J = 4,1 Hz, 2H), 4,92-5,00 (m, 1H), 7,77 (d, J = 3,5 Hz, 1H), 8,19 (d, J = 3,1 Hz, 1H). Analýza pro C₁₁H₁₁N₂OCl . 1,1 HCl . 0,5 H₂O vypočteno: 48,60 C, 4,63 % H, 10,30 % N; nalezeno: 48,70 % C, 4,81 % H, 10,01 % N.

Příklad 31

5-[(2S)-Azetidinylmethoxy]-3-brom-2-fluorpyridin dibenzoát

31a. 5-[(2S)-Azetidinylmethoxy]-3-brom-2-fluorpyridin dibenzoát

K roztoku diethyl azodikarboxylátu (0,7 ml, 4,4 mmol) v THF (25 ml) byl při 0°C přidán trifenylofosfin (1,19 g, 4,4 mmol) a reakční směs byla 0,5 hodiny míchána. Potom byl přidán 1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinmethanol (0,85 g, 4,5 mmol, příklad 7c) a 5-brom-6-fluorpyridin-3-ol (0,75 g, 4,0 mmol, krok 31d). Reakční směs se nechala pomalu ohřát na teplotu místnosti a byla přes noc míchána. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek byl chromatografován (silikagel; hexan : ethylacetát, 5:1). Byl získán 5-brom-6-fluor-3-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin (1,02 g, 72,3 %): MS (Cl/NH₃) m/z 362, 379 (M+H)⁺. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,82 (m, 1H), 7,60 (dd, J = 3,1, 7,1 Hz, 1H), 4,51 (m, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,11 (dd, J = 3,1, 10,2 Hz, 1H), 3,88 (m, 2H), 2,33 (m, 2H), 1,45 (s, 9H);. K roztoku ze shora uvedeného produktu (0,70 g, 1,9 mmol) v methylenchloridu (2 ml) byla při 0°C přidána TFA (2ml). Po 30 minutách byly ve vakuu odstraněny těkavé podíly. Zbytek byl zředěn nasyceným vodným roztokem NaHCO₃ a extrahován methylenchloridem. Organický extrakt byl vysušen nad MgSO₄ a zkoncentrován. Zbytek byl chromatografován (silikagel; methylenchlorid : methanol : NH₄OH, 10:1:0,1)

a dal 282 mg (56 %) volné base titulní sloučeniny. Base byla převedena na sůl působením benzoové kyseliny v etheru a byla získána titulní sloučenina (207 mg): MS (Cl/NH₃) m/z 261 (M+H)⁺, 278 (M+NH₄)⁺; ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,69 (dd, J = 7,0, 8,5 Hz, 2H), 4,11 (m, 1H), 4,40 (d, J = 4,4 Hz, ¹H), 4,63 (m, 1H), 4,95 (m, 1H), 7,53 (m, 8H), 7,93 (m, 7H); Analýza pro C₉H₁₀N₂OBrF · 2 C₆H₅COOH vypočteno: 54,67 % C, 4,39 % H, 5,54 % N; nalezeno: 54,45 % C, 4,25 % H, 5,58 % N.

31b. 3-Brom-2-(4-nitrofenylazo)-5-hydroxypyridin

5-Brom-3-pyridinol z příkladu 12b (8,7 g, 0,050 mmol) a KOH (1,1 g, 19,6 mmol) bylo rozpuštěno ve vodě (200 ml). Byla přidána suspence p-nitrobenzendiazonium tetrafluoroborátu [11,8 g, 0,50 mmol, připraveného jak se popisuje v *J. Org. Chem.*, 44: 1572-1583, (1979)]. Reakce byla 1 hodinu míchána, zředěna octovou kyselinou (50 ml) a sfiltrována. Surový produkt byl na vzduchu vysušen, potom chromatografován (silikagel; chloroform/methanol, 95:5 - 90:10) a dal titulní sloučeninu (5,45 g, výtěžek 34 %): MS (Cl/NH₃) m/z 323, 325 (M+H)⁺; ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ 8,48-8,43 (m, 2H), 8,21 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,09 -8,06 (m, 2H), 7,72 (d, 2,4 Hz, 1H).

31c. 2-Amino 3-brom-5-hydroxypyridin

Sloučenina z hořejšího příkladu 31b (5,0 g, 15,8 mmol) a chlorid cínatý (25 g, 111 mmol) byly suspendovány v koncentrovaném HCl a ethanolu (150 ml) a směs byla 1 hodinu vařena. Směs byla ochlazena na 0°C a pak sfiltrována. Filtrát byl neutralisován bikarbonátem sodným (180 g) a extrahován ethylacetátem. Organické extrakty byly promyty solankou, vysušeny (MgSO₄) a zkoncentrovány. Zbytek byl chromatografován (silikagel; chloroform/methanol/NH₄OH, 95:5:0,5 - 90:10:1) a dal titulní sloučeninu (3,3 g, výtěžek 34 %): MS (Cl/NH₃) m/z 189, 191 (M+H)⁺; ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ 7,57 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 7,43 (d, 2,6 Hz, 1H).

31d. 3-Brom-2-fluor-5-hydroxypyridin

Sloučenina z 31c (3,0 g, 15,9 mmol) byla rozpuštěna v HF. pyridinu (50 ml). Roztok byl ochlazen na 0°C a míchán pod dusíkem. Pak byl během 20 minut po dávkách přidáván dusitan sodný (1,09 g, 15,8 mmol). Směs byla 1 hodinu zahřívána

na 50°C, ochlazená na 0°C a alkalisována 20 %-ním vodným NaOH. Vodná fáze byla promyta methylenchloridem (5 x 100 ml), neutralisována HCl a extrahována ethylacetátem (5 x 100 ml). Organické extrakty byly vysušeny (MgSO₄), sfiltrány a zkoncentrovány ve vakuu. Výtěžkem byla titulní sloučenina jako světle hnědá tuhá látka: MS (Cl/NH₃) m/z 192, 194 (M+H)⁺; ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz) δ 9,38 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 9,20 (d, 2,6 Hz, 1H).

Příklad 32

5-[(2S)-Azetidinylmethoxy]-3-methyl-2-fluorpyridin benzoát

32a. 5-[(2S)-Azetidinylmethoxy]-3-methyl-2-fluorpyridin benzoát

Bylo postupováno podle postupu v příkladu 6 tak, že byl použit 2-fluor-5-hydroxy-3-methylpyridin (příklad 32e níže) a (S)-1-benzyloxykarbonyl-2-azetidin-methanol (příklad 7c nahoře) namísto 3-hydroxypyridinu respektive (R)-1-benzyl-oxykarbonyl-2-azetidinmethanolu, takže se získal 6-fluor-5-methyl-3-[1-benzyloxykarbonyl-(2S)--azetidinylmethoxy]pyridin v 60 %-ním výtěžku: MS (Cl/NH₃) m/z 331 (M+H)⁺, 348 (M+NH₄)⁺, ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,63 (br s, 1H), 7,29 (m, 5H), 7,18 (br s, 1H), 5,05 (m, 2H), 4,59 (m, 1H), 4,3 (br s, 1H), 4,09 (m, 1H), 3,99 (m, 1H), 2,26-2,05 (m, 2H), 2,05 (s, 3H). Benzyloxykarbonylová skupina byla z hořejšího produktu odstraněna hydrogenolysou (10 % Pd/C, MeOH, vodík 1 atmosféra) a sůl byla připravena reakcí volného aminu s kyselinou benzoovou v Et₂O. Titulní sloučenina vznikla jako šedobílá tuhá látka (53 %): b.t. 104-108°C; [α]_D -5,55 (c 0,55, MeOH); ¹H NMR (DMSO), δ 7,90 (m, 2H), 7,70 (s, 1H), 7,51-7,48 (s, 2H), 7,42-7,39 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 4,27 (m, 1H), 4,17 (dd, J = 7,3, 10,4 Hz, 1H), 4,08 (dd, J = 4,9, 10,4 Hz, 1H), 3,79 (m, 1H), 3,47 (m, 1H), 2,35 (m, 1H), 2,19 (s, 3H), 2,16 (m, 1H); MS (Cl/NH₃) m/z 197 (M+H)⁺, 214 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₁₀H₁₃N₂OF . C₇H₆O₂ vypočteno: 64,14 C, 6,02 % H, 8,80 % N; nalezeno: 63,90 % C, 6,10 % H, 8,70 % N.

32b. 2-Fluor-3-methyl-5-nitropyridin

2-Chlor-3-methyl-5-nitropyridin (15,0 g, 86,9 mmol; od Maybridge Chemical Co.), KF (12 g, 258 mmol) a tetrafenylfosfoniumbromid (20 g, 47,7 mmol) byly ve 200 ml acetonitrilu smíseny a 4 dny zahřívány k varu. Směs byla zředěna Et₂O (500 ml),

sfiltrována a zkoncentrována. Zbytek byl rozmícháván shorkým hexanem a potom byly spojené hexanové roztoky zkoncentrovány za vzniku 4 g (60 %) titulní sloučeniny: ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz), δ 8,95 (dd, $J = 1,6$ Hz, 1H), 8,43 (m, 1H), 2,42 (m, 1H); MS (Cl/NH_3) m/z 157 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$,

32c. 3-Amino-6-fluor-5-methylpyridin

2-Fluor-3-methyl-5-nitropyridin (z kroku 32b nahoře) byl smísen s 5% Pd/C v EtOH (100 ml) a směs byla v atmosféře vodíku míchána 16 hodin. Směs byla sfiltrována a zkoncentrována. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; chloroform/methanol, 99:1 až 94:6) a poskytl 5,2 g (78 %) titulní sloučeniny: ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz), δ 7,26 (t, $J = 2,7$ Hz, 1H), 6,95 (dd, $J = 8,1$ Hz, 1H), 5,11 (br s, 2H), 2,10 (s, 3H); MS (Cl/NH_3) m/z 127 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 144 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$.

32d. 3-Acetoxy-6-fluor-5-methylpyridin

Při -15°C byl k bortrifluorid etherátu (10 ml, 81 mmol) pod dusíkem přidán produkt z kroku 32c (5,1 g, 40 mmol) v DME (30 ml). Takovou rychlostí, aby teplota byla udržována pod 0°C byl pak přidáván terc. butylnitrit (5,5 ml, 46 mmol, Aldrich). Potom byl přidán další DME (25 ml). Po 10-ti minutách při -10°C byla reakční směs ohřáta na 5°C a míchána 30 minut. Pak byl k reakční směsi přidán pentan (400 ml), tuhá látka byla odsáta, promyta chladným etherem, vysušena na vzduchu a rozpuštěna ve 100 ml acetanhydridu. Vzniklý roztok byl 1 hodinu zahříván na $77 \pm 5^\circ\text{C}$. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu, zbytek byl suspendován v nasyceném vodném roztoku Na_2CO_3 (200 ml) a extrahován ethyletherem. Etherový roztok byl vysušen (MgSO_4) a zkoncentrován, Surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan/ AcOEt , 9:1 až 7:3) a poskytl 3,62 g (53 %) titulní sloučeniny: MS (Cl/NH_3) m/z 170 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 187 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ 7,8 (m, 1H), 7,34 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,29 (s, 3H).

32e. 2-Fluor-5-hydroxy-3-methylpyridin

Produkt z kroku 32d (3,6 g, 21,3 mmol) byl rozpouštěn ve 20 %-ním vodném NaOH (25 ml). Po úplném spotřebování výchozího materiálu byl roztok neutralisován přidáním HCl. Vodná směs byla extrahována ethylacetátem. Organické extrakty byly vysušeny (MgSO_4) a rozpouštědlo bylo odpařeno. Surový produkt byl rozmíchán s

hexanem a tak bylo získáno 2,35 g (87 %) titulní sloučeniny: MS (Cl/NH₃) m/z 128 (M+H)⁺, 145 (M+NH₄)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ 7,61 (t, J = 2,2 Hz, 1H), 7,17 (m, 1H), 2,25 (s, 3H).

Příklad 33

5-[(2S)-Azetidinylmethoxy]-3-chlor-2-fluorpyridin tosylát

33a. 5-[(2S)-Azetidinylmethoxy]-3-chlor-2-fluorpyridin tosylát

Podle postupu v příkladu 10 byl tam uvedený 3-fluor-5-hydroxypyridin nahrazen za 3-chlor-2-fluor-5-hydroxypyridin (3,0 mmol) a tak byl připraven 5-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]3-chlor-2-fluorpyridin (668 mg, 70 %) jako bezbarvý olej: [α]_D -56,6 (c 2,7, CH₂Cl₂); ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,43 (s, 9H), 2,24-2,40 (m, 2H), 3,84-3,91 (m, 2H), 4,12 (dd, J = 2,7, 11,2 Hz, 1H), 4,36 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 7,46 (dd, J = 3,1, 7,5 Hz, 1H), 7,78 (dd, J = 2,0, 2,7 Hz, 1H); (MS (Cl/NH₃) m/z 317, 319 (M+H)⁺. Roztok hořejší sloučeniny (780 ml, 2,46 mmol) byl při 0°C míchán v 1:1 roztoku CH₂Cl₂/TFA. Po 30-ti minutách byl reakční roztok zkoncentrován, zbytek byl zředěn CH₂Cl₂ a promyt nasyceným roztokem K₂CO₃. Organický extrakt byl vysušen (Na₂SO₄) a zkoncentrován. Chromatografie (silikagel; 90:10:1 CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH) poskytla 407 mg (76 %) volné base titulní sloučeniny: MS (Cl/NH₃) m/z 217, 219 (M+H)⁺. Volný amin (387 mg, 1,79 mmol) byl rozpuštěn v MeOH (5 ml) a byl přidán monohydrát kyseliny p-toluensulfonové (340 mg, 1,79 mmol). Roztok byl zkoncentrován a tuhá látka byla rekrystalována ze směsi MeOH/hexan. Titulní sloučenina byla získána jako bílá tuhá látka: b.t. 99°C; ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,40 (s, 2H), 2,69 (q, J = 8,5 Hz, 2H), 4,05-4,18 (m, 2H), 4,41 (d, J = 4,3 Hz, 2H), 4,94 (m, 1H), 7,37 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,69 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,82 (dd, J = 3,1, 7,31 Hz, 1H), 7,87 (m, 1H); MS (Cl/NH₃) m/z 217, 219 (M+H)⁺, 234, 236 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₉H₁₀N₂OFCI . C₇H₈O₃S vypočteno: 49,42 C, 4,67 % H, 7,20 % N; nalezeno: 49,14 % C, 4,56 % H, 6,98 % N.

33b. 3-Chlor-2-(4-nitrofenylazo)-5-hydroxypyridin

K roztoku 5-chlor-3-pyridinolu (20,0 g, 0,154 mmol, Aldrich) a KOH (13,0 g, 0,232 mmol) ve 300 ml vody při 0°C byl přidán p-nitrobenzendiazonium tetrafluoroborát [36,6

g, 0,154 mmol, Aldrich). Po 1 hodině bylo přidáno 50 ml ledové kyseliny octové, světle červený precipitát byl odfiltrován a vysušen na vzduchu. Chromatografie (silikagel; chloroform/methanol, 95:5 - 90:10) poskytla titulní sloučeninu jako světle červenou tuhou látku (28,8 g, 67 %): ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 7,14 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,89 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 8,00 (m, 2H), 8,39 (m, 2H). MS (CI/ NH_3) m/z 279, 281 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

33c. 2-Amino-3-chlor-5-hydroxypyridin

K suspensi diazo sloučeniny z kroku 33b (8,82 g, 31,7 mmol) a chloridu měďného (9,40 g, 95,0 mmol, Aldrich) v methanolu (150 ml) byl při 0°C po částech přidáván borohydrid draselný (12,0 g, 221 mmol, vývoj dusíku). Tmavá směs se nechala ohřát na teplotu okolí, byla 1 hodinu míchána, potom sfiltrována a koncentrována. Zbytek byl rozpuštěn v ledové kyselině octové (75 ml) a přidána byla 30 %-ní HBr/AcOH (75 ml). Směs sfiltrována (promytí AcOH), filtrát byl zkoncentrován a tak bylo získáno 8,64 g (89 %) nevyčištěné titulní sloučeniny jako dihydrobromid: ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 5,40 (br s, 1H), 7,16 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 7,56 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 8,25 (br s, 2H); MS (CI/ NH_3) m/z 145, 147 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

33d. 3-Chlor-2-fluor-5-hydroxypyridin

K roztoku sloučeniny z kroku 33c (11,8 g, 38,4 mmol) v HF. pyridinu (100 g, Aldrich) při 0°C byl přidán po dávkách dusitan sodný (2,92 g, 42,3 mmol). Reakční směs byla 1 hodinu zahřívána na 50°C, potom ochlazena na 0°C a zalkalisována 20 %-ním vodným NaOH. Vodná fáze byla promyta AcOEt, neutralisována 1 N vodným roztokem HCl a extrahována ethylacetátem. Získané extrakty byly vysušeny (MgSO_4), sfiltrovány a ve vakuu zkoncentrovány. Čistění chromatografií (silikagel; hexan/AcOEt, 50:50) poskytlo 1,49g (25 %) titulní sloučeniny jako světle hnědou tuhou látku: ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 7,54 (m, 1H), 7,67 (m, 1H), 10,44 (s, 1H); MS (CI/ NH_3) m/z 148, 150 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Příklad 34

5-Brom-6-methyl-3-[(2S)-azetidylmethoxy]pyridin dihydrochlorid

34a. 5-Brom-6-methyl-3-[(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin dihydrochlorid

Trifenyfosfin (6,3 g, 24 mmol) byl rozpuštěn v THF (100 ml), ochlazen na 0°C a podroben po 15 minut působení DEAD (3,8 ml, 24 mmol). Potom byl přidán 5-brom-6-methyl-3-pyridinol (3 g, 16 mmol, viz krok 34e níže) a 1-terc.-butyloxykarbonyl-2-(S)-azetidinmethanol (3,4 g, 18 mmol, krok 7c) a směs se pomalu nechala ohřát na teplotu okolí. Po 3 dnech bylo odstraněno rozpouštědlo a zbytek byl chromatografován (silikagel; hexan/AcOEt, 4:1). Byla získána tituliní sloučenina jako olej znečištěný vedlejším hydrazinovým produktem pocházejícím z DEAD: MS (Cl/NH₃) m/z 357 (M+H)⁺. Hořejší produkt (0,40 g, 1,12 mmol) byl rozpuštěn v methylenchloridu (4 ml) a zreagován s TFA (2 ml) při 0°C po dobu 1 hodiny. Roztok byl zkoncentrován, zbytek byl zředěn nasyceným vodným roztokem bikarbonátu a extrahován methylenchloridem. Organické extrakty byly promyty vodou a vysušeny (MgSO₄). Odpaření rozpouštědla poskytlo 0,25 g, (76 %) neutrálního produktu, který byl rozpuštěn v etheru a zreagován s 1 M HCl v etheru. Vzniklá tuhá látka byla shromážděna, promyta čerstvým etherem v dioxanu a tak bylo získáno 151 mg (41 %) tituliní sloučeniny: b.t. 153-155°C; [α]_D -7,4 (c 0,54, MeOH); ¹H NMR (CD₃OD 300 MHz) δ 2,63-2,76 (m, 2H), 2,78 (s, 3H); 4,04-4,18 (m, 2H), 4,50-4,63 (m, 2H), 4,88-4,96 (m, ¹H), 8,50 (d, J = 2 Hz, 1H), 8,10 (m, J = 2 Hz, 1H); MS (Cl/NH₃) m/z 257 (M+H)⁺, 274 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₁₀H₁₃N₂OBr · 2 HCl vypočteno: 36,39 % C, 4,58 % H, 8,49 % N; nalezeno: 36,31 % C, 4,66 % H, 8,41 % N.

34b. 3-Brom-2-methyl-5-nitropyridin

Roztok diethyl-malonátu (17,6 ml, 0,116 mol) v diethyetheru (250 ml) byl při teplotě okolí smísen s hydridem sodným (80% v minerálním oleji, 3,5 g, 0,116 mol) a směs byla míchána 1 hodinu. Potom byl během 5 minut po dávkách přidáván 3-brom-2-chlor-5-nitropyridin (25 g, 105 mmol, připravený z 2-hydroxy-5-nitropyridinu postupem podle V. Kocha a S. Schnatterera, *Synthesis* **1990**, 499-501). Po 1 hodinovém míchání bylo odpařeno rozpouštědlo a zbytek byl 1 hodinu zahříván na 100°C. Po ochlazení směsi byla přidána 12 N H₂SO₄ a směs byla asi 16 hodin zahřívána k varu. Směs se nechala zchladnout na teplotu okolí a pak byla dále chlazená při reakci s 50 %-ním NaOH do alkalického pH. Vzniklý roztok byl extrahován CH₂Cl₂ (3 x), organické extrakty byly promyty vodou, vysušeny (MgSO₄),

odpařeny a poskytly 17,1 g titulní sloučeniny jako červený olej: ^1H NMR (CDCl_3 300 MHz) δ 2,81 (m, 3H), 8,61 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 9,26 (m, $J = 2$ Hz, 1H).

34c. 5-Amino-3-brom-2-methylpyridin

Sloučenina z hořejšího příkladu 34b (17,1 g 78,8 mmol) byla rozpuštěna v AcOH (50 ml) a vodě (150 ml) a během 2 hodin byl po dávkách přidáván železný prach (13,3 g, 236 mmol). Směs byla sfiltrována a filtrační koláč byl promyt AcOEt. Vrstvy byly rozděleny a vodná fáze byla extrahována AcOEt. Spojené organické frakce byly promyty 1 M roztokem bikarbonátu sodného, pak vysušeny (MgSO_4) a zkoncentrovány. Vzniklo 12,65 g (86 %) titulní sloučeniny: MS (Cl/NH_3) m/z 187 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 204 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$.

34d. 5-Acetoxy-3-brom-2-methylpyridin

Sloučenina z příkladu 34c (12,6 g, 67 mmol) se nechala reagovat s terc. butylnitritem a $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ a potom s acetanhydridem postupem jako v příkladu 1f. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan/AcOEt, 4:1) a poskytl titulní sloučeninu (12,0 g, 58 %): MS (Cl/NH_3) m/z 230 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

34e. 3-Brom-5-hydroxy-2-methylpyridin

Produkt z příkladu 34d byl při 0°C míchán s 15 %ním vodným NaOH (75 ml) a směs se nechala ohřát na teplotu okolí. Po 1 hodině byla směs za chlazení okyselena 6 N vodným HCl a vzniklá suspence byla extrahována AcOEt. AcOEt byl promyt H_2O , vysušen (MgSO_4) a zkoncentrován. Tak bylo získáno 7,0 g (95 %) titulní sloučeniny: ^1H NMR (CDCl_3 300 MHz) δ 2,59 (s, 3H), 7,46 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 8,10 (d, $J = 2$ Hz, 1H); MS (Cl/NH_3) m/z 188 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 207 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$.

Příklad 35

6-Methyl-5-vinyl-3-[(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

5-Brom-6-methyl-3-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin (0,95 g, 2,7 mmol, krok 34a nahoře) reagoval při 90°C přes noc s vinyltributylcínem (1,62 ml, 5,56 mmol) a tetrakis(trifenylfostin)palladiem (0,29 g, 0,25 mmol) v toluenu (30 ml). Směs byla ochlazena na teplotu okolí a chromatografována na silikagelu s eluentem hexan/

AcOEt 2:1. Byl získán 6-methyl-5-vinyl-3-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin (0,49 g, 60 %): MS (Cl/NH₃) m/z 305 (M+H)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,42 (s, 9H), 2,22-2,38 (m, 2H), 2,52 (s, 3H), 3,91 (dt, J = 2,6 Hz, 2H), 4,13 (dd, J = 3, 10 Hz, 1H), 4,30-4,36 (m, ¹H), 4,49-4,55 (m, 1H), 5,40 (dd, J = 1, 11 Hz, ¹H), 5,64 (dd, J = 1, 17 Hz, 1H), 6,84 (dd, J = 11, 17 Hz, 1H), 7,32 (d, J = 3 Hz, 1H), 8,13 (d, J = 3 Hz, 1H). Hořejší produkt (0,47 g, 1,53 mmol) byl při 0°C 2 hodiny podroben reakci s 8 ml 1:1 směsi TFA-methylenchlorid. Těkavé komponenty byly ve vakuu odpařeny, zbytek byl zředěn nasyceným vodným roztokem bikarbonátu sodného a extrahován CH₂Cl₂. Spojené organické vrstvy byly promyty vodou, vysušeny nad MgSO₄ a poskytly produkt (277 mg, výtěžek 89 %). Polovina vzorku byla rozpuštěna v etheru byl přidán 1 M roztok HCl v etheru. Bylo získáno 85 mg titulní sloučeniny jako šedobílé tuhé látky: b.t. 154-155°C; [α]_D -8,9 (c 0,45, MeOH); ¹H NMR (CD₂OD) δ 2,63-2,77 (m, 2H), 2,74 (s, 3H), 4,08-4,16 (m, 2H), 4,52-4,64 (m, 2H), 4,85-4,95 (m, 1H), 5,80 (d, J = 11 Hz, 1H), 6,15 (d, J = 17 Hz, 1H), 7,02 (dd, J = 11, 17 Hz, ¹H), 8,36 (d, J = 2 Hz, 1H), 8,48 (d, J = 2 Hz, ¹H); MS (Cl/NH₃) m/z 205 (M+H)⁺. Analýza pro C₁₂H₁₆N₂O · 2,1 HCl vypočteno: 51,32 % C, 6,50 % H, 9,97 % N; nalezeno: 51,60 % C, 6,21 % H, 9,82 % N.

Příklad 36

5-Ethyl-6-Methyl -3-[(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

6-Methyl-5-vinyl-3-[1-terc.butyloxykarbonyl-(2S)-azetidinylmethoxy]pyridin (0,26 g, 0,86 mmol, příklad 35 nahoře) byl rozpuštěn v MeOH (15 ml) a podroben působení 10 % Pd/C (50 mg) a 1 atm plynného vodíku. Po 1 dni byl katalysátor odstraněn, rozpouštědlo odpařeno a zbytek byl chromatografován (silikagel; hexan/AcOEt 1:1). Byl získán 5-ethyl-6-methyl-3-[N-terc.butyloxykarbonyl-2-(S)-azetidinylmethoxy]-pyridin (0,12 g, 45 %): MS (Cl/NH₃) m/z 307 (M+H)⁺; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 1,23 (t, J = 7 Hz, 3H), 1,42 (s, 9H), 2,23-2,38 (m, 2H), 2,47 (s, 3H), 2,60 (q, J = 7 Hz, 2H), 3,86-3,93 (m, 2H), 4,12 (dd, J = 3,9 Hz, 1H), 4,29 (dd, J = 5,10 Hz, 1H), 4,43-4,53 (m, 1H), 7,04 (d, J = 3 Hz, 1H), 8,05 (d, J = 3 Hz, 1H). Hořejší sloučenina (0,26 g, 0,85 mmol) se nechala při 0°C reagovat 1 hodinu s 10 ml směsi 1:1 TFA-methylenchlorid. Zbytek byl zředěn nasyceným roztokem bikarbonátu

sodného a extrahován do CHCl_3 . Organická vrstva byla promyta vodou, vysušena nad MgSO_4 a po zkoncentrování poskytla volnou basi titulní sloučeniny (132 mg, 75 %). Ta byla rozpuštěna v etheru a smísena s roztokem 1 N HCl v etheru. Vzniklá sůl byla odfiltrována a tak byla získána titulní sloučenina (52 mg, 25 %). Matečný louh po odpaření poskytl dalších 73 mg titulní sloučeniny: b. t. 150-153°C; $[\alpha]_D -7,6$ (c 0,62, MeOH; ^1H NMR (300 MHz, CD_2OD) δ 1,34 (t, $J = 7$ Hz, 3H), 2,63-2,76 (m, 2H), 2,72 (s, 3H), 4,04-4,19 (m, 2H), 4,49-4,63 (m, 2H), 4,88-4,97 (m, 1H), 8,14 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 8,40 (d, $J = 2$ Hz, 1H). MS (CI/ NH_3) m/z 207 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; Analýza pro $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O} \cdot 2 \text{HCl} \cdot 0,1 \text{H}_2\text{O}$ vypočteno: 51,29 % C, 7,25 % H, 9,97 % N; nalezeno: 51,21 % C, 7,14 % H, 9,77 % N.

Příklady 37-53

R-enantiomery vzorce I s X a Y definovanými jak uvádí Tabulka 5 byly připravovány každý podle postupu použitého pro přípravu odpovídajícího (S)-enantiomeru jak je uvedeno v Tabulce 5 a při použití odpovídajícího N-chráněného (R)-2-azetidinmethanolu jako výchozího materiálu místo N-chráněného (S)-2-azetidinmethanolu.

Tabulka 5

Příklad	X	Y	Postup podle příkladu
37	Me	H	20
38	H	Cl	21
39	H	Br	12
40	H	Et	23
41	H	n-Pr	24
42	H	vinyl	22
43	Cl	Me	25
44	Cl	Et	27
45	Cl	n-Pr	28
46	Cl	n-Bu	29
47	Cl	vinyl	26

48	Cl	ethinyl	30
49	F	Br	31
50	F	Me	32
51	Me	Br	34
52	Me	Et	36
53	Me	vinyl	35

Příklad 54

1-(N-BOC-L-alanyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

K roztoku 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (z příkladu 8, 102 mg, 0,60 mmol) v THF (20 ml) byl přidán N-BOC-L-alanin (106 mg, 1,0 ekvivalentu), 1-(dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimid.HCl (107 mg, 1,0 ekvivalentu) a 4-(dimethylamino)pyridin (68 mg, 1,0 ekvivalentu) a vzniklá směs byla přibližně 2 hodiny míchána při 20-25°C. Těkavé podíly byly ve vakuu odstraněny a zbytek byl čistěn chromatografií na silikagelu, vymýváním 10 % MeOH/CH₂Cl₂. (155 mg, 73 %): ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,85 (m, 1H), 7,37 (ddd, J = 3, 7, 10 Hz, 1H), 6,84 (dd, J = 3,9 Hz, 1H), 5,0-5,2 (m, 1H), 4,0-4,7 (br m, 5H), 3,49 (d, J = 6 Hz, 1H), 2,47 (m, 2H), 1,41 (s, 9H), 1,29 (d, J = 7 Hz, 3H); MS (Cl/NH₃) *m/e* 354, 298, 254; [α]_D²⁰ -49,78° (c=0,10, CH₂Cl₂). Analýza pro C₁₇H₂₄N₃O₄F · 0,55 H₂O vypočteno: 56,20 % C, 6,96 % H, 11,57 % N; nalezeno: 56,23 % C, 7,03 % H, 11,26 % N.

Příklad 55

1-(N-acetyl-L-fenylalanyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 54 s tím rozdílem, že N-BOC-L-alanin v něm uvedený byl nahrazen N-acetyl-L-fenylalaninem. Produkt byl získán jako bezbarvý olej ve výtěžku 56 %: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,81(m, 1H), 7,1-7,4 (m, 6H), 6,84 (m, 1H), 6,12 (m, 1H), 4,4-5,0 (m, 2H), 3,5-4,2 (m, 3H), 2,97 (m, 3H), 2,0-2,2 (m, 2H), 1,96 (s, 3H); MS (Cl/NH₃) *m/e* 372; [α]_D²⁰ -46,21° (c=0,20,

CH₂Cl₂). Analýza pro C₂₀H₂₂N₃O₃F vypočteno: 64,68 % C, 5,97 % H, 11,31 % N; nalezeno: 64,44 % C, 5,99 % H, 11,06 % N.

Příklad 56

1-(N-acetyl-L-alanyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 54 s tím rozdílem, že N-BOC-L-alanin v něm uvedený byl nahrazen N-acetyl-L-alaninem. Produkt byl získán jako bezbarvý olej ve výtěžku 78 %: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,85 (m, 1H), 7,37 (m, 1H), 6,86 (m, 1H), 6,2 (m, 1H), 4,4-4,8 (m, 3H), 3,9-4,4 (m, 3H), 2,48 (m, 2H), 1,96 (s, 3H), 1,30 (d, J = 7 Hz, 3H); MS (CI/NH₃) *m/e* 296, 183; [α]_D²⁰ -86,72° (c=0,15, CH₂Cl₂). Analýza pro C₁₄H₁₈N₃O₃F · 0,4 H₂O vypočteno: 56,58 % C, 6,26 % H, 13,89 % N; nalezeno: 55,66 % C, 6,38 % H, 13,93 % N.

Příklad 57

1-(N-BOC-L-fenylalanyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 54 s tím rozdílem, že N-BOC-L-alanin v něm uvedený byl nahrazen N-BOC-L-fenylalaninem. Produkt byl získán jako světlý olej ve výtěžku 98 %: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,83 (m, 1H), 7,30 (m, 5H), 7,15 (m, 1H), 6,83 (dd, J = 3,5 Hz, 1H), 5,18 (m, 1H), 4,46 (m, 2H), 4,25 (m, 1H), 3,6-4,2 (m, 2H), 2,96 (m, 3H), 2,13 (s, 2H), 1,41 (s, 9H); MS (CI/NH₃) *m/e* 430, 330; [α]_D²⁰ 36,72° (c=0,15, CH₂Cl₂). Analýza pro C₂₃H₂₈N₃O₄F · 0,1 H₂O vypočteno: 64,05 % C, 6,59 % H, 9,74 % N; nalezeno: 64,03 % C, 6,28 % H, 9,73 % N.

Příklad 58

1-(Monomethylftalyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 54 s tím rozdílem, že N-BOC-L-alanin v něm uvedený byl nahrazen monomethyl-ftalátem. Produkt byl získán jako bezbarvý olej ve výtěžku 99 %: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,96 (m, 2H), 7,52 (m, 3H), 7,22 (m, 1H), 6,87 (m, 1H), 4,1-4,9 (m, 3H), 3,91 (s, 3H), 3,78 (m, 2H), 2,44 (m, 2H); MS (DCI/ NH_3) m/e 345; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ -18,21° ($c=0,15$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4\text{F} \cdot 0,55 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 61,03 % C, 5,15 % H, 7,91 % N; nalezeno: 61,09 % C, 5,12 % H, 7,90 % N.

Příklad 59

1-(N-Acetyl-D-fenylalanyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 54 s tím rozdílem, že N-BOC-L-alanin v něm uvedený byl nahrazen N-acetyl-D-fenylalaninem. Produkt byl získán jako bílá pěna ve výtěžku 97 %: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,82 (m, 1H), 7,2-7,5 (m, 6H), 6,87 (m, 1H), 6,27 (m, 1H), 4,6-5,0 (m, 2H), 3,8-4,2 (m, 3H), 3,54 (m, 1H), 2,9-3,1 (m, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,8-2,4 (s, 2H); MS (DCI/ NH_3) m/e 372; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ +56,67° ($c=0,15$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}_3\text{F} \cdot 0,45 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 63,30 % C, 6,08 % H, 11,07 % N; nalezeno: 63,29 % C, 5,93 % H, 11,09 % N.

Příklad 60

1-(N-Acetyl-D-alanyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 54 s tím rozdílem, že N-BOC-L-alanin v něm uvedený byl nahrazen N-acetyl-D-alaninem. Produkt byl získán jako světle žlutý olej ve výtěžku 86 %: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,86 (m, 1H), 7,36 (m, 1H), 6,85 (m, 1H), 6,26 (m, 1H), 4,71 (m, 1H), 4,1-4,6 (m, 5H), 2,47 (m, 2H), 1,98 (s, 3H), 1,22 (d, $J=7 \text{ Hz}$, 3H); MS (DCI/ NH_3) m/e 296; $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ +95,67° ($c=0,30$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{O}_3\text{F} \cdot 0,40 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 55,58 % C, 6,26 % H, 13,89 % N; nalezeno: 55,57 % C, 6,30 % H, 13,80 % N.

Příklad 61

1-[4-(Diethylaminomethyl)benzoyl] prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 54 s tím rozdílem, že N-BOC-L-alanin v něm uvedený byl nahrazen 4-(dimethylaminomethyl)benzoovou kyselinou. Produkt byl získán jako světle žlutý olej ve výtěžku 59 %: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,90 (m, 1H), 7,54 (m, 2H), 7,38 (m, 4H), 6,83 (m, 1H), 4,88 (m, 1H), 4,1-4,6 (m, 3H), 3,60 (br s, 2H), 2,50 (m, 6H), 1,03 (d, $J = 7$ Hz, 6H); MS (DCI/ NH_3) m/e 372; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +97,00^\circ$ ($c=0,60$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_2\text{F} \cdot 0,3 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 66,93 % C, 7,11 % H, 11,15 % N; nalezeno: 66,99 % C, 7,13 % H, 11,17 % N.

Příklad 62

1-(N-BOC-D-fenylalanyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 54 s tím rozdílem, že N-BOC-L-alanin v něm uvedený byl nahrazen N-BOC-D-fenylalaninem. Produkt byl získán jako bezbarvý olej ve výtěžku 79 %: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,82 (m, 1H), 7,31 (m, 3H), 7,19 (m, 3H), 6,87 (m, 1H), 5,25 (m, 1H), 4,62 (m, 1H), 3,7-4,4 (m, 4H), 3,53 (m, 1H), 2,95 (m, 2H), 1,8-2,4 (m, 2H), 1,37 & 1,44 (s, 9H); MS (DCI/ NH_3) m/e 430, 274, 330; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +33,20^\circ$ ($c=0,20$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_4\text{F} \cdot 0,65 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 62,61 % C, 6,69 % H, 9,52 % N; nalezeno: 62,64 % C, 6,66 % H, 9,36 % N.

Příklad 63

1-(N-BOC-D-alanyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 54 s tím rozdílem, že N-BOC-L-alanin v něm uvedený byl nahrazen N-BOC-D-alaninem. Produkt byl

získán jako bezbarvý olej ve výtěžku 99 %: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,87 (m, 1H), 7,36 (ddd, $J = 3, 6, 9$ Hz, 1H), 6,85 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 5,20 (m, 1H), 4,72 (m, 1H), 4,53 (m, 1H), 4,1-4,3 (m, 4H), 2,46 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,20 (d, $J = 7$ Hz, 3H); MS (CI/NH_3) m/e 354, 298, 254; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +79,20^\circ$ ($c=0,52$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_3\text{O}_4\text{F} \cdot 0,25 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 57,05 % C, 6,90 % H, 11,74 % N; nalezeno: 57,09 % C, 6,91 % H, 11,58 % N.

Příklad 64

1-[2-Oxo-tetrahydrofuran-4-(S)-karboxoyl] prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 54 s tím rozdílem, že N-BOC-L-alanin v něm uvedený byl nahrazen S-4-karboxybutyrolaktonem. Produkt byl získán jako bezbarvý olej ve výtěžku 65 %: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,86 (m, 1H), 7,37 (m, 1H), 6,86 (m, 1H), 4,7-5,1 (m, 2H), 4,0-4,6 (m, 4H), 2,43 (m, 6H); MS (CI/NH_3) m/e 295, 199, 174, 123; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +94,0^\circ$ ($c=0,30$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_4\text{F} \cdot 0,4 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 55,77 % C, 5,28 % H, 9,24 % N; nalezeno: 55,88 % C, 5,39 % H, 9,28 % N.

Příklad 65

1-[2-Oxo-tetrahydrofuran-4-(R)-karboxoyl] prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 54 s tím rozdílem, že N-BOC-L-alanin v něm uvedený byl nahrazen R-4-karboxybutyrolaktonem. Produkt byl získán jako světle žlutý olej ve výtěžku 63 %: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,88 (m, 1H), 7,37 (m, 1H), 6,86 (m, 1H), 4,86 (m, 1H), 4,76 (m, 1H), 4,60 (m, 1H), 4,32 (t, $J = 8$ Hz, 2H), 4,11 (m, 1H), 2,50 (m, 6H); MS (CI/NH_3) m/e 295; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +77,50^\circ$ ($c=0,16$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_4\text{F} \cdot 0,4 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 55,77 % C, 5,28 % H, 9,24 % N; nalezeno: 55,82 % C, 5,34 % H, 9,21 % N.

Příklad 66

1-[2-(Hydroxymethyl)benzoyl] prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 54 s tím rozdílem, že N-BOC-L-alanin v něm uvedený byl nahrazen 2-hydroxymethylbenzoovou kyselinou. Produkt byl získán jako světlý olej ve výtěžku 44 %: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,94 (m, 1H), 7,37 (m, 5H), 6,87 (m, 1H), 4,90 (m, 1H), 4,71 (m, 1H), 4,60 (br d, $J = 11$ Hz, 1H), 4,43 (br d, $J = 11$ Hz, 1H), 4,18 (m, 2H), 3,99 (m, 1H), 2,50 (m, 2H); MS (DCI/ NH_3) m/e 317, 200, 183, 169, 152; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -12,18^\circ$ ($c=0,12$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3\text{F} \cdot 0,1 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 64,18 % C, 5,45 % H, 8,81 % N; nalezeno: 64,24 % C, 5,39 % H, 8,73 % N.

Příklad 67

1-(L-Fenylalanyl) prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (103 mg, 1,0 ekvivalentu) byl přidán k roztoku 1-(N-BOC-L-fenylalanyl) prekursoru 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (z příkladu 57, 310 mg, 0,70 mmol) v methylenchloridu (20 ml). Reakce byla 1 hodinu míchána při teplotě místnosti, pak přerušena 5 %-ním roztokem NaHCO_3 , extrahována do methylenchloridu (100 ml) a vysušena nad MgSO_4 . Rozpouštědlo bylo ve vakuu odstraněno a zbytek byl čistěn chromatografií na silikagelu za vymývání 10 % $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$. Produkt byl získán jako bezbarvý olej ve výtěžku 53 %: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,84 (m, 1H), 7,26 (m, 6H), 6,84 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 4,53 (m, 1H), 4,46 (dd, $J = 5, 10$ Hz, 1H), 4,16 (dd, $J = 3, 10$ Hz, 1H), 3,93 (q, $J = 3, 10$ Hz, 1H), 3,42 (m, 1H), 3,14 (m, 1H), 2,91 (dd, $J = 8, 13$ Hz, 1H), 2,82 (dd, $J = 7, 13$ Hz, 1H), 2,23 (m, 1H), 2,09 (m, 1H); MS (DCI/ NH_3) m/e 330, 120; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -52,71^\circ$ ($c=0,30$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_2\text{F} \cdot 0,5 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 63,86 % C, 6,26 % H, 12,42 % N; nalezeno: 63,77 % C, 6,08 % H, 12,40 % N.

Příklad 68

1-(L-Alanyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Tato sloučenina byla získána odstraněním chránicí skupiny z 1-(N-BOC-L-alanyl) prekursoru 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (z příkladu 54) podle postupu popsaného v příkladu 67. Produkt byl získán jako bezbarvý olej ve výtěžku 26%: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,87 (m, 1H), 7,37 (m, 1H), 6,96 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 4,69 (m, 1H), 4,55 (m, 1H), 4,20 (m, 2H), 4,06 (m, 1H), 3,38 (q, $J = 7$ Hz, 1H), 2,47 (m, 2H), 1,23 (d, $J = 7$ Hz, 3H); MS (DCI/ NH_3) m/e 254; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} -31,62^\circ$ ($c=0,05$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_2\text{F} \cdot 1,15 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 52,60 % C, 6,73 % H, 15,32 % N; nalezeno: 52,58 % C, 6,56 % H, 15,27 % N.

Příklad 69

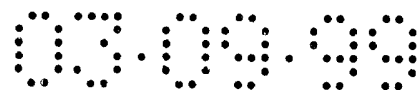
1-(D-Fenylalanyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Tato sloučenina byla získána odstraněním chránicí skupiny z 1-(N-BOC-D-fenylalanyl) prekursoru 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (z příkladu 62) podle postupu popsaného v příkladu 67. Produkt byl získán jako bezbarvý olej ve výtěžku 53%: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,84 (m, 1H), 7,35 (m, 1H), 7,22 (m, 5H), 6,87 (m, 1H), 4,67 (m, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,10 (m, 2H), 3,6-4,0 (m, 2H), 2,88 (m, 2H), 2,40 (m, 1H), 2,24 (m, 1H); MS (DCI/ NH_3) m/e 330; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +20,75^\circ$ ($c=0,27$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_3\text{O}_2\text{F} \cdot 0,5 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 63,89 % C, 6,26 % H, 12,42 % N; nalezeno: 63,92 % C, 6,06 % H, 12,48 % N.

Příklad 70

1-(D-Alanyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Tato sloučenina byla získána odstraněním chránicí skupiny z 1-(N-BOC-D-alanyl) prekursoru 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (z příkladu 63) podle



postupu popsaného v příkladu 67. Produkt byl získán jako bezbarvý olej, který byl podroben reakci s jedním ekvivalentem p-toluensulfonové kyseliny v ethanolu za vzniku tosylátu jako bezbarvé polotuhé látky (17 %): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,90 (m, 1H), 7,70 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,59 (m, 1H), 7,23 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,00 (dd, J = 3, 9 Hz, 1H), 4,76 (m, 1H), 4,55 (m, 1H), 4,39 (m, 1H), 4,21 (m, 2H), 4,02 (m, 1H), 2,52 (m, 2H), 2,37 (s, 3H), 1,34 (d, J = 7 Hz, 3H); MS (DCI/ NH_3) m/e 254, 183, 141; $[\alpha]_D^{20}$ +11,10° (c =0,05, EtOH). Analýza pro $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_2\text{F} \cdot \text{C}_7\text{H}_8\text{O}_3\text{S}$ vypočteno: 52,42% C, 5,75 % H, 7,64 % N; nalezeno: 53,31 % C, 5,77 % H, 7,34 % N.

Příklad 71

1-(N-Sukcinimidylmethyl) prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

5-[(2*R*)-Azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylát (z příkladu 8, 150 mg, 0,42 mmol) byl smísen se sukcinimidem (47 mg, 1,1 ekvivalentu) a K_2CO_3 (88 mg, 1,5 ekvivalentu). Byl přidán ethanol (20 ml) a potom vodný formalin (36 %, 110 mg, 3,2 ekvivalentu). Směs byla při 40°-45°C míchána 2-3 hodiny, potom ochlazená na 25°C a zkoncentrována na bílou tuhou látku. Ta byla čistěna chromatografií na silikagelu 1 % MeOH/AcOEt a vznikla titulní sloučenina jako bezbarvý olej (70 mg, 59 %): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,86 (m, 1H), 7,41 (ddd, J = 3, 6, 9 Hz, 2H), 6,85 (dd, J = 3, 9 Hz, 1H), 4,34 (AB kvartet, J = 13 Hz, 2H), 4,02 (m, 2H), 3,76 (m, 1H), 3,43 (dt, J = 3, 8 Hz, 1H), 3,24 (m, 1H), 2,76 (m, 4H), 2,11 (m, 1H), 2,02 (m, 1H); MS (DCI/ NH_3) m/e 294 ($M+1$), 183. Analýza pro $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{O}_2\text{F} \cdot 0,5 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 55,62 % C, 5,67 % H, 13,90 % N; nalezeno: 55,76 % C, 5,61 % H, 13,92 % N.

Příklad 72

1-(N-Ftalimidylmethyl) prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

5-[(2*R*)-Azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylát (z příkladu 8,) byl smísen s ftalimidem a postupem posaným v příkladu 71 poskytl titulní sloučeninu: b. t. 97-100°C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,88 (m, 2H), 7,76 (m, 3H), 7,33 (ddd, J = 3, 6, 9 Hz, 1H), 6,82 (dd, J = 3, 9 Hz, 1H), 4,54 (s, 2H), 4,05 (m, 2H), 3,82 (m, 1H), 3,45 (m, 1H), 3,28 (q, J = 8

Hz, 1H), 2,13 (m, 1H), 2,00 (m, 1H); MS (DCI/NH₃) *m/e* 342 (M+1), 183. Analýza pro C₁₈H₁₆N₃O₃F · 0,50 H₂O vypočteno: 61,70 % C, 4,89 % H, 11,99 % N; nalezeno: 61,68 % C, 4,93 % H, 11,87 % N.

Příklad 73

1-[N-(2-Hydroxybenzoyl)aminomethyl] prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

5-[(2R)-Azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylát (z příkladu 8,) byl smísen se salicylamidem a postupem posaným v příkladu 71 poskytl titulní sloučeninu: b. t. 97-100°C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,80 (dd, J = 2, 3, Hz, 1H), 7,40 (t, J = 8, Hz, 1H), 7,28 (m, 2H), 6,99 (d, J = 8 Hz, 1H), 6,78 (m, 3H), 4,39 (dd, J = 6, 12 Hz, 1H), 4,24 (dd, J = 5, 12 Hz, 1H), 4,05 (m, 2H), 3,80 (m, 1H), 3,45 (q, J = 6 Hz, 1H), 3,27 (q, J = 8 Hz, 1H), 2,12 (m, 2H); MS (DCI/NH₃) *m/e* 332 (M+1), 183, 155, 138. Analýza pro C₁₇H₁₈N₃O₃F · 0,50 H₂O vypočteno: 59,99 % C, 5,62 % H, 12,34 % N; nalezeno: 59,78 % C, 5,67 % H, 12,06 % N.

Příklad 74

1-(2,5-Dihydro-2-oxo-furan-4-yl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

5-[(2R)-Azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylát (z příkladu 8, 200 mg, 0,56 mmol), tetronová kyselina (84 mg, 1,5 ekvivalentu), uhličitan draselný (77 mg, 1 ekvivalent) a absolutní ethanol (2 ml) byly v zatavené trubici zahřívány 2-3 hodiny na 45-50°C. Směs byla sfiltrována a filtrát zkoncentrován ve vakuu. Produkt byl čistěn chromatografií na silikagelu vymýváním 2 % MeOH/CH₂Cl₂ a tak byla získána titulní sloučenina (86 mg, 56 %): b.t. 93°C (AcOEt/Et₂O); ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,85 (dd, J = 2, 3, Hz, 1H), 7,36 (ddd, J = 3, 6, 9 Hz, 1H), 6,90 (dd, J = 3, 9 Hz, 1H), 4,67 (m, 3H), 4,18 (m, 2H), 4,08 (dt, J = 5, 9 Hz, 1H), 3,95 (m, 1H), 2,68 (m, 1H), 2,39 (m, 1H); MS (APCI) *m/e* 265 (M+1). Analýza pro C₁₃H₁₃N₂O₃F vypočteno: 59,08 % C, 4,95 % H, 10,60 % N; nalezeno: 58,90 % C, 4,88 % H, 10,52 % N.

Příklad 75

1-(5,5-Dimethyl-3-oxocyklohexenyl) prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena z 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylátu (z příkladu 8) reakcí s 5,5-dimethyl-1,3-cyklohexandionem postupem podle příkladu 74 s výtěžkem 65 %. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,85 (dd, $J = 2, 3$ Hz, 1H), 7,35 (ddd, $J = 3, 6, 9$ Hz, 1H), 6,87 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 5,02 (m, 1H), 4,62 (m, 1H), 4,29 (m, 1H), 4,15 (m, 1H), 4,05 (m, 1H), 3,91 (m, 1H), 2,59 (m, 1H), 2,37 (m, 1H), 2,14 (br s, 2H), 2,09 (m, 2H), 1,05 (s, 3H), 1,03 (s, 3H); MS (DCI/ NH_3) m/e 305 ($M+1$). Analýza pro $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_2\text{F} \cdot 0,75 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 64,23 % C, 7,13 % H, 8,81 % N; nalezeno: 63,89 % C, 7,03 % H, 8,73 % N.

Příklad 76

1-(3-Oxocyklohexenyl) prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena v 77 %-ním výtěžku z 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylátu (z příkladu 8) reakcí s 1,3-cyklohexandionem postupem podle příkladu 74. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,84 (dd, $J = 2, 3$ Hz, 1H), 7,35 (ddd, $J = 3, 6, 9$ Hz, 1H), 6,87 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 5,01 (m, 1H), 4,61 (m, 1H), 4,26 (m, 1H), 4,13 (m, 1H), 4,04 (m, 1H), 3,92 (m, 1H), 2,58 (m, 1H), 2,37 (m, 1H), 2,27 (m, 4H), 2,09 (m, 2H), 1,94 (m, 2H); MS (DCI/ NH_3) m/e 277 ($M+1$). Analýza pro $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_2\text{F} \cdot 0,75 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 62,16 % C, 6,43 % H, 9,66 % N; nalezeno: 62,15 % C, 6,30 % H, 9,67 % N.

Příklad 77

1-[2,2-Bis(ethoxykarbonyl)ethenyl] prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena v 81 %-ním výtěžku z 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylátu (z příkladu 8) reakcí s diethyl ethoxymethylenmalonátem postupem podle příkladu 74 a zahříváním 20 hodin. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,85 (m, 1H), 7,67 (br s, 1H), 7,36 (ddd, $J = 3, 6, 9$ Hz, 1H), 6,87 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 4,79 (m, 1H), 4,29 (m, 1H), 4,17 (m, 6H), 4,02 (m, 1H), 2,58 (m, 1H), 2,26 (m, 1H), 1,30 (t, $J = 7$ Hz, 3H), 1,26 (t, $J = 7$ Hz, 3H); MS (DCI/ NH_3) m/e 353 ($M+1$). Analýza pro $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_5\text{F}$ vypočteno: 57,94 % C, 6,00 % H, 7,95 % N; nalezeno: 57,63 % C, 6,05 % H, 7,77 % N.

Příklad 78

1-(Ethoxykarbonyl) prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

K roztoku tosylátu 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (z příkladu 8, 0,2 g, 0,56 mmol) v CH_2Cl_2 (10 ml) a 10 ml roztoku NaHCO_3 byl přidán chlormravenčan ethylnatý (0,064 g, 0,59 mmol). Reakční směs byla míchána při teplotě místnosti 2 hodiny. Organická vrstva byla oddělena, vysušena (MgSO_4) a odpařena. Zbytek byl chromatografován na silikagelu vymýváním 1:1 směsí AcOEt/hexan a tak bylo získáno 0,09 g (63 %) titulní sloučeniny (86 mg, 56 %): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,87 (m, 1H), 7,28 (ddd, $J = 3, 6, 9$ Hz, 1H), 6,86 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 4,59 (m, 1H), 4,26 (m, 1H), 4,14 (m, 1H), 4,10 (q, $J = 7$ Hz, 2H), 3,96 (t, $J = 8$ Hz, 2H), 2,38 (m, 1H), 1,22 (t, $J = 7$ Hz, 3H); MS (DCI/ NH_3) m/e 255 ($M+1$). Analýza pro $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3\text{F}$ vypočteno: 56,69 % C, 5,95 % H, 11,02 % N; nalezeno: 56,40 % C, 5,78 % H, 10,92 % N.

Příklad 79

1-(Fenoxycarbonyl) prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena v 83 %-ním výtěžku z 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylátu (z příkladu 8) postupem podle příkladu 78 s tím rozdílem, že v něm uvedený chlormravenčan ethylnatý byl nahrazen fenylchlorformiátem. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,90 (dd, $J = 2, 3$ Hz, 1H), 7,35 (m,

3H), 7,18 (m, 1H), 7,06 (br d, $J = 8$ Hz, 2H), 6,86 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 4,73 (m, 1H), 4,46 (dd, $J = 4, 10$ Hz, 1H), 4,12 (m, 3H), 2,48 (m, 2H); MS (DCI/ NH_3) m/e 303 ($M+1$).
 Analýza pro $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_3\text{F}$ vypočteno: 63,57 % C, 5,00 % H, 9,27 % N; nalezeno: 63,82 % C, 4,86 % H, 8,99 % N.

Příklad 80

1-(4-Nitrofenoxykarbonyl) prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena v 82 %-ním výtěžku z 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylátu (z příkladu 8) postupem podle příkladu 78 s tím rozdílem, že v něm uvedený chlormravenčan ethylnatý byl nahrazen 4-nitrofenylchlorformiátem: b. t. 68-70°C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,22 (m, 2H), 7,91 (m, 1H), 7,39 (ddd, $J = 3, 6, 9$ Hz, 1H), 7,27 (m, 2H), 6,88 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 4,76 (m, 1H), 4,47 (m, 1H), 4,19 (m, 3H), 2,52 (m, 2H); MS (DCI/ NH_3) m/e 348 ($M+1$). $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 11,18° ($c=0,004$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{N}_3\text{O}_3\text{F}$ vypočteno: 55,33 % C, 4,06 % H, 12,10 % N; nalezeno: 54,95 % C, 4,00 % H, 11,96 % N.

Příklad 81

1-(4-Methoxyfenoxykarbonyl) prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena v 65 %-ním výtěžku z 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylátu (z příkladu 8) postupem podle příkladu 78 s tím rozdílem, že v něm uvedený chlormravenčan ethylnatý byl nahrazen 4-methoxyfenylchlorformiátem: b.t. 60-61°C; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,90 (m, 1H), 7,40 (ddd, $J = 3, 6, 9$ Hz, 1H), 6,97 (br d, $J = 9$ Hz, 2H), 6,86 (m, 3H), 4,72 (m, 1H), 4,46 (dd, $J = 4, 10$ Hz, 1H), 4,15 (m, 3H), 3,77 (s, 3H), 2,48 (m, 2H); MS (DCI/ NH_3) m/e 333 ($M+1$). $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ 9,11° ($c=0,0047$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4\text{F}$ vypočteno: 61,44 % C, 5,16 % H, 8,43 % N; nalezeno: 61,39 % C, 5,11 % H, 8,22 % N.

Příklad 82

1-[4-(Methoxykarbonyl)fenoxykarbonyl] prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena v 84 %-ním výtěžku z 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylátu (z příkladu 8) postupem podle příkladu 78 s tím rozdílem, že v něm uvedený chlormravenčan ethylnatý byl nahrazen 4-(methoxykarbonyl)fenyl-chlorformiátem: b.t. 90-92°C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,13 (m, 2H), 7,9 (m, 1H), 7,4 (m, 1H), 7,15 (d, 2H), 6,88 (dd, 1H), 4,73 (m, 1H), 4,48 (m, 1H), 4,18 (m, 3H), 3,9 (s, 3H), 2,5 (m, 2H); MS (Cl/NH₃) *m/e* 361 (M+1), 378 (M+NH₄).

Příklad 83

1-(4-Methylfenoxykarbonyl) prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena v 96 %-ním výtěžku z 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylátu (z příkladu 8) postupem podle příkladu 78 s tím rozdílem, že v něm uvedený chlormravenčan ethylnatý byl nahrazen 4-methylfenyl-chlorformiátem: b.t. 68-70°C; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,9 (m, 1H), 7,4 (m, 1H), 7,12 (d, 2H), 6,93 (d, 1H), 6,86 (dd, 1H), 4,71 (m, 1H), 4,45 (m, 1H), 4,13 (m, 3H), 2,47 (m, 2H), 2,3 (s, 3H); MS (Cl/NH₃) *m/e* 317 (M+1), 334 (M+NH₄).

Příklad 84

1-(4-Fluorfenoxykarbonyl) prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena v 72 %-ním výtěžku z 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylátu (z příkladu 8) postupem podle příkladu 78 s tím rozdílem, že v něm uvedený chlormravenčan ethylnatý byl nahrazen 4-fluorfenyl-chlorformiátem: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,9 (m, 1H), 7,4 (m, 1H), 7,2 (d, 4H),

10.2 q

22.09.99

6,88 (dd , 1H), 4,73 (m, 1H), 4,48 (m, 1H), 4,18 (m, 3H), 2,5 (m, 2H); MS (Cl/NH₃)
m/e 321 (M+1), 338 (M+NH₄).

Příklad 85

1-(4-Chlorfenoxykarbonyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena v 85 %-ním výtěžku z 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylátu (z příkladu 8) postupem podle příkladu 78 s tím rozdílem, že v něm uvedený chlormravenčan ethylnatý byl nahrazen 4-chlorfenyl-chlorformiátem: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,9 (m, 1H), 7,4 (m, 1H), 7,3 (m, 2H), 7,02 (m, 2H), 6,87 (dd, 1H), 4,73 (m, 1H), 4,47 (m, 1H), 4,17 (m, 3H), 2,5 (m, 2H); MS (Cl/NH_3) m/e 337 ($\text{M}+1$), 354 ($\text{M}+\text{NH}_4$).

Příklad 86

1-(2,6-Dimethylfenoxykarbonyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena v 43 %-ním výtěžku z 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylátu (z příkladu 8) postupem podle příkladu 78 s tím rozdílem, že v něm uvedený chlormravenčan ethylnatý byl nahrazen 2,6-dimethylfenyl-chlorformiátem: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,9 (m, 1H), 7,4 (m, 1H), 7,03 (m, 3H), 6,88 (dd, 1H), 4,73 (m, 1H), 4,5 (m, 1H), 4,18 (m, 3H), 2,5 (m, 2H), 2,15 (bs, 6H); MS (Cl/NH_3) m/e 331 ($\text{M}+1$), 348 ($\text{M}+\text{NH}_4$).

Příklad 87

1-(2-Methylfenoxykarbonyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena jako bezbarvý olej v kvantitativním výtěžku z 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylátu (z příkladu 8) postupem podle příkladu 78 s tím rozdílem, že v něm uvedený chlormravenčan ethylnatý byl nahrazen 2-methylfenyl-chlorformiátem: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,13 (m, 2H), 7,9 (m, 1H),

7,4 (m, 1H), 7,15 (m, 2H), 6,88 (dd, 1H), 4,73 (m, 1H), 4,5 (m, 1H), 4,18 (m, 3H), 2,5 (m, 2H), 2,15 (s, 3H); MS (Cl/NH₃) *m/e* 317 (M+1), 334 (M+NH₄).

Příklad 88

1-[(1-Acetoxy-1-methyl)ethoxykarbonyl] prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

88a. Isopropenyl p-nitrofenyl karbonát

Isopropenyl chlorformiát (5,0 g, 45,6 mmol) byl přidán k ledem chlazené suspensi p-nitrofenolu (6,3 g, 45,6 mmol) v chloroformu (100 ml). Během 20 minut byl k míchané reakční směsi po kapkách přidáván pyridin (3,32 g, 41,5 mmol). Po 15-ti minutovém míchání v ledové lázni se reakční směs nechala ohřát a 16 hodin byla míchána při teplotě místnosti. Reakční směs byla promyta vodou, 1N HCl, ledovým 1 %-ním vodným roztokem hydroxidu sodného, vodou a solankou. Organická vrstva byla vysušena (MgSO₄) a rozpouštědlo bylo odpařeno. Tuhý zbytek byl potom krystalován z hexanu a poskytl titulní sloučeninu (7,8 g, výtěžek 84 %): ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2,05 (s, 3H), 4,82 (t, *J* = 1,0 Hz, 1H), 4,96 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 7,40-7,46 (m, 2H), 8,27-8,32 (m, 2H).

88b. 2-Chlor-2-propyl p-nitrofenyl karbonát

Isopropenyl karbonát z kroku 88a (7,5 g, 33,6 mmol) byl rozpuštěn ve směsi ethyletheru (100 ml) a chloroformu (100 ml). Směs byla ochlazená na 0°C a pak probublána plynným HCl. Po 16-ti hodinovém stání při teplotě místnosti byla směs profoukána dusíkem, aby se odstranil přebytek HCl a po odpaření rozpouštědla byla získána titulní sloučenina (8,0 g, 92 %): ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 2,11 (s, 6H), 7,39-7,44 (m, 2H), 8,27-8,32 (m, 2H).

88c. 2-Acetoxy-2-propyl p-nitrofenyl karbonát

Směs 2-Chlor-2-propyl p-nitrofenyl karbonátu (8,0 g, 30,8 mmol) a octanu rtuťnatého (11,0 g, 34,6 mmol) v dichlormethanu (400 ml) byla míchána 72 hodin při

teplotě místnosti. Reakční směs byla promyta solankou s několika kapkami roztoku bikarbonátu sodného a potom vodným roztokem bikarbonátu sodného. Organická vrstva byla vysušena (MgSO_4), rozpouštědlo bylo odpařeno a byl získán olej (5,4 g, 62 %). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1,93 (s, 6H), 2,10 (s, 3H), 7,37-7,42 (m, 2H), 8,26-8,31 (m, 2H).

88d. 1-[(1-Acetoxy-1-methyl)ethoxykarbonyl] prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Roztok 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (z příkladu 8, 0,30 g, 1,65 mmol) a 2-acetoxy-2-propyl p-nitrofenyl karbonátu z kroku 88c (0,49 g, 1,73 mmol) v dimethylformamidu (6 ml) byl 24 hodin míchán při teplotě místnosti. Reakční směs byla zředěna vodou (25 ml) a extrahována ethylacetátem. Organická vrstva byla promyta vodou, ledově chladným vodným 1 % hydroxidem sodným, 1 N HCl, vodou a solankou. Potom byla vysušena (MgSO_4) a zkoncentrována. Zbytek byl chromatografován a poskytl světle žlutý olej (0,175 g, 33 %): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,88 (s, 1H), 7,40 (m, 1H), 6,86 (dd, $J = 3,7, 8,8$ Hz, 1H), 4,57 (m, 1H), 4,34 (m, 1H), 4,14 (m, 3H), 3,95 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H), 2,34-2,44 (m, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,98 (s, 3H), 1,79 (s, 3H); MS (DC/ NH_3) m/e 327 ($M+1$); $[\alpha]_D^{20} +74,5^\circ$ ($c=0,2$, MeOH). Analýza pro $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_5\text{F}$ vypočteno: 54,81 % C, 5,60 % H, 8,26% N; nalezeno: 55,21 % C, 5,87 % H, 8,58 % N.

Příklad 89

1-[(5-Methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-en-4-yl)methoxykarbonyl] prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Vzorek 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (z příkladu 8, 0,13 g, 0,7 mmol) a (5-methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-en-4-yl)methyl p-nitrofenyl karbonát (připravený podle J. Alexandra a spol., *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 480-486) (0,21 g, 0,73 mmol) v DMF (2 ml) byly 16 hodin míchány při teplotě místnosti. Reakční směs byla zředěna vodou a extrahována AcOEt. Organická vrstva byla promyta vodou, 1 N HCl, 2 %-ním roztokem uhličitanu sodného a solankou. Byla vysušena nad MgSO_4 a odpařena. Zbytek byl chromatografován na silikagelu eluováním směsí 30 % AcOEt/hexan a

poskytl výtěžek 0,17 g (72 %) produktu: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,86(s, 1H), 7,36 (ddd, $J = 3, 6, 9$ Hz, 1H), 6,87 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 4,80 (m, 2H), 4,61 (m, 1H), 4,36 (m, 1H), 4,11 (dd, $J = 3, 10$ Hz, 1H), 3,99 (m, 2H), 2,42 (m, 2H), 2,15 (s, 3H); MS (DCI/ NH_3) m/e 339, 183; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +6,43^\circ$ ($c=0,0042$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_2\text{O}_6\text{F}$ vypočteno: 53,26 % C, 4,47 % H, 8,28 % N; nalezeno: 53,52 % C, 4,58 % H, 8,15 % N.

Příklad 90

1-[(5-Fenyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-en-4-yl)methoxykarbonyl] prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena ve výtěžku 61 % z 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (z příkladu 8) postupem podle příkladu 89 s tím rozdílem, že (5-methyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-en-4-yl)methyl p-nitrofenyl karbonát tam uvedený, byl zaměněn za (5-fenyl-2-oxo-1,3-dioxol-4-en-4-yl)methyl p-nitrofenyl karbonát (připravený podle J. Alexandra a spol., *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 480-486): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,85 (s, 1H), 7,59 (m, 2H), 7,44 (m, 3H), 7,35 (m, 1H), 6,84 (dd $J = 3, 9$ Hz, 1H), 5,09 (m, 2H), 4,63 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 4,11 (dd, $J = 3, 10$ Hz, 1H), 4,03 (m, 2H), 2,44 (m, 2H); MS (DCI/ NH_3) m/e 401, 194; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} +3,07^\circ$ ($c=0,0035$, CH_2Cl_2). Analýza pro $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_6\text{F}$ vypočteno: 60,00 % C, 4,28 % H, 7,00 % N; nalezeno: 59,81 % C, 4,30 % H, 6,98 % N.

Příklad 91

1-[(Pyrrolidin-1-yl)karbonyl] prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Roztok 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (z příkladu 8, 0,09 g, 0,49 mmol) a pyrrolidinkarbonylchloridu (0,073 g, 0,54 mmol) v toluenu (10 ml) byl 5 hodin zahříván k varu. Reakční směs byla odpařena a roztřepána do směsi $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$. Organická vrstva byla vysušena (MgSO_4) a zkoncentrována. Zbytek byl chromatografován na silikagelu eluováním AcOEt a výtěžek byl 0,07 g (51 %): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,86 (m, 1H), 7,38 (m, 1H), 6,85 (m, 1H), 4,5-4,8 (m, 2H), 3,8-4,2

(m, 2H), 3,33 (m, 4H), 2,36 (m, 2H), 1,84 (m, 4H); MS (DC/NH₃) *m/e* 280, 169; $[\alpha]_D^{20} +6,57^\circ$ ($c=0,0026$, CH₂Cl₂). Analýza pro C₁₄H₁₈N₃O₂F . 0,75 H₂O vypočteno: 57,42 % C, 6,71 % H, 14,35 % N; nalezeno: 57,51 % C, 6,43 % H, 14,36 % N.

Příklad 92

1-(N,N-Diethylaminokarbonyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Titulní sloučenina byla připravena ve výtěžku 46 % z 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (z příkladu 8) postupem podle příkladu 91 s tím rozdílem, že pyrrolidinkarbonylchlorid tam uvedený, byl zaměněn za diethylkarbamoylchlorid: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,87 (s, 1H), 7,39 (ddd, *J* = 3, 6, 9 Hz, 1H), 6,82 (dd *J* = 3, 9 Hz, 1H), m, 1H), 4,72 (m, 1H), 4,20 (dd, *J* = 5, 10 Hz, 1H), 4,10 (dd, *J* = 3, 10 Hz, 1H), 3,96 (m, 1H), 3,84 (m, 1H), 3,18 (m, 4H), 2,33 (m, 2H), 1,09 (t, *J* = 7 Hz, 6H); MS (DCI/NH₃) *m/e* 282; $[\alpha]_D^{20} +2,66^\circ$ ($c=0,005$, CH₂Cl₂). Analýza pro C₁₄H₂₀N₃O₂F vypočteno: 59,77 % C, 7,17 % H, 14,94 % N; nalezeno: 59,65 % C, 7,04 % H, 14,90 % N.

Příklad 93

1-(Acetyl) prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

5-[(2R)-Azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin (z příkladu 8, 162 mg, 0,89 mmol), acetanhydrid (0,12 ml, 1,26 mmol), TEA (0,2 ml, 1,47 mmol) a CH₂Cl₂ (30 ml) byly pod dusíkem spolu smíseny a 16 hodin míchány. Roztok byl extrahován nasyceným vodným roztokem Na₂CO₃ (30 ml), solankou (2 x 30 ml) a vysušen (MgSO₄). Rozpouštědlo bylo ve vakuu odpařeno a surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan/AcOEt 9:1 až 7:3). To poskytlo 160 mg (80 %) titulní sloučeniny: (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 1,74 (s, 3H), 2,16 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 3,86 (br s 2H), 4,25 (dd, *J* = 3,5, 10,5 Hz, 1H), 4,36 (d, *J* = 4,5, 10,5 Hz, 1H), 4,58 (br s, 1H), 7,01 (dd, *J* = 3,5, 8,5 Hz, 1H), 7,57 (m, 1H), 7,90 (m, 1H); MS (CI/NH₃) *m/e* 225 (M+H)⁺, 242

$(M+H_4)^+$; $[\alpha]_D^{20} +91,7^\circ$ ($c=1$, MeOH). Analýza pro $C_{11}H_{13}N_2O_2 \cdot 0,2 C_4H_8O_2$ vypočteno: 58,6 % C, 6,08 % H, 11,58 % N; nalezeno: 58,27 % C, 6,04 % H, 11,63 % N.

Příklad 94

1-(terc. Butyloxykarbonyl) prekursor 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

Roztok 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (z příkladu 8, 0,12 g, 0,7 mmol), di-terc.butyl-dikarbonátu (0,23 g, 1 mmol) a DMAP v CH_2Cl_2 (10 ml) byl míchán 16 hodin při teplotě místnosti. Směs byla odpařena a zbytek byl chromatografován na silikagelu eluováním 1:1 směsí AcOEt/hexan a výtěžek byl 0,14 g (71 %): ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 7,87 (m, 1H), 7,38 (ddd, $J = 3, 6, 9$ Hz, 1H), 6,85 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,12 (dd, $J = 3, 10$ Hz, 1H), 3,89 (t, $J = 8$ Hz, 2H), 2,33 (m, 2H), 1,42 (s, 9H); MS (DCI/ NH_3) m/e 283, 227. Analýza pro $C_{14}H_{19}N_2O_3F$ vypočteno: 59,56 % C, 6,65 % H, 9,88 % N; nalezeno: 59,34 % C, 6,65 % H, 9,88 % N.

Příklad 95

Disulfidový dimerní prekursor 1-(3-thiopropionyl) 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

K roztoku 3,3'-dithiopropionové kyseliny (100 mg, 0,48 mmol) a triethylaminu (53 mg, 0,53 mmol) v THF (1,0 ml) byl při $-78^\circ C$ za míchání po kapkách přidán isobutyl chlorformiát (68 mg, 0,51 mmol). Po jednohodinovém míchání při $-78^\circ C$ byl do reakční směsi přidán 5-[(2*R*)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin (z příkladu 8, 175 mg, 0,96 mmol). Vzniklý roztok se nechal ohřát na $25^\circ C$ a byl 3 hodiny míchán. Když byl všechn výchozí materiál spotřebován, bylo ve vakuu odstraněno organické rozpouštědlo. Zbytek byl čistěn sloupcovou chromatografií na silikagelu eluováním 1:1 směsí octan ethylnatý/hexan a poskytl titulní sloučeninu (102 mg, 21 %). ^1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 2,32-2,65 (m, 8H), 2,79-2,97 (m, 4H), 3,89-4,27 (m, 6H), 4,50 (dd, $J = 4,4$ Hz, 9,8H, 2H), 4,61-4,83 (m, ^1H), 6,85 (dd, $J = 3,8$ Hz, 8,2H, 1H), 7,37 (m, 2H), 7,87 (m, 2H); MS (DCI/ NH_3) m/e 539 ($M+1$); $[\alpha]_D^{20} +101^\circ$ ($c=0,10$, MeOH). Analýza pro

$C_{24}H_{28}N_4O_2F_2S_2 \cdot 0,5 CHCl_3$ vypočteno: 51,96 % C, 5,07 % H, 9,89 % N; nalezeno: 52,13 % C, 5,40 % H, 10,25 % N.

Příklad 96

1-[S-(fenylmethyl)cysteinoyl] prekursor 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu

K roztoku S-benzyl-N-Cbz-(L)-cysteinu a triethylaminu v THF (1,0 ml) byl při -78°C za míchání po kapkách přidán isobutyl chlorformiát. Po jednohodinovém míchání při -78°C byl do reakční směsi přidán 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin (z příkladu 8, 175 mg, 0,96 mmol). Vzniklý roztok se nechal ohřát na 25°C a byl 3 hodiny míchán. Když byl všechnen výchozí materiál spotřebován, bylo ve vakuu odstraněno organické rozpouštědlo. Zbytek byl zbaven N-chránící skupiny, vyčistěn sloupcovou chromatografií na silikagelu eluováním 1:1 směsí octan ethylnatý/hexan a poskytl titulní sloučeninu. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,16-7,40 (m, 6H), 7,86 (m, 1H), 6,84 (m, 1H), 4,66 (m, ^1H), 4,51 (m, 1H), 4,04-4,22 (m, 2H), 3,96 (m, 1H), 3,75 (s, 2H), 3,38 (m, 1H), 2,74 (m, 1H), 2,58 (m, 1H), 2,34-2,48 (m, 2H), 1,63-2,04 (m, 2H); MS (DCI/ NH_3) m/e 376 ($M+1$) $^+$; $[\alpha]_D^{20} +110^\circ$ ($c=0,05$, MeOH). Analýza pro $C_{19}H_{22}N_3O_2FS \cdot 0,1 H_2O$ vypočteno: 60,49 % C, 5,93 % H, 11,14 % N; nalezeno: 60,11 % C, 6,01 % H, 10,80 % N.

Příklad 97

2-Chlor-3-[2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

97a. 2-Chlor-3-[1-Boc-2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin

Byly využity postupy z příkladů 10c a 10d tak, že v kroku 10c byl Boc-(S)-hydroxymethylazetidin nahrazen Boc-(R)-hydroxymethylazetidinem a v kroku 10d byl 3-fluor-5-hydroxypyridin nahrazen 3-chlor-5-hydroxypyridinem. Titulní sloučenina byla získána jako olej (535 mg, 93 %): ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 1,40 (s, 9H), 2,40 (m, 2H), 3,90-4,00 (m, 2H), 4,16 (m, 1H), 4,55 (m, 2H), 7,20 (m, 1H), 7,35 (m, 1H), 8,00 (m, 1H); MS (CI/ NH_3) m/e 299 ($M+1$) $^+$.

97b. 2-Chlor-3-[2-(*R*)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Produkt z příkladu 97a (530 mg, 1,78 mmol) byl zpracován postupem jako v příkladu 10b. Zbytek byl chromatografován (silikagel; CHCl₃/MeOH, 95:5 až 90:10) a poskytl volnou basi titulní sloučeniny jako bílou tuhou látku, která byla konvertována na sůl působením kyseliny p-toluensulfonové v ethanolu za vzniku titulní sloučeniny (398 mg): b.t. 102-104°C; $[\alpha]_D^{25} +5,78^\circ$ (c=0,74, MeOH); ¹H NMR (DMSO, 300 MHz) δ 2,28 (s, 3H), 2,52 (m, 2H), 2,62 (m, 1H), 3,98 (m, 2H), 4,42 (d, J = 3 Hz, 2H), 4,78 (br, 1H), 7,18 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,45 (d, J = 6 Hz, 1H), 7,52 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,64 (dd, J = 3, 9 Hz, 1H), 8,05 (dd, J = 3, 6 Hz, 1H), 8,90 (br, 1H); MS (APCI) m/z 199 (M+H)⁺, 231 (M+H+MeOH)⁺. Analýza pro C₉H₁₁ClN₂O·1,2 TsOH·0,5 H₂O vypočteno: 50,45 % C, 5,25 % H, 6,76 % N; nalezeno: 50,30 % C, 5,15 % H, 6,56 % N.

Příklad 98**6-Fluor-3-[1-methyl-2-(*R*)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát****98a. 1-Cbz-2-(*R*)-azetidinylmethyl p-toluensulfonát**

K roztoku 1-Cbz-2-(*R*)-azetidinylmethanolu (30,76 g, 218,8 mmol) v methylenchloridu (75 ml) byl při 0°C přidán triethylamin (25,2 ml, 179 mmol) a p-toluensulfonylchlorid (34,46 g, 181 mmol). Směs byla 16 hodin míchána a sfiltrována. Filtrát byl potom promyt 2 N roztokem hydroxidu sodného (50 ml). 2 N HCl (50 ml), solankou a vysušen (MgSO₄). Rozpouštědlo bylo ve vakuu odpařeno a surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan/AcOEt 9:1 až 6:4). Bylo získáno 44,1 g (78,8 %) titulní sloučeniny: $[\alpha]_D^{25} +53,06^\circ$ (c=1,0, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 2,21-2,43 (m, 3H), 2,45 (s, 3H), 3,84-3,92 (m, 2H), 4,13 (m, 1H), 4,36 (m, 1H), 4,58 (m, 1H), 5,0 (br s, 2H), 7,26-7,27 (m, 7H); MS (Cl/NH₃) m/e 376 (M+H)⁺, 393 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₁₉H₂₁NO₅S vypočteno: 60,78 % C, 5,64 % H, 3,73 % N; nalezeno: 60,40 % C, 5,82 % H, 3,75 % N. $[\alpha]_D^{25} +53,06^\circ$ (c=1,0, CHCl₃).

98b. 6-Fluor-3-[1-Cbz-2-(*R*)-azetidinylmethoxy]pyridin

Byl použit postup z příkladu 10d tak, že terc.butoxykarbonyl-(*S*)-toluensulfonyloxymethylazetidin byl nahrazen produktem z kroku 98a a 3-fluor-5-hydroxypyridin

nahrazen 2-fluor-5-hydroxypyridinem z příkladu 8. Produkt byl získán jako bezbarvý olej: ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ 2,21 (m, 1H), 2,38 (m, 1H), 3,87 (t, J = 7 Hz, 2H), 4,19 (dd, J = 4, 11 Hz, 1H), 4,34 (dd, J = 4, 11 Hz, 1H), 4,54 (m, 1H), 5,01 (m, 2H), 6,97 (dd, J = 3, 9 Hz, 1H), 7,28 (m, 5H), 7,50 (m, 1H), 7,85 (m, 1H); MS (Cl/NH $_3$) m/e 317 (M+H) $^+$. Analýza pro C $_{17}$ H $_{17}$ FNO $_3$. vypočteno: 64,55 % C, 5,42 % H, 8,86 % N; nalezeno: 64,57 % C, 5,44 % H, 8,83 % N. $[\alpha]_D^{+74,6^\circ}$ (c =1,1, CHCl $_3$).

98c. 6-Fluor-3-[1-methyl-2-(*R*)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

6-Fluor-3-[1-Cbz-2-(*R*)-azetidinylmethoxy]pyridin z příkladu 98b (1 g, 3,16 mmol) byl v ethanolu (10 ml) smísen s 10 % Pd-C (50 mg) a paraformaldehydem (1 g) a směs byla pod vodíkem (1 atm) 16 hodin míchána. Směs byla sfiltrována a zkoncentrována. Zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu, smísen s kyselinou p-toluensulfonovou a vzniklá sůl byla krystalována ze směsi ethylacetát-ether. Tak byla získána titulní sloučenina (813 mg, 74 %): b.t. 121-125; ^1H NMR (500 MHz, D $_2$ O) δ 7,91 (s, 1H), 7,69 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,66 (m, 1H), 7,37 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 7,10 (dd, J = 2,7, 8,6 Hz, 2H), 4,86 (m, 1H), 4,45 (dd, J = 2,4, 11,6 Hz, 1H), 4,37 (dd, J = 5,5, 11,6 Hz, 1H), 4,27 (m, 1H), 4,00 (q, J = 10,2 Hz, 1H), 2,99 (s, 3H), 2,67 (m, 1H), 2,62 (m, 1H), 2,40 (s, 3H); ^{19}F NMR (471 MHz, D $_2$ O) δ -78,38; MS (Cl/NH $_3$) m/e 197 (M+H) $^+$; J = 7,9 Hz, 2H), Analýza pro C $_{17}$ H $_{21}$ N $_2$ O $_4$ FS vypočteno: 55,42 % C, 5,75 % H, 7,60 % N; nalezeno: 55,07 % C, 5,79 % H, 7,40 % N.

Příklad 99

6-Fluor-3-[1-ethyl-2-(*R*)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Titulní sloučenina byla připravena v 27 %-ním výtěžku postupem podle příkladu 98c vycházející z acetaldehydu namísto paraformaldehydu: b.t. 106-109°C; ^1H NMR (500 MHz, D $_2$ O) δ 7,91 (m, 1H), 7,69 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,66 (m, 1H), 7,37 (d, J = 7,9 Hz, 2H), 7,11 (dd, J = 2,8, 8,4 Hz, 1H), 4,82 (m, 1H), 4,43 (m, 2H), 4,23 (m, 1H), 3,98 (q, J = 9,7 Hz, 1H), 3,42 (m, 1H), 3,30 (m, 1H), 2,64 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 1,24 (t, J = 7,3 Hz, 3H); ^{19}F NMR (471 MHz, D $_2$ O) δ -78,38; MS (Cl/NH $_3$) m/e 211 (M+H) $^+$; Analýza pro C $_{18}$ H $_{23}$ N $_2$ O $_4$ FS vypočteno: 56,53 % C, 6,06 % H, 7,32 % N; nalezeno: 56,28 % C, 5,97 % H, 7,20 % N.

Příklad 100

6-Fluor-3-[1-propyl-2-(*R*)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Titulní sloučenina byla připravena v 40 %-ním výtěžku postupem podle příkladu 98c vycházející z propanalu namísto paraformaldehydu: b.t. 93-95°C; ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 7,92 (m, 1H), 7,70 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,66 (m, 1H), 7,38 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,11 (dd, $J = 2,5, 9,2$ Hz, 1H), 4,84 (m, 1H), 4,44 (m, 2H), 4,23 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 3,34 (m, 1H), 3,20 (m, 1H), 2,63 (q, $J = 8,5$ Hz, 2H), 2,40 (s, 3H), 1,66 (m, 2H), 0,96 (t, $J = 7,8$ Hz, 3H); ^{19}F NMR (471 MHz, D_2O) δ -78,35; MS (CI/ NH_3) m/e 225 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$; Analýza pro $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4\text{FS}$ vypočteno: 57,56 % C, 6,36 % H, 7,07 % N; nalezeno: 57,37 % C, 6,13 % H, 6,82 % N.

Příklad 101

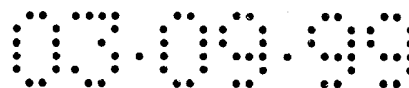
6-Fluor-3-[1-(1-methylethyl)-2-(*R*)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Titulní sloučenina byla připravena v 22 %-ním výtěžku postupem podle příkladu 98c vycházející z acetonu namísto paraformaldehydu: b.t. 93-95°C; ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 7,88 (m, 1H), 7,68 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,64 (m, 1H), 7,35 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 7,09 (dd, $J = 2,6, 8,5$ Hz, 1H), 4,85 (m, 1H), 4,39 (m, 2H), 4,14 (m, 1H), 4,02 (q, $J = 9,5$ Hz, 1H), 3,58 (hept, $J = m$, 1H), 2,58 (m, 2H), 2,38 (s, 3H), 1,31 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H), 1,25 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H); ^{19}F NMR (471 MHz, D_2O) δ -78,42; MS (CI/ NH_3) m/e 225 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4\text{FS} \cdot 0,1 \text{ CH}_3\text{OH}$ vypočteno: 57,19 % C, 6,29 % H, 6,77 % N; nalezeno: 56,98 % C, 6,38 % H, 6,94 % N.

Příklad 102

6-Fluor-3-[1-butyl-2-(*R*)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Titulní sloučenina byla připravena v 83 %-ním výtěžku postupem podle příkladu 98c vycházející z butanalů namísto paraformaldehydu: b.t. 93-97°C; ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 7,91 (m, 1H), 7,69 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H), 7,65 (m, 1H), 7,37 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H),



7,10 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 4,81 (m, 1H) 4,42 (br, 2H), 4,23 (m, 1H), 4,00 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 3,25 (m, 1H), 2,62 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 1,61 (m, 2H), 1,37 (m, 2H), 0,91 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H); ^{19}F NMR (471 MHz, D_2O) δ -78,32; MS (CI/ NH_3) m/e 239 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4\text{FS}$ vypočteno: 58,52 % C, 6,63 % H, 6,82 % N; nalezeno: 58,23 % C, 6,68% H, 6,72 % N.

Příklad 103

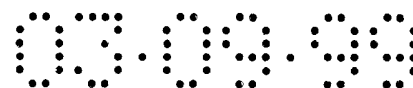
6-Fluor-3-[1-(2-methylpropyl)-2-(*R*)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Titulní sloučenina byla připravena v 43 %-ním výtěžku postupem podle příkladu 98c vycházející z isobutyraldehydu namísto paraformaldehydu: b.t. 103-104°C; ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 7,91 (br, 1H), 7,69 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 7,66 (m, 1H), 7,37 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 7,11 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 4,86 (m, 1H) 4,44 (br, 2H), 4,26 (m, 1H), 4,04 (m, 1H), 3,30 (m, 1H), 3,07 (dd, $J = 9,2, 12,8$ Hz, 1H), 2,62 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,04 (m, 1H), 0,98 (d, $J = 7,3$ Hz, 3H), 0,96 (d, $J = 7,3$ Hz, 3H); ^{19}F NMR (471 MHz, D_2O) δ -78,3; MS (DCI/ NH_3) m/e 239 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4\text{FS}$ vypočteno: 58,52 % C, 6,63 % H, 6,82 % N; nalezeno: 58,36 % C, 6,58% H, 6,77 % N.

Příklad 104

6-Fluor-3-[1-pentyl-2-(*R*)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Titulní sloučenina byla připravena v 43 %-ním výtěžku postupem podle příkladu 98c vycházející z pentanalu namísto paraformaldehydu: b.t. 77-79°C; ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 7,90 (br, 1H), 7,69 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 7,65 (m, 1H), 7,37 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 7,11 (dd, $J = 2,6, 8,5$ Hz, 1H), 4,82 (m, 1H) 4,42 (br s, 2H), 4,23 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 3,23 (m, 1H), 2,62 (q, $J = 8,5$ Hz, 2H), 2,40 (s, 3H), 1,62 (m, 1H), 1,31 (m, 4H), 0,86 (m, 3H); ^{19}F NMR (471 MHz, D_2O) δ -78,3; MS (CI/ NH_3) m/e 253 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_4\text{FS}$ vypočteno: 59,41 % C, 6,89 % H, 6,60 % N; nalezeno: 59,25 % C, 6,81% H, 6,48 % N.



Příklad 105

6-Fluor-3-[1-methyl-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát**105a. 6-Fluor-3-[1-Cbz-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin**

Byl použit postup z příkladu 98 s tím rozdílem, že 1-Cbz-2-(R)-azetidinylmethanol byl nahrazen 1-Cbz-2-(S)-azetidinylmethanolem. Produkt byl získán jako čirý olej: ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300 MHz) δ : 2,21 (m, 1H), 2,38 (m, 1H), 3,87 (t, $J = 7$ Hz, 2H), 4,19 (dd, $J = 4, 11$ Hz, 1H), 4,34 (dd, $J = 4, 11$ Hz, 1H), 4,54 (m, 1H), 5,01 (m, 2H), 6,97 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 7,28 (m, 5H), 7,50 (m, 1H), 7,85 (m, 1H); MS (CI/ NH_3) m/e 317 ($M+H$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{FNO}_3$. vypočteno: 64,55 % C, 5,42 % H, 8,86 % N; nalezeno: 64,37 % C, 5,30 % H, 8,83 % N. $[\alpha]_D -74,7^\circ$ ($c=1,0$, CHCl_3).

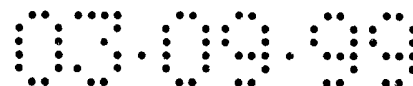
105b. 6-Fluor-3-[1-methyl-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 98c s tím rozdílem, že 6-fluor-3-[1-Cbz-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridinem byl nahrazen jeho R enantiomer tam uvedený. Produkt byl získán jako bílá tuhá látka: b.t. 124-126 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D +15,93^\circ$ ($c=0,5$, MeOH); ^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 7,92 (s, 1H), 7,68 (m, 3H), 7,38 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,11 (dd, $J = 2,5, 8,5$ Hz, 1H), 4,8 (br s, 1H), 4,45 (m, 2H), 4,27 (br s, 1H), 4,02 (br s, 1H), 2,99 (s, 3H), 2,68 (m, 2H), 2,40 (s, 3H); MS (CI/ NH_3) m/e 197 ($M+H$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}$. TsOH vypočteno: 55,42 % C, 5,75 % H, 7,60 % N; nalezeno: 55,33 % C, 5,74 % H, 7,59 % N.

Příklad 106

6-Fluor-3-[1-ethyl-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Titulní sloučenina byla získána ve výtěžku 47 % postupem podle příkladu 105b, s tím rozdílem, že tam uvedený paraformaldehyd byl nahrazen acetaldehydem. Produkt byl získán jako bílá tuhá látka: b.t. 101-103 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 7,91 (m, 1H), 7,69 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,66 (m, 1H), 7,37 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,11 (dd, $J = 9, 2$ Hz, 1H), 4,80 (m, 1H), 4,44 (m, 2H), 4,23 (m, 1H), 3,98 (m, 1H), 3,42 (1), 3,30



(q, $J = 12, 7$ Hz, 1H), 2,63 (br q, $J = 8$ Hz, 2H), 2,40 (s, 3H), Hz, 1,24 (t, $J = 7$ Hz, 3H); ^{19}F NMR (471 MHz, D_2O) δ -78,36; MS (DCI/ NH_3) m/e 211 ($\text{M}+1$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_4\text{FS}$ vypočteno: 56,53 % C, 6,06 % H, 7,32 % N; nalezeno: 56,54 % C, 6,05 % H, 7,26 % N.

Příklad 107

6-Fluor-3-[1-propyl-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Titulní sloučenina byla získána ve výtěžku 74 % postupem podle příkladu 105b, s tím rozdílem, že tam uvedený paraformaldehyd byl nahrazen propanalem. Produkt byl získán jako bílá tuhá látka: b.t. 95-104 °C; ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 7,90 (m, 1H), 7,68 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,65 (m, 1H), 7,36 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,10 (dd, $J = 9, 2$ Hz, 1H), 4,81 (m, 1H) 4,41 (m, 2H), 4,23 (m, 1H), 4,00 (q, $J = 10$ Hz, 1H), 3,34 (m, 1H), 3,20 (m, 1H), 2,62 (m, 2H), 2,39 (s, 3H), 1,65 (m, 2H), 0,95 (t, $J = 7$ Hz, 3H); ^{19}F NMR (471 MHz, D_2O) δ -78,34; MS (CI/ NH_3) m/e 225 ($\text{M}+1$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4\text{FS}$ vypočteno: 57,56 % C, 6,36 % H, 7,07 % N; nalezeno: 57,51 % C, 6,27 % H, 6,90 % N.

Příklad 108

6-Fluor-3-[1-propyl-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Titulní sloučenina byla získána ve výtěžku 82 % postupem podle příkladu 105b, s tím rozdílem, že tam uvedený paraformaldehyd byl nahrazen butanalem. Produkt byl získán jako bílá tuhá látka: b.t. 88-93 °C; ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 7,90 (m, 1H), 7,69 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,65 (m, 1H), 7,37 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,10 (dd, $J = 9, 2$ Hz, 1H), 4,81 (m, 1H) 4,42 (m, 2H), 4,22 (m, 1H), 4,00 (q, $J = 9$ Hz, 1H), 3,37 (m, 1H), 3,25 (m, 1H), 2,62 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 1,61 (m, 2H), 1,37 (hex, $J = 7$ Hz, 3H), 0,91 (t, $J = 7$ Hz, 3H); ^{19}F NMR (471 MHz, D_2O) δ -78,31; MS (CI/ NH_3) m/e 239 ($\text{M}+1$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4\text{FS}$ vypočteno: 58,52 % C, 6,63 % H, 6,82 % N; nalezeno: 58,28 % C, 6,64 % H, 6,60 % N.

Příklad 109

6-Fluor-3-[1-(2-methylpropyl)-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Titulní sloučenina byla připravena v 83 %-ním výtěžku postupem podle příkladu 105b, s tím rozdílem, že tam uvedený paraformaldehyd byl nahrazen isobutyraldehydem. Produkt byl získán jako bílá tuhá látka: b.t. 104-106°C; ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 7,91 (m, 1H), 7,70 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,66 (m, 1H), 7,37 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,11 (dd, $J = 9,2$ Hz, 1H), 4,86 (m, 1H), 4,45 (m, 2H), 4,25 (m, 1H), 4,05 (m, 1H), 3,29 (m, 1H), 3,07 (dd, $J = 13, 9$ Hz, 1H), 2,62 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,05 (m, 1H), 0,97 (d, $J = 7$ Hz, 6H); ^{19}F NMR (471 MHz, D_2O) δ -78,29; MS (DCI/ NH_3) m/e 239 ($\text{M}+1$)⁺. Analýza pro $\text{C}_{20}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4\text{FS}$ vypočteno: 58,52 % C, 6,63 % H, 6,82 % N; nalezeno: 58,36 % C, 6,68 % H, 6,73 % N.

Příklad 110

6-Fluor-3-[1-pentyl-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Titulní sloučenina byla připravena v 49 %-ním výtěžku postupem podle příkladu 105b, s tím rozdílem, že tam uvedený paraformaldehyd byl nahrazen pentanalem. Produkt byl získán jako bílá tuhá látka: b.t. 71-73°C; ^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 7,91 (br, 1H), 7,69 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,66 (m, 1H), 7,37 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,11 (m, 1H), 4,82 (m, 1H), 4,43 (m, 2H), 4,23 (m, 1H), 3,99 (m, 1H), 3,36 (m, 1H), 3,24 (m, 1H), 2,62 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 1,63 (m, 2H), 1,32 (m, 4H), 0,87 (m, 3H); ^{19}F NMR (471 MHz, D_2O) δ -78,31; MS (DCI/ NH_3) m/e 253 ($\text{M}+1$)⁺. Analýza pro $\text{C}_{21}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_4\text{FS}$ vypočteno: 59,41 % C, 6,89 % H, 6,60 % N; nalezeno: 59,13 % C, 6,86 % H, 6,53 % N.

Příklad 111

6-Fluor-3-[1-(1,1-dimethylpropyl)-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát**111a. 5-[1-(1,1-Dimethyl-2-propinyl)-(2S)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin**

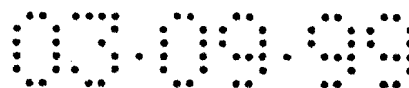
K roztoku 5-[1-(2S)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (530 mg, 2,91 mmol) a 3-chlor-3-methyl-1-butinu (0,654 ml, 5,82 mmol) v THF (6 ml) bylo při teplotě místnosti přidáno katalytické množství chloridu měďného (14 mg, 0,15 mmol) a výsledkem byla tvorba precipitátu. Směs byla 1 hodinu míchána, zředěna Et₂O a promyta vodným 1 N HCl. Vrstvy byly odděleny, vodná fáze byla zalkalisována 15 %-ním vodným roztokem NaOH (pH = 12) a extrahována CH₂Cl₂. CH₂Cl₂ extrakty byly vysušeny (Na₂SO₄) a zkoncentrovány. Čistění chromatografií (silikagel; 98 : 2 CH₂Cl₂ / MeOH) poskytlo 290 mg (40 %) titulní sloučeniny jako světle žlutý olej: $[\alpha]_D^{23}$ -93,8° (c=1,03, CH₂Cl₂); ¹H NMR (CDCl₃) δ 1,21 (s, 3H), 1,29 (s, 3H), 2,02 (m, 1H) 2,14 (m, 1H), 2,39 (s, 1H), 3,23-3,29 (m, 2H), 3,90-4,06 (m, 3H), 6,85 (dd, J = 1,7, 8,8 Hz, 1H), 7,32 (m, ¹H), 7,82 (dd, J = 1,7, 3,1 Hz, 1H); MS (Cl/NH₃) m/z 249 (M+H).

**111b. 5-[1-(1,1-Dimethyl-2-propinyl)-(2S)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin
tosylát**

K roztoku 5-[1-(1,1-dimethyl-2-propinyl)-(2S)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinu (58 mg, 0,23 mmol) z kroku 111a nahoře v EtOH (3 ml) byl přidán monohydrát kyseliny p-toluensulfonové (44 mg, 0,23 mmol). Roztok byl 1 hodinu míchán a pak byly těkavé podíly odstraněny ve vakuu. Tuhá látka byla rozmíchána s Et₂O, pak vysušena ve vysokém vakuu a bylo získáno 93 mg (95 %) titulní sloučeniny jako bílé tuhé látky: b.t. 155-157°C; ¹H NMR (D₂O) δ 1,55 (s, 3H), 1,69 (s, 3H), 2,40 (s, 3H) 2,55 (m, 2H), 3,26 (s, 1H), 4,06 (m, 1H), 4,21 (m, 1H), 4,42 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 5,05 (m, ¹H), 7,10 (dd, J = 2,6, 8,8 Hz, 1H), 7,38 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,67 (m, 1H), 7,70 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 7,91 (m, 1H); MS (Cl/NH₃) m/z 249 (M+H). Analýza pro C₁₄H₁₇FN₂O . C₇H₈O₃S vypočteno: 59,98 % C, 5,99 % H, 6,66 % N; nalezeno: 59,78 % C, 5,91 H, 6,52 % N.

111c. 5-[1-(1,1-Dimethylpropyl)-(2 S)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin

Suspense 5-[1-(1,1-dimethyl-2-propinyl)-(2S)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylátu z kroku 111b nahoře (210 mg, 0,846 mmol) a 10 % palladia na aktivním uhlí (20 mg) v MeOH (10 ml) byla 18 hodin míchána v atmosféře vodíku (balón). Katalysátor byl odstraněn filtrací přes vrstvu Celitu (promytí CH₂Cl₂) a organický roztok po zkoncentrování poskytl 206 mg žlutého oleje. Po vyčistění chromatografií (silikagel, 90:10 CH₂Cl₂/MeOH) bylo získáno 190 mg (89 %) titulní sloučeniny jako bezbarvý olej:



$[\alpha]_D^{23} -40,9^\circ$ ($c=1,13$, CH_2Cl_2); $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 0,84 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H), 0,92 (s, 3H), 0,94 (s, 3H), 1,30 (q, $J = 7,1$ Hz, 3H), 1,95 (m, 1H), 2,07 (m, 1H), 3,10-3,35 (m, 2H), 3,82 (m, 1H), 3,92-4,05 (m, 2H), 6,84 (m, ^1H), 7,31 (m, 1H), 7,81 (dd, $J = 2,4, 2,9$ Hz, 1H); MS (CI/NH_3) m/z 253 ($\text{M}+\text{H}^+$).

111d. 5-[1-(1,1-Dimethylpropyl)-(2 S)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin tosylát

Volný amin (84 mg, 0,33 mmol) z kroku 111c nahoře byl rozpuštěn v EtOH (3 ml) a byl přidán monohydrát kyseliny p-toluensulfonové (63 mg, 0,33 mmol). Roztok byl 2 hodiny míchán a pak byly těkavé podíly odstraněny ve vakuu. Tuhá látka byla rozmíchána s Et_2O , pak vysušena ve vysokém vakuu a bylo získáno 145 mg (95 %) titulní sloučeniny jako bílé tuhé látky: b.t. $84-86^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 0,95 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H), 1,31 (s, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,68 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,54 (q, $J = 8,6$ Hz, 1H), 4,02 (m, 1H), 4,15 (m, 1H), 4,43 (m, 2H), 4,97 (m, 1H), 7,11 (dd, $J = 2,4, 9,2$ Hz, 1H), 7,38 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 7,67 (m, 1H), 7,70 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 7,91 (dd, $J = 1,2, 3,1$ Hz, 1H); MS (CI/NH_3) m/z 253 ($\text{M}+\text{H}^+$). Analýza pro $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{FN}_2\text{O} \cdot 1,2 \text{ C}_7\text{H}_8\text{O}_3\text{S}$ vypočteno: 58,62 % C, 6,72 % H, 6,10 % N; nalezeno: 58,62 % C, 6,81 H, 6,45 % N.

Příklad 112

6-Fluor-3-[1-(1,1-dimethylpropyl)-2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Podle postupů v příkladu 111a a b s tím rozdílem, že 5-[1-(2S)-azetidinyl-methoxy]-2-fluorpyridin tam uvedený byl nahrazen 5-[1-(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridinem, byl v 21 % výtěžku připraven 5-[1-(1,1-dimethyl-2-propinyl)-(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin. Podle postupů v příkladu 111c a d s tím rozdílem, že 5-[1-(1,1-dimethyl-2-propinyl)-(2S)-azetidinyl-methoxy]-2-fluorpyridin tam uvedený byl nahrazen enantiomerním materiálem, 5-[1--(1,1-dimethyl-2-propinyl)-(2R)-azetidinyl-methoxy]-2-fluorpyridinem, byla titulní sloučenina připravena jako bílá tuhá látka: b.t. $67-70^\circ\text{C}$; $^1\text{H NMR}$ (D_2O) δ 0,95 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H), 1,31 (s, 3H), 1,37 (s, 3H), 1,67 (m, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,54 (q, $J = 8,5$ Hz, 1H), 4,02 (m, 1H), 4,15 (m, 1H), 4,43 (m, 2H), 4,96 (m, ^1H), 7,11 (dd, $J = 3,0, 9,2$ Hz, 1H), 7,38 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,67 (m, 1H), 7,70 (d, $J = 7,90$ Hz, 2H), 7,92 (dd, $J = 1,8, 3,1$ Hz,

¹H); MS (CI/NH₃) m/z 253 (M+H⁺). Analýza pro C₁₄H₂₁FN₂O · C₇H₈O₃S · 0,8 H₂O vypočteno: 57,46 % C, 7,03 % H, 6,38 % N; nalezeno: 57,46 % C, 6,95 H, 6,27 % N.

Příklad 113

6-Difluormethyl-3-[(1- methyl-2-(S)-azetidiny)methoxy]pyridin citrát

113a. 6-Hydroxymethyl-3-[(1-terc.butoxykarbonyl-2-(S)-azetidiny)methoxy]-pyridin

Vzorek (S)-1-terc.butoxykarbonyl-2-azetidinmethanolu (1,64 g, 8,18 mmol) a 1,05 g (6,29 mmol) 6-acetoxymethyl-3-hydroxypyridinu, připraveného jak popsal Deady a Dayhe, *Aust. J. Chem.* **2565:36 (1983)**, byly podrobeny reakci s trifenyfosfinem (540 mg, 2,06 mmol) a DEAD (0,33 ml, 2,06 mmol) v THF (25 ml) podle postupu uvedeného v příkladu 2a. Produkt byl při teplotě místnosti 4 hodiny míchán v methanolu (4 ml) obsahujícím KOH (450 mg), pak neutralisován a zkoncentrován. Zbytek byl čistěn chromatografií (silikagel; ^{1:1} ether/hexan a ethylacetát) a poskytl titulní sloučeninu (240 mg, 41 % pro dva kroky). MS (DCI/NH₃) m/e 295 (M+H)⁺. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,42 (s, 9H), 2,24-2,48 (m, 2H), 3,84-3,96 (s, 2H), 4,18 (dd, J = 2,6, 11 Hz, 1H), 4,40 (m, 1H), 4,53 (m, 1H), 4,82 (m, 2H), 7,36 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,51 (m, 1H), 8,31 (d, J = 3,0 Hz, 1H).

113b. 6-Difluormethyl-3-[(1-terc.butoxykarbonyl-2-(S)-azetidiny)methoxy]-pyridin

K vzorku sloučeniny z kroku 113a nahoře (127 mg, 0,43 mmol) v kyselině fosforečné (3 ml) byl přidán dicyklohexylkarbodiimid (310 mg, 1,5 mmol) a roztok byl 2 hodiny míchán při 25°C. Tuhá látka byla odfiltrována a filtrát byl pak promyt nasyceným roztokem NaHCO₃. Organická vrstva byla vysušena (MgSO₄), filtrována a rozpouštědlo bylo odstraněno. Zbytek (110 mg) byl použit do další reakce bez čistění. MS (DCI/NH₃) m/e 293 (M+H)⁺. K surovému produktu (110 mg, 0,38 mmol) v methylenchloridu (3 ml) byl přidán triethylamin (0,1 ml) a roztok byl ochlazen na -78°C. K tomuto roztoku byl přidán DAST (42 μl, 0,39 mmol) a roztok byl potom 1,5 hodiny míchán při -78°C. Reakční směs byla ohřáta na teplotu místnosti a reakce byla přerušena přidavkem nasyceného roztoku NaHCO₃. Směs byla extrahována chloroformem, rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek byl chromatografován (silikagel;

AcOEt/hexan, 1:1). Byla tak získána titulní sloučenina (52 mg, 44 %). MS (DCI/NH₃) m/e 315 (M+H)⁺. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,55 (s, 9H), 2,34 (s, 3H), 2,11-2,44 (m, 2H), 3,90 (t, J = 7,8 Hz, 2H), 4,17 (dd, J = 2,9, 10 Hz, 1H), 4,36 (m, 1H), 4,53 (m, 1H), 6,62 (t, J = 55,5 Hz, 1H), 7,36 (dd, J = 2,5, 8,6 Hz, 1H), 7,57 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 8,36 (d, J = 3,0 Hz, 1H).

113c. 6-Difluormethyl-3-[(1-methyl-2-(S)-azetidinyl)methoxy]pyridin citrát

Sloučenina získaná v kroku 113b nahoře byla v methylenchloridu (3 ml) podrobena reakci s kyselinou p-toluensulfonovou (64,6 mg, 0,34 mmol). Vzniklá směs byla 6 hodin zahřívána k varu. Rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku. Zbytek byl několikrát rozmíchán s etherem a poskytl bílou, velmi hygroskopickou tuhou látku (102 mg). MS (CI/NH₃) m/e 215 (M+H)⁺, 232 (M+NH₄)⁺. ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 2,38 (s, 3H), 2,69 (q, J = 8,5 Hz, 2H), 4,03-4,11 (m, 2H), 4,45 (d, J = 4,4 Hz, 2H), 4,96 (m, 1H), 6,79 (t, J = 55,5 Hz, 1H), 7,35 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,60 (dd, J = 2,7, 8,5 Hz, 1H), 7,68 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,72 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 8,39 (d, J = 3,0 Hz, 1H). Analýza pro C₁₀H₁₂F₂N₂O · 2,5 C₇H₈O₃S · 2 H₂O vypočteno: 48,52 % C, 5,33 % H, 4,12 % N; nalezeno: 48,46 % C, 5,27 H, 4,10 % N. [α]_D²⁵ = 1° (c 0,28, MeOH)

Příklad 114

3-[2-(R)-azetidinylmethoxy]-5-chlorpyridin tosylát

114a. 3-[1-terc.butoxykarbonyl-2-(R)-azetidinylmethoxy]-5-chlorpyridin

K roztoku 5-chlor-3-hydroxypyridinu (0,3 g, 2,6 mmol) v DMF byl při teplotě místnosti přidán KOH (0,2 g, 3,8 mmol). Potom byl přidán 1-terc.butoxykarbonyl-2-(R)-azetidinyl tosylát (0,8 g, 2,4 mmol, z příkladu 10 d) a reakční směs byla míchána při 80°C 16 hodin. DMF byl odstraněn promytím 1:1 směsí H₂O/solanka v AcOEt. Organická vrstva byla vysušena, zkoncentrována a chromatografována (silikagel; hexan/AcOEt 5:1 až 1:1) a poskytla olej (0,6 g, 87 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,43 (s, 9H), 2,21-2,40 (m, 2H), 3,89 (t, 2H, J = 8 Hz), 4,12 (m, 1H), 4,36 (m, 1H), 4,52 (m, 1H), 7,29 (m, 1H), 8,20 (d, 1H, J = 2 Hz), 8,25 (d, 1H, J = 3,0 Hz); MS (CI/NH₃) m/z 299 (M+H)⁺.

114b. 3-[2-(R)-azetidinylmethoxy]-5-chlorpyridin tosylát

K roztoku 3-[1-terc.butoxykarbonyl-2-(R)-azetidinylmethoxy]-5-chlorpyridinu (0,6 g, 2,1 mmol) v CH_2Cl_2 (4 ml) byla při 0°C přidána TFA (3 ml). Reakční směs byla při 0°C - 25°C míchána. Po 30 minutách byla zalkalisována 15 %-ním roztokem NaOH a extrahována CH_2Cl_2 . Organické rozpouštědlo bylo vysušeno (MgSO_4), roztok zkoncentrován, chromatografován (silikagel; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 10:0,45 až 10:1) a poskytl olej (0,4 g, 93 %): ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 2,44-2,64 (m, 2H), 3,80 (m, 1H), 3,98 (m, 1H), 4,08 (m, 1H), 4,24 (m, 1H), 4,61 (m, 1H), 7,26 (m, 1H), 8,23 (m, 1H); MS (Cl/NH_3) m/z 199 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Volná base byla přeměněna na sůl pomocí TsOH. Bílá tuhá látka: b. t. $100-102^\circ\text{C}$; ^1H NMR (D_2O , 300 Mz) δ 2,38 (s, 3H), 2,60-2,78 (m, 2H), 4,00-4,20 (m, 2H), 4,39-4,43 (m, 2H), 4,43 (m, 2H), 4,98 (m, 1H), 7,36 (d, 2H, $J = 8$ Hz), 7,60 (m, 1H), 7,67 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 8,20-8,24 (m, 2H); MS (Cl/NH_3) m/z 199 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O} \cdot \text{TsOH} \cdot 0,5 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 50,59 % C, 5,31 % H, 7,37 % N; nalezeno: 50,91 % C, 5,02 H, 7,00 % N. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = 9,3^\circ$ (c 0,4, MeOH).

Příklad 115

6-Methyl-3-[2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 17 s tím rozdílem, že tam uvedený (S) enantiomer byl nahrazen 1-terc.butoxykarbonyl-2-(R)-azetidinmethanolem a 3-brom-2-chlor-5-hydroxypyridin 6-methyl-3-pyridinolem. Po odstranění chránicí skupiny a konversi na HCl sůl jako v příkladu 17a byla získána bílá tuhá látka: b. t. $134-136^\circ\text{C}$; ^1H NMR (D_2O , 300 Mz) δ 2,48 (s, 3H), 2,69 (m, 2H), 4,12 (m, 2H), 4,41 (d, $J = 4$ Hz, 2H), 4,95 (hept, $J = 4$ Hz, 1H), 7,32 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7,47 (dd, $J = 3, 9$ Hz, 1H), 8,20 (d, $J = 3$ Hz, 1H); MS (DCI/NH_3) m/e 179 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O} \cdot \text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$ vypočteno: 54,13 % C, 7,18 % H, 12,62 % N; nalezeno: 53,85 % C, 6,98 H, 12,38 % N.

Příklad 116

2,6-Difluor-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát**116a. 3-Hydroxy-2,6-difluorpyridin**

K roztoku 2,6-difluorpyridinu (6,7 ml, 73,8 mmol) v THF (100 ml, ochlazen na -78°C) byl přidán 2 M roztok LDA ve směsi heptan/THF/ethylbenzen (38 ml, 76 mmol). Směs byla míchána při -78°C 1 hodinu a pak byl přidán trimethylborát (6,8 ml, 89,7 mmol). Směs byla 1 hodinu míchána a nechána ohřát na 20°C . Pak byla reakce přerušena AcOH (10 ml). Roztok byl zalkalisován vodným 20 %-ním NaOH (20 ml), byl přidán H_2O_2 (50 %, 200 ml) a směs byla 16 hodin míchána. Směs byla neutralisována přídatkem HCl (2 M, aq) a extrahována AcOEt. Spojené AcOEt extrakty byly vysušeny (MgSO_4). Rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu, surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan/AcOEt 9:1 až 6:4) a poskytl 2,7 g (28 %) titulní sloučeniny. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ 6,75 (dd, $J = 3,0$ Hz, ~~5H~~, 1H) 7,48 (m, 1H); MS (DCI/ NH_3) m/e 149 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$.

116b. 2,6-Difluor-3-[1-Cbz-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin

2,6-Difluor-3-hydroxypyridin z příkladu 116a (2 g, 15,26 mmol), 1-Cbz-2-(S)-azetidinmethyl tosylát (5,73 g, 15,26 mmol, připraven v příkladu 105), a KOH (1,4 g, 24,9 mmol) bylo smíseno v DMF (15 ml), jednu hodinu zahříváno na 90°C , ochlazen na 20°C a nalito do solanky (100 ml). Vzniklá směs byla extrahována etherem. Spojené Et_2O extrakty byly promyty 50 % solankou a vysušeny (MgSO_4). Rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu, surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan/AcOEt 95:5 až 6:4) a poskytl 1,75 g, (34 %) titulní sloučeniny. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 120°C , 300 MHz) δ 2,22 (s, 1H), 2,42 (m, 1H), 3,85-3,90 (m, 2H), 4,23 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 5,01 (m, 1H), 6,93 (dd, $J = 3,0, 5,5$ Hz, 1H), 7,29 (m, 5H), 7,77 (m, 1H); MS (DCI/ NH_3) m/e 335 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_3$ vypočteno: 61,07 % C, 4,82 % H, 8,38 % N; nalezeno: 61,10 % C, 4,84 H, 7,90 % N.

116c. 2,6-Difluor-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

2,6-Difluor-3-[1-Cbz-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin z příkladu 116b (640 mg, 1,9 mmol) bylo smíseno s 10 % Pd na C a monohyrátem kyseliny p-toluensulfonové (1,1 g, 5,7 mmol) ve 30 ml EtOH a směs byla pod vodíkovou atmosférou 16 hodin míchána. Směs byla zkoncentrována, rozmíchána s etherem a potom rekrystalována ze směsi ethylacetát/ether za vzniku 231 mg (32,4 %) titulní sloučeniny: b.t. $140-143^{\circ}\text{C}$; ^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 2,40 (s, 3H), 2,69 (m, 2H), 4,12

(m, 2H), 4,46 (d, $J = 4,5$ Hz, 2H), 4,94 (m, 1H), 7,01 (m, 1H), 7,38 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,70 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,81 (m, 1H); MS (DCI/ NH_3) m/e 201 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 218 ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺. Analýza pro $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{F}_2\text{N}_2\text{O} \cdot \text{C}_7\text{H}_8\text{O}_3\text{S}$ vypočteno: 51,61 % C, 4,87 % H, 7,52 % N; nalezeno: 51,37 % C, 4,89H, 7,40 % N. $[\alpha]_{\text{D}} -1,44^\circ$ (c 0,1, MeOH).

Příklad 117

2 -Fluor-6-methyl-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

117a. 3-Hydroxy-6-methyl-2-nitropyridin

5-Hydroxy-2-methylpyridin (23,6 g, 216 mmol) byl rozpuštěn v konc H_2SO_4 (50 ml) a ochlazen na 0°C . Po dobu jedné hodiny byla přidávána dýmavá HNO_3 . Roztok byl jednu hodinu míchán při teplotě místnosti, nalit na led (400 g) a sfiltrován. Tuhé látky byly rozpuštěny v AcOEt a promyty solankou (100 ml). Organické extrakty byly vysušeny (MgSO_4), rozpouštědlo bylo odpařeno a výtěžek byl 12,1 g (36,3 %) titulní sloučeniny. B. t. $102\text{--}105^\circ\text{C}$. ^1H NMR (DMSO-d_6 , 300 MHz) δ 2,44 (s, 3H), 7,52 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,58 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); MS (ESI-QIMS) m/e 153 ($\text{M}+\text{H}$)⁺. Analýza pro $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_3$ vypočteno: 46,76 % C, 3,92 % H, 18,18 % N; nalezeno: 46,65 % C, 3,98 % H, 18,10 % N.

117b. 2-Amino-3-hydroxy-6-methylpyridin

5-Hydroxy-6-methyl-2-nitropyridin z příkladu 117a (10,5 g, 68 mmol) byl smísen s 10 % Pd/C (100 mg) v EtOH (100 ml) a roztok byl ve vodíkové atmosféře míchán 16 hodin. Směs byla sfiltrována, zkoncentrována a výtěžek byl 8,40 g (99 %) titulní sloučeniny. B. t. $141\text{--}145^\circ\text{C}$ ^1H NMR (DMSO-d_6 , 300 MHz) δ 2,14 (s, 3H), 6,22 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 6,71 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H); MS (DCI/ NH_3) m/e 125 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 142 ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺.

117c. 2-Fluor-3-hydroxy- 6-methylpyridin

2-Amino-3-hydroxy-6-methylpyridin z příkladu 117b (8,35 g, 67,25 mmol) byl rozpuštěn v ve vodném HF (48 %, 100 ml) a ochlazen na -5°C . Byl přidáván NaNO_2 (5,2 g, 75,4 mmol) takovou rychlostí, aby byla teplota udržována pod 0°C . Když bylo přidávání skončeno, byl roztok zahřát na 30°C . Po 30ti minutách byl roztok ochlazen na 0°C a neutralisován přídatkem NaOH (20 % aq). Vodná směs byla extrahována

ethylacetátem. Organické extrakty byly vysušeny (MgSO_4) a rozpouštědlo bylo odpařeno. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan/AcOEt 1:1) a poskytl 4,68 g (54,7 %) titulní sloučeniny. B. t. 133-135°C. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300 MHz) δ 2,29 (s, 3H), 6,98 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,26 (dd, J = 8 Hz, 1H); MS (DCI/ NH_3) m/e 128 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 145 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_6\text{H}_6\text{FNO}$ vypočteno: 56,69 % C, 4,76 % H, 11,02 % N; nalezeno: 56,72 % C, 4,73 % H, 11,03 % N.

117d. 2-Fluor-6-methyl-3-[1-Cbz-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin

2-Fluor-3-hydroxy-6-methylpyridin z příkladu 117c (1 g, 7,87 mmol), 1-Cbz-2-(S)-azetidinmethyl tosylát (2,37 g, 7,5 mmol, připravený jako pro příklad 105) a KOH (0,66 g, 11,76 mmol) byly smíseny v DMF (25 ml), jednu hodinu zahřívány na 90°C, ochlazeny na 20°C a nality do solanky (100 ml). Vzniklá směs byla extrahována etherem. Spojené Et_2O extrakty byly promyty 50 %-ní solankou a vysušeny (MgSO_4). Rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu, surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan/AcOEt 3:1) a poskytl 1,31 g (53 %) titulní sloučeniny. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 120°C, 300 MHz) δ 2,26 (m, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,48 (m, 1H), 3,82-3,88 (m, 2H), 4,19 (q, J = 3 Hz, 1H), 4,35 (q, J = 4,5 Hz, 1H), 4,53 (m, 1H), 5,01 (m, 2H), 7,01 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,28 (m, 5H), 7,43 (m, 1H); MS (DCI/ NH_3) m/e 331 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 348 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{FN}_2\text{O}_3$ vypočteno: 65,44 % C, 5,8 % H, 8,48 % N; nalezeno: 65,04 % C, 5,86 % H, 8,44 % N. $[\alpha]_D -70,38^\circ$ (c 1, MeOH).

117e. 2-Fluor-6-methyl-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

2-Fluor-6-methyl-3-[1-Cbz-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin z příkladu 117d (714 mg, 2,16 mmol) byl smísen s 10 % Pd/C (50 mg) a monohydrátem kyseliny p-toluensulfonové (830 mg, 4,36 mmol) ve 30 ml EtOH a směs byla 16 hodin míchána v atmosféře vodíku. Směs byla sfiltrována, zkoncentrována, zbytek byl rozmíchán s etherem a produkt byl rekrystalován ze směsi ethylacetát/ether za vzniku 480 mg (60 %) titulní sloučeniny. B. t. 141-143°C. ^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 2,40 (s, 6H), 2,65-2,71 (m, 2H), 4,07-4,16 (m, 2H), 4,43 (d, J = 4,5 Hz, 2H), 4,81-4,95 (m, 1H), 7,16 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,37 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,55 (dd, J = 8,0, 2,5 Hz, 1H), 7,70 (d, J = 8,0 Hz, 2H); MS (DCI/ NH_3) m/e 197 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 214 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{FN}_2\text{O}$. $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_3\text{S}$ vypočteno: 55,42 % C, 5,75 % H, 7,60 % N; nalezeno: 55,27 % C, 5,69 % H, 7,44 % N. $[\alpha]_D -3,2^\circ$ (c 1, MeOH).

Příklad 118

2-Fluor-6-methyl-3-[2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát**118a. 2-Fluor-6-methyl-3-[1-Cbz-2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin**

2-Fluor-3-hydroxy- 6-methylpyridin z příkladu 117c (0,5 g, 3,47 mmol), 1-Cbz-2-(R)-azetidinmethyl tosylát (1,1 g, 3,9 mmol) z příkladu 98a a KOH (0,3 g, 5,33 mmol) byly smíseny v DMF (5 ml), dvě hodiny zahřívány na 80°C, ochlazený na teplotu místnosti a nality do nasyceného roztoku NH₄Cl (100 ml). Vzniklá směs byla extrahována etherem, spojené Et₂O extrakty byly promyty 50 %-ní solankou a vysušeny (MgSO₄). Rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu, surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan/AcOEt 9:1 až 7:3) a poskytl 592 mg (51,7 %) titulní sloučeniny. ¹H NMR (DMSO-d₆, 120°C, 300 MHz) δ 2,22 (m, 1H), 2,33 (s, 3H), 2,41 (m, 1H), 3,83-3,88 (m, 2H), 4,19 (q, J = 3 Hz, 1H), 4,35 (q, J = 5 Hz, 1H), 4,53 (m, 1H), 5,01 (s, 2H), 7,01 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,28 (m, 5H), 7,43 (m, 1H); MS (CI/NH₃) m/e 331 (M+H)⁺, 348 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₁₈H₁₉FN₂O₃ vypočteno: 65,44 % C, 5,8 % H, 8,48 % N; nalezeno: 65,19 % C, 5,95 % H, 8,69 % N. [α]_D +68,15° (c 1, MeOH).

118b. 2-Fluor-6-methyl-3-[2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

2-Fluor-6-methyl-3-[1-Cbz-2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin z příkladu 118a (500 mg, 1,51 mmol) byl smísen s 10 % Pd/C (50 mg) a monohyrátem kyseliny p-toluensulfonové (600 mg, 3,15 mmol) ve 30 ml EtOH a směs byla 16 hodin míchána v atmosféře vodíku. Směs byla sfiltrována, zkoncentrována, zbytek byl rozmíchán s etherem a produkt byl rekrystalován ze směsi ethylacetát/ether za vzniku 270 mg (50 %) titulní sloučeniny. B. t. 158-160°C. ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,40 (s, 6H), 2,65-2,70 (m, 2H), 4,07-4,18 (m, 2H), 4,42 (d, J = 4,5 Hz, 2H), 4,91-4,95 (m, 1H), 7,15 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,37 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,55 (dd, J = 8,0, 2,0 Hz, 1H), 7,69 (d, J = 8,5 Hz, 2H); MS (DCI/NH₃) m/e 197 (M+H)⁺, 214 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₁₀H₁₃FN₂O . C₇H₈O₃S . 0,4 H₂O vypočteno: 54,36 % C, 5,85 % H, 7,46 % N; nalezeno: 54,48 % C, 5,81 % H, 7,28 % N. [α]_D +2,05° (c 1, MeOH).

Příklad 119

6-Methoxy-3-[2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát**119a. 5-Acetoxy-2-methoxypyridin**

K 47,6 ml bortrifluorid etherátu (387 mmol, Aldrich) ochlazenému na -10°C bylo pod dusíkem přidáno 24 g (193 mmol, Aldrich) 5-amino-2-methoxypyridinu rozpuštěného ve 100 ml dimethoxymetanu. Takovou rychlostí, aby teplota byla udržována pod 0°C byl pak přidáván terc. butylnitrit (20,2 ml, 193 mmol, Aldrich). Po jedné hodině při -10°C byl k reakční směsi přidán pentan (400 ml), pentanový roztok byl dekantován, zbytek byl promyt chladným etherem a rozpuštěn ve 200 ml acetanhydridu. Vzniklý roztok byl 1 hodinu zahříván na $100^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu, zbytek byl suspendován v nasyceném vodném roztoku Na_2CO_3 (200 ml) a extrahován ethyletherem (3 x 200 ml). Etherový roztok byl vysušen (MgSO_4), rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a surový produkt byl chromatografován na silikagelu eluováním 95:5 až 80:20 směsí hexan/ethylacetát a poskytl 7,3 g (20,7 %) titulní sloučeniny. MS (Cl/NH_3) m/e 168 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 185 ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 2,30 (s, 3H), 3,92 (s, 3H), 6,75 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,35 (dd, $J = 2,5, 9,0$ Hz, 1H), 7,95 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H). Analýza pro $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_3$ vypočteno: 57,48 % C, 5,43 % H, 8,38 % N; nalezeno: 57,46 % C, 5,40 % H, 7,99 % N.

119b. 2-Methoxy-5-hydroxypyridin

Produkt z příkladu 119a (608 g, 40,7 mmol) byl při 0°C rozpuštěn ve 20 %-ním vodném NaOH (50 ml), roztok se nechal ohřát na teplotu místnosti a byl 3 hodiny míchán. Roztok byl neutralisován přidáním HCl a vodná směs byla extrahována ethylacetátem. Organické extrakty byly promyty vodou a solankou, potom vysušeny (MgSO_4) a rozpouštědlo bylo odpařeno. Výtěžek byl 5,05 g (99 %). Produkt byl rekrystalován ze směsí ethylacetát/hexan a bylo získáno 3,6 g (70,6 %) titulní sloučeniny. B. t. $80-82^{\circ}\text{C}$; MS m/e 126 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 143 ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 3,88 (s, 3H), 6,69 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 7,23 (dd, $J = 3,0, 9,0$ Hz, 1H), 7,78 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H). Analýza pro $\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_2$ vypočteno: 57,59 % C, 5,64 % H, 11,19 % N; nalezeno: 57,55 % C, 5,62 % H, 11,13 % N.

119c. 6-Methoxy-3-[1-Cbz-2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin

3-Hydroxy-6-methoxypyridin z příkladu 119b (514 mg, 4,1 mmol), 1-Cbz-2-(R)-azetidinemethyl tosylát (1,2 g, 3,26 mmol) z příkladu 98a a KOH (335 mg, 6 mmol) byly smíseny v DMF (10 ml), 3 hodiny zahřívány na 80°C, ochlazený na teplotu místnosti a nality do roztoku Na₂CO₃ (100 ml). Vzniklá směs byla extrahována etherem, spojené Et₂O extrakty byly promyty 50 %-ní solankou a vysušeny (MgSO₄). Rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu, surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan/AcOEt 9:1 až 7:3) a poskytl 672 mg (67,2 %) titulní sloučeniny. ¹H NMR (DMSO-d₆, 120°C, 300 MHz) δ 2,20 (m, 1H), 2,37 (m, 1H), 2,82 (s, 3H), 3,82-3,88 (m, 2H), 4,13 (m, 1H), 4,27 (m, 1H), 4,52 (s, 1H), 5,02 (s, 1H), 6,67 (d, J = 11 Hz, 1H), 7,26-7,32 (m, 6H), 7,83 (d, J = 3 Hz, 1H); MS (DCI/NH₃) m/e 331 (M+H)⁺, 348 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₁₈H₂₀N₂O₄ vypočteno: 65,84 % C, 6,14 % H, 8,53 % N; nalezeno: 65,98 % C, 6,23 % H, 8,51 % N.

119d. 6-Methoxy-3-[2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

6-Methoxy-3-[1-Cbz-2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin z příkladu 119c (300 mg, 0,91 mmol) byl smísen s 10 % Pd/C (50 mg) ve 30 ml EtOH a směs byla 16 hodin míchána v atmosféře vodíku. Směs byla sfiltrována a zkoncentrována. Surová volná base byla přeměněna na sůl působením kyseliny p-toluensulfonové v ethylacetátu. Směs byla zkoncentrována, zbytek byl rozmíchan s etherem a produkt byl překrystalován ze směsi ethylacetát/ether za vzniku 167 mg (33,9 %) titulní sloučeniny. B. t. 139-142°C. ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,39 (s, 6H), 2,60-2,70 (m, 2H), 2,98 (s, 3H), 4,04-4,15 (m, 2H), 4,36 (d, J = 4,5 Hz, 2H), 4,95 (m, 1H), 7,08 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 8,0 Hz, 4H), 7,68 (d, J = 8,0 Hz, 4H), 7,75 (dd, J = 3,5, 9,5 Hz, 1H), 7,91 (d, J = 3,0 Hz, 1H); MS (DCI/NH₃) m/e 195 (M+H)⁺. Analýza pro C₁₀H₁₄N₂O₂ · 2 C₇H₈O₃S vypočteno: 53,52 % C, 5,61 % H, 5,20 % N; nalezeno: 53,24 % C, 5,68 % H, 5,07 % N. [α]_D +3,35° (c 1, MeOH).

Příklad 120

5-Ethoxy-3-[2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát**120a. 3-Benzyloxy-5-brompyridin**

NaH (60 % v minerálním oleji) (40,9 g ,1,0 mol) v 800 ml DMF byl ochlazen na 0°C a pomalu byl přidáván benzylalkohol (105 ml, 1,0 mol). Reakční směs byla při 20°C míchána 1 hodinu, potom byl přidán 3,5-dibrompyridin (200,4 g, 846 mmol) a směs byla míchána 16 hodin. Reakce směsi byla ukončena nasyceným roztokem NH₄Cl (500 ml), směs byla zředěna vodou a extrahována Et₂O. Spojené Et₂O extrakty byly promyty 50 %-ním solným roztokem a vysušeny (MgSO₄). Rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu a surový produkt byl překrystalován z Et₂O. Byl získán titulní produkt (161 g, 72 %): b. t. 63-68°C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 5,1 (s, 6H), 7,35-7,50 (m, 6H), 8,27-8,37 (m, 2H), MS (Cl/NH₃) m/z 264, 266 (M+H)⁺.

120b.. 3-Amino-5-benzyloxypyridin

Produkt z příkladu 120a (41,3 g, 156 mmol), bromid měďný (22,43 g, 156 mmol), MeOH (275 ml) a kapalný NH₃ (50 ml) byly smíchány do nerezového reaktoru a zahřívány na 130°C 24 hodin. Směs se nechala ochladit na teplotu okolí a pak byla zkoncentrována. Zbytek byl suspendován ve 300 ml nasyceného vodného roztoku Na₂CO₃ a extrahován CH₂Cl₂. Spojené CH₂Cl₂ roztoky byly promyty solným roztokem, vysušeny (MgSO₄) a zkoncentrovány. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan / AcOEt, 9 : 1 až 7 : 3) a byla získána titulní sloučenina (15,6 g, 50 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 5,10 (s, 6H), 7,30-7,45 (m, 6H), 8,20-8,30 (m, 2H), ,; MS (Cl/NH₃) m/z 201 (M+H)⁺.

120c. 3-Acetoxy-5-benzyloxypyridin

K bortrifluorid etherátu (9,3 ml, 75 mmol) ochlazenému na -15°C byl pod dusíkem přidán produkt z kroku 120b (10 g, 50 mmol) rozpuštěný ve 100 ml DME. Takovou rychlostí, aby teplota byla udržována pod -5°C, byl pak přidáván terc. butylnitrit (7,8 ml, 65 mmol). Po 10 minutách při -10°C byla reakce ohřáta na 5°C a 30 minut míchána. Potom byl k reakční směsi přidán pentan (200 ml), tuhá látka byla odsáta, promyta chladným etherem a rozpuštěna v acetanhydridu (150 ml). Vzniklý roztok byl zahříván na 70°C dokud nepřestal unikat N₂. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu, zbytek byl suspendován v nasyceném vodném roztoku Na₂CO₃ (150 ml) a extrahován Et₂O. Et₂O extrakt byl vysušen (Na₂SO₄), rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a surový produkt byl chromatografován (silikagel; směsí hexan/AcOEt 6:1) a poskytl 2,0 g titulní sloučeniny; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) , δ 2,35 (s, 3H), 5,15 (s,

2H), 7,15 (t, 1H, $J = 3$ Hz), 7,35-7,42 (m, 5H), 8,15 (d, 1H, $J = 3$ Hz), 8,30 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz); MS (CI/NH₃) m/z 244 (M+H)⁺, 261 (M+NH₄)⁺.

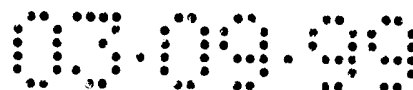
120d. 3-Benzoyloxy-5-hydroxypyridin

Produkt z kroku 120c (2 g, 8,4 mmol) byl rozpuštěn v methanolu (15 ml) a byl přidán K₂CO₃ (600 mg, 4,34 mmol). Po spotřebování výchozího materiálu byl roztok neutralisován vodným 1 N HCl. Směs byla extrahována Et₂O, organické extrakty byly vysušeny (Na₂SO₄) a zkoncentrovány. Surový produkt byl rozmíchán a hexanem a poskytl titulní sloučeninu (1,3 g, 82 %) jako bílou tuhou látku: ¹H NMR (DMSO, 300 MHz) δ 5,15 (s, 2H), 6,80 (t, 1H, $J = 3$ Hz), 7,35-7,42 (m, 5H), 7,75 (d, 1H, $J = 3$ Hz), 7,85 (d, 1H, $J = 3$ Hz), 9,95 (br s., 1H); MS (CI/NH₃) m/z 202 (M+H)⁺, 219 (M+NH₄)⁺.

120e. 5-Benzoyloxy-3-[1-Boc-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin

1-Boc-2-(S)-azetidinylmethanol (36,5 g, 0,195 mol) byl rozpuštěn ve 195 ml CH₂Cl₂ a pak byl přidán triethylamin (35,6 ml, 0,255 mol) a toluensulfonylchlorid (48,5 g, 0,254 mol). Vzniklá směs byla 16 hodin míchána při teplotě místnosti. Potom byl rychle přidán 10 %-ní roztok NaOH a směs byla jednu hodinu míchána. Po rozdělení fází byla vodní fáze extrahována dalším CH₂Cl₂ a po připojení k organické fázi bylo promyto roztokem NaHCO₃ a solankou. Vzniklý roztok byl vysušen (MgSO₄), sfiltrován a ve vakuu zkoncentrován za vzniku 63,1 g Boc-(S)-toluensulfonyloxy-methylazetidinu (94,8 %).

Dále bylo pak na roztok 3-benzoyloxy-5-hydroxypyridinu (350 mg, 1,74 mmol, z kroku 120d) v DMF (20 ml) působeno tuhým KOH (154 mg, 2,74 mmol) a roztok byl míchán 30 minut při 80°C. K této směsi byl rychle přidán Boc-(S)-toluensulfonyloxy-methylazetidin (585 mg, 1,74 mmol) rozpuštěný v DMF (5 ml) a směs byla při 80°C 16 hodin míchána. Koncentrováním ve vakuu byl ze směsi odstraněn DMF, zbytek byl zředěn vodou a extrahován AcOEt. Extrakty byly spojeny, vysušeny (Na₂SO₄), sfiltrovány a koncentrovány ve vakuu na 800 mg surového produktu. Tento materiál byl chromatografován (silikagel; hexan/AcOEt 10:1) a poskytl titulní sloučeninu (575 mg, 90 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,40 (s, 9H), 2,26-2,30 (m, 2H), 3,90-3,94 (m, 2H), 4,16 (m, 1H), 4,35 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 5,10 (s, 2H), 6,95 (s, 1H), 7,40-7,46 (m, 5H), 8,20 (br s, 2H); MS (CI/NH₃) m/e 371 (M+H)⁺.

**120f. 5-Hydroxy-3-[1-Boc-2-(S)-azetidylmethoxy]pyridin**

Produkt z kroku 120e (5,0 g, 13,51 mmol v MeOH (25 ml) byl v atmosféře vodíku za přítomnosti 10 % Pd/C (200 mg) 4 hodiny míchán. Směs byla sfiltrována a po zkoncentrování bylo získáno 3,4 g (92 %) titulní sloučeniny jako bezbarvý olej: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,40 (s, 9H), 2,30 (m, 2H), 3,90 (t, J = 9 Hz, 2H), 4,10 (m, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 6,85 (m, 1H), 7,85 (m, 1H), 7,95 (m, 1H); MS (CI/NH_3) m/e 281 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

120g. 5-Ethoxy-3-[1-Boc-2-(S)-azetidylmethoxy]pyridin

Roztok 5-hydroxy-3-[1-Boc-2-(S)-azetidylmethoxy]pyridinu (500 mg, 1,78 mmol), z kroku 120f) v dimethylformamidu (15 ml) byl podroben působení tuhého KOH (170 mg, 107 mmol) a míchán při teplotě místnosti 30 minut. K této směsi byl rychle přidán ethyl p-toluensulfonát (430 mg, 2,14 mmol) a výsledná směs byla při 80°C míchána přes noc. Pro odstranění dimethylformamidu byla směs zkoncentrována, zbytek byl zředěn vodou a extrahován AcOEt. Organické extrakty byly spojeny, vysušeny (MgSO_4), sfiltrovány a koncentrovány ve vakuu na 1,0 g surového produktu. Tento materiál byl chromatografován (silikagel; hexan/AcOEt 1:1) a poskytl 537 mg (98 %) titulní sloučeniny: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,40 (s, 9H), 1,42 (t, J = 6 Hz, 3H), 2,30 (m, 2H), 3,92 (t, J = 9 Hz, 3H), 4,05 (t, J = 6 Hz, 3H), 4,16 (m, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 6,80 (m, 1H), 7,95 (m, 2H); MS (CI/NH_3) m/e 309 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

120h. 5-Ethoxy-3-[2-(S)-azetidylmethoxy]pyridin

K 5-ethoxy-3-[1-Boc-2-(S)-azetidylmethoxy]pyridinu z kroku 120g (540 mg, 1,75 mmol) byla při 0°C přidána trifluoroctová kyselina (1,5 ml) v methylenchloridu (15 ml). Roztok byl míchán 2 hodiny, ponechán ohřát na teplotu místnosti, pak bylo vodným 10 %-ním NaOH adjustováno pH 11 a provedena extrakce s CH_2Cl_2 . Organická vrstva byla vysušena nad MgSO_4 a zkoncentrována. Zbytek byl chromatografován (silikagel; $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 95:5) a poskytl volnou basi titulní sloučeniny (300 mg, 82 %): ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,42 (t, J = 6 Hz, 3H), 2,18 (m, 2H), 2,95 (m, 1H), 3,58 (m, 2H), 4,02 (m, 2H), 4,15 (q, J = 6 Hz, 2H), 6,75 (t, J = 3 Hz, 1H), 7,95 (t, J = 3 Hz, 2H); MS (CI/NH_3) m/e 209 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

120i. 5-Ethoxy-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Sloučenina z kroku 120h (100 mg, 0,484 mmol) byla převedena na sůl působením p-toluensulfonové kyseliny v ethanolu za vzniku titulní sloučeniny (125 mg): b. t. 105°C (rozklad); $[\alpha]_D^{25} -6,8^\circ$ ($c=0,47$, MeOH). ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,40 (t, $J = 6$ Hz, 3H), 2,35 (s, 3H), 2,50 (m, 2H), 3,95 (q, $J = 6$ Hz, 2H), 4,15 (m, 2H), 4,38 (d, $J = 3$ Hz, 2H), 4,98 (br, 1H), 6,95 (d, $J = 3$ Hz, 1H), 7,10 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 7,65 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 7,90 (d, $J = 3$ Hz, 1H), 8,02 (d, $J = 3,0$ Hz, 1H); MS (Cl/NH_3) m/z 209 ($\text{M}+\text{H}$)⁺. Analýza pro $\text{C}_{11}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 1,2 \text{ TsO H} \cdot 0,8 \text{ H}_2\text{O}$ vypočteno: 54,28 % C, 6,39 % H, 6,53 % N; nalezeno: 54,60 % C, 6,29 % H, 6,20 % N.

Příklad 121**2-Chlor-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid****121a. 2-Chlor-3-[1-BOC-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin**

K roztoku trifenylofosfinu (1,73 g, 6,6 mmol) v THF (26 ml) byl přidán při 0°C diethyl azodikarboxylát (1,04 ml, 6,6 mmol) a reakční směs byla míchána 15 minut. Potom byl přidán 1-BOC-2-(S)-azetidinmethanol (1,03 g, 5,5 mmol) a 2-chlor-3-pyridinol (785 mg, 6,0 mmol, Aldrich Chemical Co.). Reakční směs se nechala pomalu ohřát na teplotu místnosti a byla míchána přes noc. Bylo odstraněno rozpouštědlo a zbytek byl rozpuštěn v ethylacetátu. Roztok byl promyt nasyceným vodným roztokem K_2CO_3 a solankou, byl vysušen nad MgSO_4 a zkoncentrován. Zbytek byl chromatografován na sloupci silikagelu promýváním se směsí ethylacetátu a hexanu (1:4 až 1:1). Byla získána titulní sloučenina (611 mg). MS (DCI/NH_3) m/z 299 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

121b. 2-Chlor-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

K 2-chlor-3-[1-BOC-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridinu z kroku 121a (469 mg, 1,66 mmol) byla při 0°C přidána TFA (5ml) v methylenchloridu (5 ml) a směs byla 30 minut míchána. Těkavé složky byly odstraněny ve vakuu. Zbytek byl zreagován s nasyceným roztokem K_2CO_3 , potom extrahován methylenchloridem, vysušen (MgSO_4) a zkoncentrován. Zbytek byl chromatografován na sloupci silikagelu promýváním se

směsí chloroform : methanol : NH_4OH (10:1:0 až 10:1:0,5). Byla získána volná base titulní sloučeniny (217 mg).

Base (156 mg) byla rozpuštěna v methylenchloridu (3 ml) a přeměněna na sůl působením etheru nasyceného HCl . Bylo získáno 142 mg titulní sloučeniny: b.t. 155-156°C; MS (DCI/NH_3) m/z 199, 201 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 216 ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺; ^1H NMR (D_2O , 300 MHz) δ 2,7-2,79 (m, 2H), 4,13-4,24 (m, 2H), 4,44-4,58 (m, 2H), 4,99 (m, 1H), 7,45 (dd, J = 4,8, 8,1 Hz, 1H), 7,59 (dd, J = 1,5, 8,2 Hz, 1H), 8,03 (dd, J = 1,4, 4,5 Hz, 1H). Analýza pro $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{N}_2\text{OCl} \cdot 1,0 \text{ HCl}$ vypočteno: 45,98 % C, 5,14 % H, 11,91 % N; nalezeno: 45,76 % C, 5,09 % H, 11,64 % N.

Příklad 122

2-Fluor-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

122a. 2-Fluor-3-hydroxypyridin

2-Amino-3-hydroxypyridin (8,25 g, 75 mmol, Aldrich) byl rozpuštěn v pyridin.fluorovodíku (100 g, Aldrich) a ochlazen na 0°C. Potom byl během 30 minut přidáván dusitan sodný (5,4 g, 78 mmol). Roztok byl dalších 30 minut míchán a potom pomalu při 0°C nalit do 300 ml 25 %-ního NaOH . Vodná směs byla sfiltrována a pak extrahována CH_2Cl_2 (6 x 75 ml). Vodný roztok byl 20 %-ním vodným NaOH adjustován na pH 6 a extrahován AcOEt (6x 100 ml). Potom byly spojené AcOEt extrakty vysušeny nad MgSO_4 a zkoncentrovány. Zbytek byl chromatografován (silikagel; hexan AcOEt 9:1 až 6:4) a poskytl 3,93 g titulní sloučeniny. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7,75 (m, 1H), 7,37 (m, 1H), 7,11 (m, 1H); MS (DCI/NH_3) m/z 114 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 131 ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺.

122b. 2-Fluor-3-[1-Cbz-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin

Bylo postupováno podle příkladu 17a tak, že 5-brom-9-chlorpyridin-3-ol a 1-BOC-2-(S)-azetidinmethanol byly nahrazeny 2-fluor-3-hydroxypyridinem respektive 1-Cbz-2-(S)-azetidinmethanolem. Výtěžek 56 %. ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 130°C, 300 MHz) δ 7,72 (m, 1H), 7,55 (m, 1H), 7,30-7,20 (m, 5H), 7,17 (m, 1H), 5,01 (m, 1H), 4,56 (m, 1H), 4,41 (dd, J = 11,11 Hz, 1H), 4,5 (dd, J = 10,68 Hz, 1H), 3,90-3,85 (t, J = 7,26 Hz, 2H), 2,42 (m, 1H), 2,25 (m, 1H). MS (DCI/NH_3) m/e 317 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 334 ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺.

122c. 2-Fluor-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

2-Fluor-3-[1-Cbz-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin (krok 122b, 1,1 g, 34,8 mmol) byl smísen se 100 mg 5 % Pd/C v EtOH (25 ml) a 16 hodin míchán v atmosféře H₂. Směs byla sfiltrována a zkoncentrována, surový produkt byl chromatografován (silikagel; CHCl₃ 99:1 až 94:6) a dal 480 mg (76 %) volné base. Base byla převedena na sůl působením 1 M chlorovodíku v etheru. Sůl byla třikrát překrystalována z EtOH/AcOEt/Et₂O a bylo získáno 150 mg titulní sloučeniny. ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 7,81 (m, 1H), 7,67 (m, 1H), 7,35 (m, 1H), 4,97 (m, 1H), 4,5-4,48 (t, J = 2,04 Hz, 2H), 4,21-4,06 (m, 2H), 2,75-2,66 (tt, J = 6,95 Hz, 2H). MS (Cl/NH₃) m/z 183, 200 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₉H₁₁N₂OF · HCl · 0,3 H₂O vypočteno: 48,24 % C, 5,56 % H, 12,50 % N; nalezeno: 48,30 % C, 5,56 % H, 12,15 % N.

Příklad 123**6-Kyano-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid****123a. 3-Amino-6-brompyridin**

Směs 2-brom-5-nitropyridinu (30,75 g, 151,2 mmol), vody (250 ml) a octové kyseliny (110 ml) byla zahřáta na 45°C. Takovou rychlostí, aby se teplota udržovala pod 53°C, byl přidáván železný prach (24,5 g, 439 mmol) a potom byla směs při 48°C ± 5°C míchána 1 hodinu. Směs byla ochlazená na teplotu místnosti, sfiltrována pomocí křemelinového filtru, který byl promyt ethylacetátem. Vrstvy byly odděleny a vodná fáze byla extrahována ethylacetátem. Spojené organické frakce byly promyty nasyceným roztokem Na₂CO₃, solným roztokem, vysušeny nad MgSO₄ a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Zbytek byl chromatografován (silikagel; hexan / AcOEt, 100:0 až 50:50) a bylo získáno 20,4 g titulní sloučeniny : MS (Cl/NH₃) m/e 173 (M+H)⁺, 190 (M+NH₄)⁺; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 6,86-6,90 (dd, 1H, J = 8,5, 2,4 Hz), 7,21-7,23 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,85-7,86 (d, 1H, J = 3 Hz).

123b. 3-Acetoxy-6-brompyridin

K 25,6 ml bortrifluorid etherátu (208 mmol, Aldrich) ochlazenému na -15°C bylo pod dusíkem přidáno 18 g (104 mmol) 3-amino-6-brompyridinu (z kroku 123a nahoře)

rozpuštěného v 35 ml dimethoxyethanu. Potom byl přidáván terc. butylnitrit (14,7 ml, 125 mmol, Aldrich) takovou rychlostí, aby teplota byla udržována pod -0°C . Pro usnadnění míchání byl potom přidán dimethoxyethan (65 ml) a methylenchlorid (60 ml). Po 10 minutách při -10°C se reakce nechala ohřát na 5°C a byla 30 minut míchána. Potom byl k reakční směsi přidán pentan (400 ml), tuhá látka byla odsáta, promyta chladným etherem, vysušena na vzduchu a rozpuštěna ve 125 ml acetanhydridu. Vzniklý roztok byl 1 hodinu zahříván na $100^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu, zbytek byl suspendován v nasyceném vodném roztoku Na_2CO_3 a extrahován ethyletherem. Etherový extrakt byl vysušen nad MgSO_4 , rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a surový produkt byl chromatografován na silikagelu při vymývání 100:0 až 60:40 směsí hexan/ethylacetát a poskytl 13,6 g titulní sloučeniny; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ 8,20 (m, 1H), 7,51 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 7,38 (d, $J = 2,9, 7,5$ Hz, 1H), 2,35 (s, 3H). MS (CI/NH_3) m/e 216 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 233 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$.

123c. 2-Brom-5-hydroxypyridin

Produkt z kroku 123b (12,8 g, 60 mmol) byl rozpuštěn v 15 %-ním vodném NaOH (50 ml) při 0°C , roztok se nechal ohřát teplotu místnosti a byl 60 minut míchán. Po spotřebování výchozího materiálu byl roztok neutralisován HCl. Vodná směs byla extrahována ethylacetátem. Organické extrakty byly promyty vodou a solankou, pak vysušeny (MgSO_4), rozpouštědlo bylo odpařeno a bylo získáno 9,8 g titulní sloučeniny: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ 7,12-7,16 (dd, 1H, $J = 3,2$ Hz), 7,36-7,39 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 8,04-8,05 (d, 1H, $J = 2,4$ Hz). MS m/e 174 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

123d. 6-Brom-3-[1-Boc-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin

Produkt z příkladu 123c byl zreagován s 1-Boc-2-(S)-azetidinylmethanolem podle postupu popsaného v příkladu 17a. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,42 (s, 9H), 2,20-2,43 (m, 2H), 4,88 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H), 4,17 (dd, $J = 3,0, 9,0$ Hz, 1H), 4,30-4,39 (m, 1H), 4,43-4,58 (m, 1H), 7,42 (t, $J = 2,0$ Hz, 1H), 8,25-8,32 (m, 2H). MS (DCI/NH_3) m/e 343 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 360 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$.

123e. 6-Kyano-3-[1-BOC-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin

K produktu z příkladu 123d (1,22 g, 3,60 mmol) v odplyněném DMF (10 ml) byl přidán kyanid zinečnatý (0,295 g, 2,50 mmol) a tetrakis(trifenylfosfin)palladium (0,249 g, 0,20 mmol) a směs byla 5 hodin zahřívána na 80°C. Na teplotu místnosti ochlazená směs byla nalita do nasyceného roztoku bikarbonátu sodného. Vodná vrstva byla extrahována AcOEt (400 ml), vysušena (MgSO₄) a zkoncentrována ve vakuu. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; AcOEt/hexan 1:1) a vznikl bezbarvý olej: ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,42 (s, 9H), 2,22-2,42 (m, 2H), 3,82-3,87 (m, 2H), 3,18 (dd, J = 3,0, 9,0 Hz, 1H), 4,38-4,45 (m, 1H), 4,48-4,60 (m, 1H), 7,32-7,58 (m, 1H), 7,62 (d, J = 11,5 Hz, 1H), 8,42 (d, J = 4,0 Hz, 1H). MS (DCI/NH₃) m/e 290 (M+H)⁺, 307 (M+NH₄)⁺.

123f. 6-Kyano-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

Produkt z příkladu 123e byl zbaven chránicí skupiny a přeměněn na hydrochlorid postupem posaným v příkladu 17b: ¹H NMR (CDCl₃) δ 2,66-2,74 (m, 2H), 4,02-4,19 (m, 2H), 4,50 (d, 2H, J = 4,4 Hz), 4,84-4,99 (m, 1H), 7,63 (dd, 1H, J = 3,0, 11,5 Hz), 7,97 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,48 (d, J = 3,0 Hz, 1H). MS (CI/NH₃) m/z 190,00 (M+H)⁺, 207,00 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₁₀H₁₁N₃O · 1,0 HCl · 1 Et₂O · 0,1 H₂O vypočteno: 53,18% C, 5,66 % H, 17,87 % N; nalezeno: 53,07 % C, 5,46 % H, 17,87 % N.

Příklad 124**3-[2-(R)-azetidinylmethoxy]-5-brom-6-methylpyridin tosylát****124a. 5-Brom-6-methyl 3-[1-BOC-2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin**

Směs 5-brom-3-hydroxy-6-methylpyridinu (1,10 g, 5,85 mmol) a KOH (0,52 g, 9,28 mmol) v DMF (20 ml) byla 1 hodinu zahřívána na 80°C a byl přidán roztok 1-BOC-2-(R)-toluensulfonyloxymethylazetidinu (2,0 g, 5,86 mmol) v DMF (10 ml). Reakční směs byla přes noc zahřívána na 80°C. Po ochlazení na teplotu místnosti byl hnědý roztok zředěn AcOEt (150 ml), promyt destilovanou vodou a solankou, vysušen (Na₂SO₄) a ve vakuu zkoncentrován. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; AcOEt/hexan 1:1) a vznikl bezbarvý olej (1,18 g, 56 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,43 (s, 9H), 2,30 (m, 2H), 2,59 (s, 3H), 3,88 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 4,10 (dd, 1H, J =

7,2 Hz), 4,29 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 7,44 (d, 1H, $J = 2,7$ Hz), 8,18 (d, 1H, $J = 2,7$ Hz). MS (DCI/NH₃) m/e 357 (M)⁺.

124b. 3-[2-(R)-Azetidinylmethoxy]-5-brom-6-methylpyridin

Roztok sloučeniny z příkladu 124a (0,5 g, 1,40 mmol) v CH₂Cl₂ (6 ml) byl ochlazen ledovou lázní na 0°C a kapací děličkou byla po kapkách přidána trifluoroctová kyselina (3 ml). Reakční směs byla 2 hodiny při 0°C míchána. Směs byla ve vakuu zkoncentrována, vzniklý zbytek byl vzat do AcOEt (40 ml) a promyt vodným 1 M K₂CO₃. Alkalické promývací kapaliny byly spojeny, nasyceny solankou a znovu několikrát extrahovány AcOEt, aby se získal další produkt. Spojené organické extrakty byly vysušeny (Na₂SO₄) a zkoncentrovány ve vakuu. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; CH₂Cl₂:MeOH:NH₄OH, 80:19:1) a vznikl bezbarvý olej (0,33 g, 92 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 2,30 (m, 3H), 2,57 (s, 3H), 3,48 (m, 1H), 3,71 (q, 2H, $J = 8,0$ Hz), 4,01 (m, 2H), 4,28 (m, 1H), 7,41 (d, 1H, $J = 2,7$ Hz), 8,15 (d, 1H, $J = 2,7$ Hz). MS (DCI/NH₃) m/e 257 (M)⁺.

124c. 3-[2-(R)-Azetidinylmethoxy]-5-brom-6-methylpyridin tosylát

K roztoku 3-[2-(R)-azetidinylmethoxy]-5-brom-6-methylpyridinu (0,32 g, 1,24 mmol) z příkladu 124b v EtOH (5 ml) byl přidán monohydrát kyseliny p-toluensulfonové (0,23 g, 1,21 mmol). Reakční směs byla při teplotě místnosti 30 minut míchána a zkoncentrována ve vakuu. Zbytek byl vzat do MeOH (2 ml) a rozmíchán s etherem. Precipitát byl odfiltrován, vysušen a poskytl tuhou bílou látku (0,48 g, 91 %): b.t. 142-144°C; $[\alpha]_D^{23} +5,2^\circ$ (c 0,5, MeOH). ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,39 (s, 3H), 2,55 (m, 3H), 2,67 (q, 2H, $J = 8,5$ Hz), 4,09 (m, 2H), 4,37 (d, 2H, $J = 4,4$ Hz), 4,92 (m, 1H), 7,35 (d, 2H, $J = 7,7$ Hz), 7,68 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 7,75 (d, 1H, $J = 2,8$ Hz), 8,16 (d, 1H, $J = 2,7$ Hz); MS (DCI/NH₃) m/z 257 (M+H)⁺. Analýza pro C₁₀H₁₃BrN₂O . TsOH vypočteno: 47,56 % C, 4,93 % H, 5,62 % N; nalezeno: 47,42 % C, 5,13 % H, 6,59 % N.

Příklad 125

5-Brom-6-fluor-3-[2-(R)-azetidinylmethoxy]pyridin tosylát

Volná base titulní sloučeniny byla připravena podle postupů popsanych v příkladu 31 tak, že 1-terc.butyloxy-(2S)-azetidinmethanol tam uvedený byl nahrazen enantiomerním materiálem, 1-terc.butyloxy-(2R)-azetidinmethanolem. Tosylát byl připraven přidáním ekvivalentu monohydrátu kyseliny p-toluensulfonové k ethanolovému roztoku 5-[2-(R)-azetidinylmethoxy]-3-brom-2-fluorpyridinu. Těkavé komponenty byly odstraněny ve vakuu a zbytek byl rozmíchán s Et₂O, pak vysušen ve vakuu a poskytl titulní sloučeninu jako bílou tuhou látku: b.t. 238-240°C; $[\alpha]_D^{21}$ 8,4° (c 0,5, MeOH); ¹H NMR (DMSO-*d*₆) δ 2,29 (s, 3H), 2,39 (m, 1H), 2,52 (m, 1H), 3,93 (m, 2H), 4,36 (m, 1H), 4,43 (m, 1H), 4,73 (m, 1H), 7,11 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 7,48 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 8,00 (m, 1H), 8,08 (dd, 1H, J = 2,4, 4,9 Hz), 8,85 (br s, 2H); MS (Cl/NH₃) m/z 261, 263 (M+H)⁺. Analýza pro C₉H₁₀BrFN₂O . 1,7 TsOH . 0,5 H₂O vypočteno: 44,17 % C, 4,44 % H, 5,10 % N; nalezeno: 44,07 % C, 4,08 % H, 4,70 % N.

Příklad 126

5-Ethyl-6-fluor-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin**126a. 3-Brom-2-fluor-5-nitropyridin**

3-Brom-2-chlor-5-nitropyridin (119 g, 0,500 mol, připravený podle V. Kocha a S. Schnatterera, *Synthesis*, **1990**, 497-498), fluorid draselný (79,5 g, 1,37 mol) a tetrafenylfosfoniumbromid (109 g, 0,260 mol) byla smíseny v acetonitrilu (1,5 l) a 4 dny zahřívány k varu dokud GLC neukázala úplné spotřebování 3-brom-2-chlor-5-nitropyridinu. Ve vakuu byl objem směsi zredukován na 750 ml a potom byla zbylá kapalina zředěna 2 l etheru. Směs byla sfiltrována a filtrát zkoncentrován. Zbytek byl rozmíchán s horkým hexanem a spojené hexanové extrakty zkoncentrovány poskytl 62,8 g (54 %) titulní sloučeniny: ¹H NMR (DMSO-*d*₆ 300 MHz) δ 9,14 (m, 2H).

126b. 5-Amino-3-brom-2-fluorpyridin

K roztoku 3-brom-2-fluor-5-nitropyridinu z příkladu 126a nahoře (5,0 g, 23 mmol) v MeOH (100 ml) byl přidán dihydrát chloridu cínatého. Směs byla zahřívána k varu 3 hodiny, potom ochlazena na teplotu okolí a zkoncentrována ve vakuu. Zbytek byl zředěn nasyceným vodným roztokem NaHCO₃ a AcOEt a vzniklá emulze byla sfiltrována. Filtrát byl nalit do dělicí nálevky a vrstvy byly rozděleny. Vodná vrstva byla extrahována AcOEt. Spojené organické extrakty byly promyty solankou, vysušeny (MgSO₄) a zkoncentrovány. Po vyčistění chromatografií (silikagel; hexan/AcOEt, 70:30) bylo získáno 3,61 g (83 %) titulní sloučeniny jako žluté tuhé látky : b. t. 91-92°C; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ 7,15 (dd, J = 2,5, 7,5 Hz, 1H), (dd, J = 2,0, 2,5 Hz); MS (DCI/NH₃) m/z 191, 193 (M+H)⁺, 208, 210 (M+NH₄)⁺.

126c. 5-Amino-2-fluor-3-vinylpyridin

K míchanému roztoku 5-amino-3-brom-2-fluorpyridinu z kroku 126b nahoře (3,25 g, 17,0 mmol) v toluenu (20 ml) byl přidán tributyl(vinyl)cín (Aldrich, 7,64 g, 20,4 mmol), potom tetrakis(trifenylfosfin) palladium (Aldrich, 0,63 g, 1,7 mmol). Reakční směs byla 24 hodin zahřívána na 100°C. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a zbytek byl čistěn sloupcovou chromatografií (silikagel; AcOEt/hexan, 4:6). Požadovaný materiál byl získán jako béžová tuhá látka (2,30 g, 98 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 3,61 (br s, 2H) 5,44 (d, J = 11,5 Hz, 1H), 5,83 (d, J = 17,5 Hz, 1H), 6,66 (m, 1H), 7,18 (dd, J = 3,0 Hz, 5,0 Hz 1H), 7,52 (m, 1H); MS (CI/NH₃) m/z 139 (M+H)⁺, 156 (M+NH₄)⁺.

126d. 5-Amino-3-ethyl-2-fluorpyridin

Roztok 5-amino-2-fluor-3-vinylpyridinu z kroku 126c nahoře (2,30 g, 16,6 mmol) v MeOH (50 ml) byl přidán k suspensi 10 % palladia na aktivním uhlí (Aldrich, 0,10 g) v MeOH (75 ml). Směs byla na 48 hodin umístěna do atmosféry H₂ (balón). Katalysátor byl odstraněn filtrací, rozpouštědlo bylo odpařeno a byla získána titulní sloučenina jako béžová tuhá látka (2,31 g, 99 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,22 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 2,58 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 6,96 (dd, J = 3,0, 5,1 Hz, 1H), 7,45 (m, 1H); MS (CI/NH₃) m/z 141 (M+H)⁺, 158 (M+NH₄)⁺.

126e. 5-Acetoxy-3-ethyl-2-fluorpyridin

K míchanému roztoku 5-amino-3-ethyl-2-fluorpyridinu z kroku 126d nahoře (2,30 g, 16,4 mmol) ve směsi dimethoxyethan:CH₂Cl₂ 3:1 (50 ml) byl při -10°C pomalu přidáván bortrifluorid etherát (Aldrich, 4,25 ml, 34,5 mmol). V průběhu 15 minut byl přidáván terc. butylnitrit (Aldrich, 2,34 ml, 19,7 mmol) tak, aby byla teplota udržována pod -5°C. Reakce byla ohřívána na 0°C a byla 30 minut míchána. K reakční směsi byl přidán pentan (500 ml) a tuhý diazonium fluoroborát byl odfiltrován. Diazoniová sůl byla rozpuštěna v acetanhydridu (40 ml) a 2 hodiny zahřívána na 95°C (vývin dusíku byl zaznamenán při 85°C). Rozpouštědlo bylo odpařeno, zbytek byl rozpuštěn v Et₂O (250 ml), promyt nasyceným vodným roztokem NaHCO₃ (2 x 150 ml). Spojené organické fáze byly promyty solankou (50 ml), vysušeny (MgSO₄) a zkoncentrovány. Surový produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií (silikagel; AcOEt/hexan 4:6) a poskytl titulní sloučeninu jako žlutý olej (2,22 g, 74 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ 1,26 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 2,32 (s, 3H), 2,67 (q, J = 7,0 Hz, 2H), 7,35 (dd, J = 2,5, 8,0 Hz, 1H), 7,84 (m, 1H); MS (CI/NH₃) m/z 184 (M+H)⁺, 201 (M+NH₄)⁺.

126f. 3-Ethyl-2-fluor-5-hydroxypyridin

K míchanému roztoku 5-acetoxy-3-ethyl-2-fluorpyridinu z kroku 126e nahoře (2,22 g, 12,1 mmol) v MeOH (50 ml) byl přidán K₂CO₃ (0,84 g, 6,10 mmol). Reakční směs se nechala míchat 24 hodin při teplotě místnosti. Rozpouštědlo bylo odpařeno a zbytek byl zředěn Et₂O (100 ml) a vodou (100 ml). Fáze byly rozděleny, vodná fáze byla neutralisována (pH 7) 1 N vodným HCl a extrahována diethyletherem (2 x 100 ml). Spojené etherové extrakty byly promyty solankou (50 ml), vysušeny (MgSO₄) a rozpouštědlo bylo odpařeno. Surový produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií (silikagel; AcOEt/hexan 4:6) a poskytl požadovaný materiál jako našedlou tuhou látku (1,18 g, 69 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ 1,24 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 2,63 (q, J = 7,5 Hz, 2H), 7,24 (dd, J = 2,0, 5,0 Hz, 1H), 7,62 (m, 1H); MS (CI/NH₃) m/z 142 (M+H)⁺, 159 (M+NH₄)⁺.

126g. 5-[1-Terc. butyloxy-(2S)-azetidinylmethoxy]-3-ethyl-2-fluorpyridin

K roztoku 3-ethyl-2-fluor-5-hydroxypyridinu z příkladu 126f (0,53 g, 3,8 mmol) v DMF (10 ml) byl přidán práškový hydroxid draselný (JT Baker, 0,34 g, 6,1 mmol) a reakční směs byla při teplotě místnosti míchána 1,5 hodiny, dokud se KOH nerozpustil. Pak byl přidán (S)-1-(terc.butyloxykarbonyl)-2-(p-toluensulfonyl-

oxymethyl)azetidin z příkladu 10c (1,28 g, 3,8 mmol) a reakční směs byla 18 hodin zahřívána na 80°C. Po ochlazení na teplotu okolí byl roztok zředěn vodou (50 ml) a extrahován AcOEt (3 x 30 ml). Spojené organické extrakty byly promyty solankou (25 ml), vysušeny (MgSO₄) a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Surový produkt byl vyčištěn chromatografií (silikagel; AcOEt/hexan 3:7) a poskytl titulní sloučeninu jako žlutý olej (0,93 g, 79 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ 1,23 (t, J = 7,7 Hz, 3H), 1,42 (s, 9H), 2,33 (m, 2H), 2,62 (q, J = 7,7 Hz, 2H), 3,90 (m, 2H), 4,11 (dd, J = 3,0, 7,0 Hz, 2H), 4,29 (m, 1H), 4,51 (m, 1H), 7,25 (m, 1H), 7,68 (m, 1H); MS (CI/NH₃) m/z 311 (M+H)⁺, 328 (M+NH₄)⁺.

126h. 5-[(2S)-azetidinylmethoxy]-3-ethyl-2-fluorpyridin tosylát

Roztok zkondenzovaného produktu z kroku 126g nahoře (0,93 g, 3,0 mmol) byl rozpuštěn v suchém CH₂Cl₂ (10 ml) a ochlazen na 0°C. Byla přidána trifluoroctová kyselina (Aldrich, 10 ml) a roztok se nechal 1 hodinu míchat při 0°C. Reakční směs byla opatrně nalita do nasyceného vodného NaHCO₃ (50 ml) a extrahována AcOEt (3 x 30 ml). Spojené etherové extrakty byly promyty solankou (25 ml), vysušeny (MgSO₄) a rozpouštědlo bylo odpařeno. Surový produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií (silikagel; MeOH/CH₂Cl₂ 1:9, potom CHCl₃/MeOH/NH₄OH 80:20:1) a poskytl volnou basi titulní sloučeniny jako žlutý olej (0,22 g, 35 %). Olej byl rozpuštěn v EtOH, ochlazen na 0°C a byl přidán monohydrát kyseliny p-toluensulfonové (Aldrich, 0,20 g, 1,0 mmol). Po 30-ti minutovém míchání při 0°C bylo rozpouštědlo odpařeno, zbytek byl rozmíchán s Et₂O a byla získána šedobílá tuhá látka (0,27 g, 24 % z izolovaného volného aminu): b. t. 106-108°C; volná báze [α]_D²¹ -20,4° (c 0,6, CH₂Cl₂); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 1,18 (t, 3H, J = 7,5 Hz), 2,28 (s, 3H), 2,39 (m, 1H), 2,50 (m, 1H), 2,61 (q, 2H, J = 7Hz), 3,85 (m, 1H), 3,95 (m, 1H), 4,37 (m, 2H), 4,70 (m, 1H), 7,10 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,47 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,54 (dd, 1H, J = 3,5 Hz), 7,78 (m, 1H), 8,83 (br s, 2H); MS (CI/NH₃) m/z 211 (M+H)⁺, 228 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₁₁H₁₅FN₂O · 1,5 TsOH vypočteno: 55,11 % C, 5,81 % H, 6,24 % N; nalezeno: 54,94 % C, 5,86 % H, 6,23 % N.

Příklad 127

2-Chlor-3-methyl-5-[(2R)-azetidinylmethoxy]pyridin citrát

Titulní sloučenina byla připravena postupem podle příkladu 25 kroky a a b s tím rozdílem, že (S)-1-terc,butyloxykarbonyl-2-azetidinmethanol tam uvedený byl zaměněn za (R)-1-terc,butyloxykarbonyl-2-azetidinmethanol. B. t. 104-106°C; $[\alpha]_D^{25} +10,3^\circ$ (c 0,3, MeOH); MS (DCI/NH₃) m/z 213 (M+H)⁺; ¹H NMR (D₂O, 300 MHz) δ 2,27 (d, J = 10,5 Hz, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,41-2,91 (m, 8H), 4,08-4,13 (m, 2H), 4,40 (d, J = 4 Hz, 1H), 4,93 (m, 1H), 7,49 (d, J = 3,1 Hz, 1H), 7,97 (d, J = 3,1 Hz, 1H); Analýza pro C₁₀H₁₃ClN₂O · C₆H₈O₇ vypočteno: 47,45 % C, 5,19 % H, 6,92 % N; nalezeno: 47,16 % C, 5,48 % H, 7,08 % N.

Příklad 128

5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-brompyridin tosylát**128a. 5-Amino-2-brompyridin**

Směs 2-brom-5-nitropyridinu (Aldrich, 30,75 g, 151,5 mmol), vody (250 ml) a octové kyseliny (110 ml) byla zahřáta na 45°C. Takovou rychlostí, aby se teplota udržovala pod 53°C byl přidáván železný prach a potom byla směs při 48°C ± 5°C míchána 1 hodinu. Směs byla ochlazená na teplotu místnosti, sfiltrována pomocí křemelinového filtru a promytého pak ethylacetátem. Vrstvy byly odděleny a vodná fáze byla extrahována ethylacetátem. Spojené organické frakce byly promyty nasyceným roztokem Na₂CO₃, solným roztokem, vysušeny nad MgSO₄ a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Zbytek byl chromatografován na silikagelu vymýváním 100:0 až 50:50 směsí hexan : ethylacetát a bylo získáno 20,4 g titulní sloučeniny : ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 6,88 (dd, 1H, J = 8,5, 2,4 Hz), 7,22 (d, 1H, J = 8,2 Hz), 7,85 (d, 1H, J = 3 Hz). MS (CI/NH₃) m/e 173 (M+H)⁺, 190 (M+NH₄)⁺

128b. 5-Acetoxy-2-brompyridin

K 25,6 ml bortrifluorid etherátu (208 mmol, Aldrich) ochlazenému na -15°C byl pod dusíkem přidáno 18 g (104 mmol) 5-amino-2-brompyridinu z kroku 128a nahoře,

rozpuštěných v 35 ml dimethoxyethanu. Potom byl přidáván terc. butylnitrit (14,7 ml, 125 mmol, Aldrich) takovou rychlostí, aby teplota byla udržována pod 0°C. Pak byl přidán dimethoxyethan (65 ml) a methylenchlorid (60 ml). Po 10 minutách při -10°C se reakce nechala ohřát na 5°C a byla 30 minut míchána. Potom byl k reakční směsi přidán pentan (400 ml), tuhá látka byla odsáta, promyta chladným etherem, vysušena na vzduchu a rozpuštěna ve 125 ml acetanhydridu. Vzniklý roztok byl 1 hodinu zahříván na 100°C ± 5°C. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu, zbytek byl suspendován v nasyceném vodném roztoku Na₂CO₃ a extrahován ethyletherem. Etherový roztok byl vysušen nad MgSO₄, rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a surový produkt byl chromatografován na silikagelu při vymývání 100:0 až 60:40 směsí hexan/ethylacetát a poskytl 13,6 g titulní sloučeniny; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ 2,35 (s, 3H), 7,37 (dd, 1H), 7,51 (d, 1H), 8,19-8,21 (m, 1H). MS (Cl/NH₃) m/e 216 (M+H)⁺, 233 (M+NH₄)⁺.

128c. 2-Brom-5-hydroxypyridin

5-Acetoxy-2-brompyridin (12,8 g, 60 mmol) z kroku 128b byl rozpuštěn v 15 %-ním vodném NaOH (50 ml) při 0°C, roztok se nechal ohřát teplotu místnosti a byl 60 minut míchán. Po spotřebování výchozího materiálu byl roztok neutralisován 1 N HCl. Vodná směs byla extrahována ethylacetátem (3 x 200 ml). Organické extrakty byly promyty solankou (4 x 50 ml), vodou (2 x 50 ml), vysušeny (MgSO₄), rozpouštědlo bylo odpařeno a bylo získáno 9,8 g titulní sloučeniny: ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ 7,14 (dd, 1H, J = 3,2 Hz), 7,37 (d, 1H, J = 8,5 Hz), 8,04 (d, 1H, J = 2,4 Hz). MS (Cl/NH₃) m/z 174 (M+H)⁺.

128d. 5-[1-Boc-2-(R)-azetidinylmethoxy]-2-brompyridin

2-Brom-5-hydroxypyridin z kroku 128c nahoře (0,130 g, 0,75 mmol) byl zreagován s Boc-(R)-(toluensulfonyloxymethyl)azetidinem (0,255 g, 0,75 mmol) z příkladu 1 za podmínek z příkladu 1 a poskytl bezbarvý olej (0,208 g, výtěžek 81,3 %). ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,41 (s, 9H), 2,20-2,42 (m, 2H, zastíněn rozpouštědlem), 3,88 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 4,11 (dd, 1H, J = 2,9, 10,0 Hz), 4,32 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 7,16 (dd, 1H, J = 3,2, 8,7 Hz), 7,37 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,11 (d, 1H, J = 3,8 Hz). MS (Cl/NH₃) m/e 343 (M+H)⁺, 360 (M+NH₄)⁺.

128e. 5-[2-(R)-azetidinylmethoxy]-2-brompyridin tosylát

Produkt z kroku 128d (0,17 g, 0,52 mmol) byl rozpuštěn v dichlormethanu (5,6 ml) a ochlazen na 0°C. Potom byla přidána trifluoroctová kyselina (1,4 ml) a směs byla při 0°C dvě hodiny míchána. Rozpouštědla byla za sníženého tlaku odstraněna a zbytek byl vzat do solanky (25 ml) a extrahován 3:1 směsí chloroform/isopropylalkohol (3 x 20 ml). Spojené organické extrakty byly promyty solankou, vysušeny nad síranem sodným a po zkoncentrování zanechaly volnou basi jako bezbarvý olej (0,127 g, 100 %). Volná base (0,123 g, 0,506 mmol) byla rozpuštěna v ethanolu (10 ml), ochlazená na 0°C a podrobena reakci s kyselinou p-toluensulfonovou (0,096 g, 0,505 mmol). Po 30-ti minutovém míchání při 0°C, byl odehnán ethanol a byla získána titulní sloučenina jako bílá tuhá látka (0,209 g, výtěžek 100 %). B. t. 174-176°C; $[\alpha]_D^{25} +5,2^\circ$ (c 0,9, MeOH); $^1\text{H NMR}$ (DMSO, 300 MHz) δ 2,29 (s, 3H), 2,34-2,59 (m, 2H), 3,82-4,04 (m, 2H), 4,29-4,46 (m, 2H), 4,74 (m, 1H), 7,11 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz), 7,42-7,51 (m, 3H), 7,61 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz), 8,19 (d, 1H, $J = 3,4$ Hz), 8,79-8,96 (bs, 1H); MS (CI/NH₃) m/z 243 (M+H)⁺, 260 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₉H₁₁BrN₂O . TsOH vypočteno: 46,27 % C, 4,61 % H, 6,75 % N; nalezeno: 46,65 % C, 4,63 % H, 6,37 % N.

Příklad 129**5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluor-3-vinylpyridin tosylát****129a. 5-[1-Boc-2-(R)-azetidinylmethoxy]-3-ethenyl-2-fluorpyridin**

Podle postupů z příkladu 131 níže, nahrazením (S)-(1-terc.butyloxykarbonyl)-2-p-(toluensulfonyloxymethyl)azetidinu tam uvedeného jeho enantiomerem, (R)-(1-terc.butyloxykarbonyl)-2-p-(toluensulfonyloxymethyl)azetidinem z příkladu 1, byla titulní sloučenina připravena jako čirý olej ve výtěžku 76 %: $^1\text{H NMR}$ (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,42 (s, 9H), 2,24-2,42 (m, 2H), 3,92 (m, 1H), 4,13 (dd, 1H, $J = 3,0, 7,0$ Hz), 4,35 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 5,49 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 5,89 (d, $J = 18,0$ Hz, 1H), 6,75 (m, 1H), 7,47 (dd, $J = 2,7, 5,1$ Hz, 1H), 7,76 (m, 1H); MS (CI/NH₃) m/z 309 (M+H)⁺, 326 (M+NH₄)⁺.

129b. 5-[2-(R)-azetidinylmethoxy]-3-ethenyl-2-fluorpyridin tosylát

K roztoku produktu z kroku 129a nahoře (0,21g, 0,7 mmol) v methylenchloridu (10 ml) byla při 0°C přidána kyselina trifluoroctová (10 ml). Po jednohodinovém míchání při 0°C byly těkavé komponenty odstraněny ve vakuu. Zbytek byl zředěn nasyceným vodným NaHCO₃ a extrahován AcOEt (3 x). Spojené organické extrakty byly promyty solankou, vysušeny (MgSO₄) a zkoncentrovány. Zbytek vyčistěn sloupcovou chromatografií (silikagel; MeOH/CH₂Cl₂, 1:9, potom CHCl₃/MeOH/NH₄OH, 80:20:1) poskytl požadovaný materiál jako žlutý olej (0,10 g, 68 %). Olej byl rozpuštěn v EtOH, ochlazen na 0°C a byl přidán monohydrát kyseliny p-toluensulfonové (0,09 g, 0,5 mmol). Po 30-ti minutovém míchání při 0°C bylo rozpouštědlo odpařeno, tuhá látka byla rozmíchána s Et₂O a titulní sloučenina byla získána jako světle žlutá tuhá látka (0,05 g, 20 % z izolovaného volného aminu) : b. t. 84-85 °C; $[\alpha]_D^{23} +12,6^\circ$ (c 0,5, MeOH); ¹H NMR (DMSO-*d*₆ , 300 MHz) δ 2,28 (s, 3H), 2,40 (m, 1H), 2,51 (m, 1H), 3,86-4,02 (m, 2H), 4,38 (m, 2H), 4,74 (m, 1H), 5,60 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 6,09 (d, J = 17,5 Hz, 1H), 6,75 (m, 1H), 7,11 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,48 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,86 (m, 2H), 8,85 (bs, 2H); MS (Cl/NH₃) m/z 209 (M+H)⁺, 226 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₁₁H₁₃FN₂O . TsOH . 0,3 H₂O vypočteno: 56,03 % C, 5,64 % H, 7,26 % N; nalezeno: 55,87 % C, 5,43 % H, 7,20 % N.

Příklad 130

3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]-5-(3-propenyl)pyridin hydrochlorid**130a. 3-[1-Boc-2-(S)-azetidinylmethoxy]-5-(3-propenyl)pyridin**

3- [1-Boc-2-(S)-azetidinylmethoxy]-5-brompyridin (0,95 g, 2,77 mmol, z příkladu 12 krok a) v toluenu (10 ml) byl smísen s tetrakis(trifenylfosfin)palladiem (100 mg), a allyltributylcínem (1,72 ml, 5,54 mmol). Reakční směs byla míchána a zahřívána k varu dva dny. Rozpouštědlo bylo odpařeno a zbytek byl chromatografován (silikagel, hexan/AcOEt, 5:1 až 1:1). Byl získán olej (250 mg, 30 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz) δ 1,42 (s, 9H), 2,22-2,42 (m, 2H), 3,37 (d, 2H, J = 7,0 Hz), 3,87-3,92 (m, 2H), 4,16 (m, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 5,07-5,17 (m, 2H), 5,9 (m, 1H), 7,07 (m, 1H), 8,08 (m, 1H), 8,19 (d, 1H, J = 3,0 Hz); MS (Cl/NH₃) m/z 305 (M+H)⁺.

130b. 3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]-5-(3-propenyl)pyridin

Produkt z kroku 130a nahoře (250 mg, 0,82 mmol) v CH_2Cl_2 (2 ml) byl ochlazen na 0°C a pak byla opatrně přidána TFA (1,1 ml). Reakční směs byla při 0°C míchána 40 minut. Potom byla směs ohřata na teplotu místnosti a 30 minut míchána. Po neutralisaci vodným 10 %-ním NaOH byla reakční směs extrahována CH_2Cl_2 (3 x). Spojené organické vrstvy byly vysušeny (MgSO_4), zkoncentrovány a chromatografovány (silikagel; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$, 10:0,3:0 až 10:1:0,03). Byl získán žlutý olej (365 mg, 69 %): ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 2,28 (m, 1H), 2,42 (m, 1H), 3,37 (d, 2H, $J = 6,5$ Hz), 3,52 (m, 1H), 3,76 (m, 1H), 4,04 (m, 2H), 4,30 (m, 1H), 5,06-5,16 (m, 2H), 5,94 (m, 1H), 7,04 (m, 1H), 8,08 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz), 8,18 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz); MS (Cl/NH_3) m/z 239 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

130c. 3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]-5-(3-propenyl)pyridin hydrochlorid

K produktu z kroku 130b nahoře byl opatrně přidán chlorovodík (1 M v Et_2O) a byla získána titulní sloučenina: ^1H NMR (D_2O) δ 2,70 (q, 2H, $J = 8,5$ Hz), 3,49 (d, 2H, $J = 6,5$ Hz), 4,02-4,20 (m, 2H), 4,44 (d, 2H, $J = 4,5$ Hz), 4,95 (m, 1H), 5,12 (m, 2H), 6,05 (m, 1H), 7,53 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 8,24 (d, 1H, $J = 2,0$ Hz); MS (Cl/NH_3) m/z 205 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$. Analýza pro $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O} \cdot 2 \text{HCl} \cdot 0,2 \text{H}_2\text{O}$ vypočteno: 54,14 % C, 6,82 % H, 10,52 % N; nalezeno: 54,30 % C, 6,82 % H, 10,49 % N. $[\alpha]_{\text{D}}^{25} -3,5^\circ$ (c 0,63, MeOH).

Příklad 131

5-[2-(S)-azetidinylmethoxy]-3-ethenyl-2 fluorpyridin tosylát**131a. 3-Brom-2-fluor-5-nitropyridin**

3-Brom-2-chlor-5-nitropyridin (119 g, 0,500 mol, připravený podle V. Kocha a S. Schnatterera, *Synthesis*, **1990**, 497-498), fluorid draselný (79,5 g, 1,37 mol) a tetrafenylfosfoniumbromid (109 g, 0,260 mol) byla smísena v acetonitrilu (1,5 l) a 4 dny zahřívány k varu dokud GLC neukázala úplné spotřebování 3-brom-2-chlor-5-nitropyridinu. Ve vakuu byl objem směsi zredukován na 750 ml a potom byla zbylá kapalina zředěna 2 l etheru. Směs byla sfiltrována a filtrát zkoncentrován. Zbytek byl

rozmíchán s horkým hexanem (2 x 1 l, pak 2 x 0,5 l) a spojené hexanové extrakty zkoncentrovány poskytly 62,8 g (54 %) titulní sloučeniny: ^1H NMR (DMSO- d_6 300 MHz) δ 9,14 (m, 2H).

131b. 5-Amino-3-brom-2-fluorpyridin

K roztoku 3-brom-2-fluor-5-nitropyridinu z příkladu 131a nahoře (5,0 g, 23 mmol) v MeOH (100 ml) byl přidán dihydrát chloridu cínatého. Směs byla zahřívána k varu 3 hodiny, potom ochlazena na teplotu okolí a zkoncentrována ve vakuu. Zbytek byl zředěn nasyceným vodným roztokem NaHCO_3 a AcOEt a vzniklá emulze byla sfiltrována. Filtrát byl nalit do dělicí nálevky a vrstvy byly rozděleny. Vodná vrstva byla extrahována AcOEt (2 x). Spojené organické extrakty byly promyty solankou, vysušeny (MgSO_4) a zkoncentrovány. Po vyčištění chromatografií (silikagel; hexan/AcOEt, 70:30) bylo získáno 3,61 g (83 %) titulní sloučeniny jako žluté tuhé látky : b. t. 91-92°C; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz), δ 7,15 (dd, J = 2,5, 7,5 Hz, 1H), (dd, J = 2,0, 2,5 Hz, 1H); MS (CI/ NH_3) m/z 191, 193 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 208, 210 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$.

131c. 5-Amino-3-ethenyl-2-fluorpyridin

K míchanému roztoku 5-amino-3-brom-2-fluorpyridinu z kroku 131b nahoře (3,25 g, 17,0 mmol) v toluenu (20 ml) byl přidán tributyl(vinyl)cín (Aldrich, 7,64 g, 20,4 mmol), potom tetrakis(trifenylfosfin)palladium (Aldrich, 0,63 g, 1,7 mmol). Reakční směs byla 24 hodin zahřívána na 100°C. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a zbytek byl čistěn sloupcovou chromatografií (silikagel; AcOEt/hexan, 4:6). Požadovaný materiál byl získán jako béžová tuhá látka (2,30 g, 98 %): ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 3,61 (br s, 2H), 5,44 (d, J = 11,5 Hz, 1H), 5,83 (d, J = 17,5 Hz, 1H), 6,66 (m, 1H), 7,18 (dd, J = 3,0 Hz, 5,0 Hz 1H), 7,52 (m, 1H); MS (CI/ NH_3) m/z 139 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 156 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$.

131d. 5-Acetoxy-3-ethenyl-2-fluorpyridin

K roztoku produktu z kroku 131c nahoře (3,00 g, 21,7 mmol) v 3:1 směsi dimethoxyethan: CH_2Cl_2 (50 ml) při -10°C byl pomalu přidáván bortrifluorid etherát (Aldrich, 5,60 ml, 45,6 mmol). V průběhu 15 minut byl přidáván terc. butylnitrit (Aldrich, 3,10 ml, 26,0 mmol) tak, aby byla teplota udržována pod -5°C. Reakce byla ohřáta na 0°C a byla 30 minut míchána. K reakční směsi byl přidán pentan (500 ml) a tuhý

diazonium fluoroborát byl odfiltrován. Diazoniová sůl byla rozpuštěna v acetanhydridu (40 ml) a 2 hodiny zahřívána na 95°C (vývin dusíku byl zaznamenán při ~85°C). Po ochlazení na teplotu okolí byla tmavá směs zkoncentrována ve vakuu. Zbytek byl rozpuštěn v nasyceném vodném roztoku NaHCO₃ a extrahován Et₂O (3 x 150 ml). Spojené organické extrakty byly promyty solankou (50 ml), vysušeny (MgSO₄) a zkoncentrovány. Surový produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií (silikagel; AcOEt/hexan 40:60) a poskytl titulní sloučeninu jako žlutý olej (1,51 g, 40 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ 2,35 (s, 3H), 5,54 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 5,90 (d, J = 18,0 Hz, 2H), 6,75 (m, 1H), 7,66 (dd, J = 2,0, 5,0 Hz, 1H); MS (Cl/NH₃) m/z 182 (M+H)⁺, 199 (M+NH₄)⁺.

131e. 3-Ethenyl-2-fluor-5-hydroxypyridin

K míchanému roztoku produktu z kroku 131d nahoře (1,40 g, 7,70 mmol) v MeOH (50 ml) byl přidán K₂CO₃ (0,53 g, 3,9 mmol). Po 24 hodinovém míchání při teplotě místnosti bylo odpařeno rozpouštědlo a zbytek byl zředěn Et₂O (100 ml) a vodou (100 ml). Fáze byly rozděleny, vodná fáze byla neutralisována (pH ≈ 7) 1 N vodným HCl a extrahována diethyletherem (2 x 100 ml). Spojené etherové extrakty byly promyty solankou (50 ml), vysušeny (MgSO₄) a zkoncentrovány. Surový produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií (silikagel; AcOEt/hexan 40:60) a poskytl titulní sloučeninu jako naředlou tuhou látku (0,81 g, 76 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz), δ 5,50 (d, J = 11 Hz, 1H), 5,87 (d, J = 17,5 Hz, 1H), 6,75 (m, 1H), 7,72 (dd, J = 3,0, 5,0 Hz, 1H), 7,69 (m, 1H); MS (Cl/NH₃) m/z 140 (M+H)⁺, 157 (M+NH₄)⁺.

131f. 5-[1-Boc-2-(S)-azetidinylmethoxy]-3-ethenyl-2-fluorpyridin

K produktu z příkladu 131e nahoře (0,60 g, 4,3 mmol) v DMF (10 ml) byl přidán práškový hydroxid draselný (0,36 g, 6,5 mmol) a reakční směs byla při teplotě místnosti míchána 1,5 hodiny, dokud se KOH nerozpustil. Potom byl přidán 1-(Boc-2-(S)-azetidinmethyl-p-toluensulfonát (1,96 g, 4,3 mmol, z příkladu 10) a reakční směs byla 18 hodin zahřívána na 80°C. Reakční směs byla zředěna vodou (50 ml) a extrahována AcOEt (3 x 30 ml). Spojené organické extrakty byly promyty solankou (25 ml), vysušeny (MgSO₄) a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Surový produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií (silikagel; CH₂Cl₂/MeOH 98:2) a poskytl požadovaný materiál jako žlutý olej (1,44 g, >100 %): ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz),

δ 1,42 (s, 9H), 2,45 (m, 2H), 3,90 (m, 1H), 4,13 (dd, $J = 3,0, 7,5$ Hz, 2H), 4,35 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 5,49 (d, $J = 11,0$ Hz, 2H), 5,89 (d, $J = 17,5$ Hz, 2H), 6,74 (m, 1H), 7,47 (m, 1H), 7,76 (m, 1H); MS (Cl/NH₃) m/z 309 (M+H)⁺, 326 (M+NH₄)⁺.

131g. 5-[2-(S)-Azetidinylmethoxy]-3-ethenyl-2-fluorpyridin tosylát

K roztoku zkondenzovaného produktu z kroku 131f nahoře (1,44 g, 4,70 mmol) v methylenchloridu (10 ml) byla při 0°C přidána trifluoroctová kyselina (10 ml), roztok byl 1 hodinu míchán při 0°C a těkavé komponenty byly odstraněny ve vakuu. Zbytek byl zředěn nasyceným vodným NaHCO₃ a extrahován AcOEt (3 x). Spojené etherové extrakty byly promyty solankou, vysušeny (MgSO₄) a zkoncentrovány. Surový produkt byl vyčištěn sloupcovou chromatografií (silikagel; MeOH/CH₂Cl₂ 1:9, potom CHCl₃/MeOH/NH₄OH 80:20:1) a poskytl požadovaný materiál jako žlutý olej (0,37 g, 41 % %): $[\alpha]_D^{25}$ -2,8° (c 0,4, MeOH). Olej byl rozpuštěn v EtOH, ochlazen na 0°C a byl přidán monohydrát kyseliny p-toluensulfonové (0,34 g, 1,8 mmol). Po 30-ti minutovém míchání při 0°C bylo rozpouštědlo odpařeno, zbytek byl rozmíchán s Et₂O a byla získána bílá tuhá látka (0,30 g, 48 % z izolovaného volného aminu): b. t. 251-253°C; ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ 2,29 (s, 3H), 2,38 (m, 1H), 2,43 (m, 1H), 3,86-4,02 (m, 2H), 4,40 (m, 2H), 4,74 (m, 1H), 5,60 (d, $J = 11,0$ Hz, 1H), 6,09 (d, $J = 16,5$ Hz, 1H), 6,74 (m, 1H), 7,11 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 7,48 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,87 (m, 2H), 8,86 (br s, 2H); MS (Cl/NH₃) m/z 209 (M+H)⁺, 226 (M+NH₄)⁺. Analýza pro C₁₁H₁₃FN₂O . 1,3 TsOH vypočteno: 55,87 % C, 5,46 % H, 6,48 % N; nalezeno: 56,23 % C, 5,68 % H, 6,28 % N.

Příklad 132

5-Nitro-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

132a. 3-Benzoyloxy-5-brompyridin

NaH (60 % v minerálním oleji) (40,9 g 1,0225 mol) v 800 ml DMF byl ochlazen na 0°C a pomalu byl přidáván benzylalkohol (105 ml, 1,014 mol). Reakční směs byla při 20°C míchána 1 hodinu, potom byl přidán 3,5-dibrompyridin (200,4 g, 846 mmol) a směs byla míchána 16 hodin. Reakce směsi byla ukončena nasyceným roztokem NH₄Cl (500 ml), zředěna 400 ml vody a extrahována Et₂O (5 x 300 ml). Spojené Et₂O

extrakty byly promyty 50 %-ním solným roztokem (6 x 300 ml) a vysušeny (MgSO_4). Rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu a surový produkt byl rekrystalován z Et_2O . Bylo získáno 161 g (72 %) titulního produktu: b. t. 63-68°C; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8,37-8,27 (m, 2H), 7,5-7,35 (m, 6H), 5,1 (s, 1H); MS (DCI/ NH_3) m/z 264, 266 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

132b. 3-Amino-5-benzyloxypyridin

Produkt z příkladu 132a (41,3 g, 156 mmol), bromid měďný (22,43 g, 156 mmol), MeOH (275 ml) a kapalný NH_3 (50 ml) byly smíchány do nerezového reaktoru a zahřívány na 130°C 24 hodin. Směs se nechala ochladit na teplotu okolí a pak byla zkoncentrována. Zbytek byl suspendován ve 300 ml nasyceného vodného roztoku Na_2CO_3 a extrahován CH_2Cl_2 (4 x 500 ml). Spojené CH_2Cl_2 extrakty byly promyty solným roztokem, vysušeny (MgSO_4) a zkoncentrovány. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; hexan / AcOEt, 9 : 1 až 7 : 3) a bylo získáno 15,6 g (50 %) titulní sloučeniny: ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8,21-8,29 (m, 2H), 7,44-7,26 (m, 6H), 5,10 (s, 2H); MS (DCI/ NH_3) m/z 201 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

132c. 3-Amino-5-hydroxypyridin

Produkt z příkladu 132b (15,47 g, 77,25 mmol) v MeOH (25 ml) byl v atmosféře vodíku 48 hodin míchán za přítomnosti 5 % Pd/C (100 mg). Směs byla sfiltrována, zkoncentrována a surový produkt byl chromatografován (silikagel; $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 9:1). Bylo získáno 4,5 g (53 %) titulní sloučeniny. MS (DCI/ NH_3) m/z 111 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, 128 ($\text{M}+\text{NH}_4$) $^+$. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 7,4 (d, J = 3 Hz, 1H), 7,3 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 6,33 (dd, J = 2,6 Hz, 1H).

132d. 3-Hydroxy-5-nitropyridin

Do 31,5 ml koncentrované kyseliny sírové byl vložen peroxosíran draselný (56,8, 210 mmol) a roztok byl přidán k roztoku produktu z příkladu 132c (2,75 g, 25 mmol) v koncentrované kyselině sírové (27 ml). Směs se nechala 72 hodin stát a potom byla nalita na led a koncentrovaným NH_4OH bylo adjustováno pH 6. Roztok byl extrahován AcOEt (4 x 100 ml), etherové extrakty byly pak vysušeny (MgSO_4) a zkoncentrovány. Surový produkt byl chromatografován (silikagel; $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 99:1 až 9:1). Bylo získáno 1,65 g (47 %) titulní sloučeniny ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 8,81

(d, $J = 3$ Hz, 1H), 8,51 (d, $J = 3$ Hz, 1H), 7,82 (dd, $J = 2,5$ Hz, 1H). MS (DCI/ NH_3) m/z 141 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 158 ($\text{M}+\text{NH}_4$)⁺.

132e. 5-Nitro-3-[1-BOC-2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin

1-BOC-2-(S)-azetidinylmethanol (868 mg, 4,64 mmol) a 3-hydroxy-5-nitropyridin z příkladu 132d (500 mg, 3,57 mmol) byly spolu zreagovány podle postupu z příkladu 17a. Rozpouštědlo bylo odstraněno a zbytek byl chromatografován (silikagel; hexan/ethyacetát, 5:1). Byla získána titulní sloučenina (800 mg, 73 %) ¹H NMR (CDCl_3 , 300 MHz) δ 1,45 (s, 9H), 2,56 (m, 2H), 4,52 (m, 4H), 4,82 (m, 1H), 8,25 (t, $J = 3$ Hz, 1H), 8,65 (d, $J = 3$ Hz, 1H), 9,05 (d, $J = 3$ Hz, 1H); MS (DCI/ NH_3) m/z 310 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

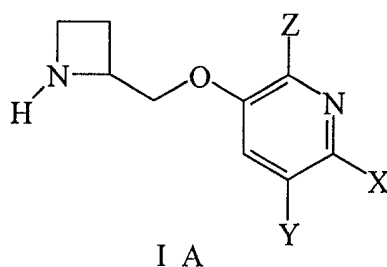
132f. 5-Nitro-3-[2-(S)-azetidinylmethoxy]pyridin hydrochlorid

K produktu z příkladu 132e v methylenchloridu byl při 0°C přidán HCl/ Et_2O a roztok byl 1 hodinu míchán. Rozpouštědlo bylo odstraněno, zbytek byl překrystalován z $\text{EtOH}/\text{Et}_2\text{O}$ a poskytl titulní sloučeninu (750 mg): b. t. 162-164°C; ¹H NMR (D_2O , 300 Mz) δ 2,45 (m, 2H), 4,62 (m, 4H), 4,96 (m, 1H), 8,26 (t, $J = 3$ Hz, 1H), 8,75 (d, $J = 3$ Hz, 1H), 9,25 (d, $J = 3$ Hz, 1H). MS (APCI) m/z 210 ($\text{M}+\text{H}$)⁺. Analýza pro $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{ClN}_3\text{O}_3 \cdot 0,3 \text{ HCl}$: vypočteno: 42,13 % C, 4,83 % H, 16,38 % N; nalezeno: 42,28 % C, 4,87 % H, 16,24 % N.

Příklady uvedené ze shora a ty, které patří do vymezení vzorcem I s jeho obměnami, jak jsou zde zmíněny, jsou použitelné při prevenci nebo ošetřování bolesti s určitými výjimkami, jak jsou zde označeny. Sloučeniny jsou rovněž užitečné při ošetřování odumírání neuronálních buněk a léčení zánětu. Přihlašovatelé nárokují také ty (S) sloučeniny a ty (R) sloučeniny, které nebyly dříve nárokovány nebo uveřejněny.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob ošetřování nebo kontroly bolesti u savců včetně lidí **v y z n a č e n ý t í m , ž e** se savci nebo pacientovi, který takové ošetření potřebuje, podává sloučenina vzorce I A:



nebo její farmaceuticky přijatelná sůl, kde Z, Y, X, respektive stereochemie 2-azetidinu jsou voleny ze skupiny, kterou tvoří:

- H, H, Me (S);
- H, H, Me (R);
- H, H, CN (S);
- H, H, Cl (S);
- H, H, Cl (R);
- H, H, Br (R);
- H, H, F (S);
- H, H, F (R);
- H, H, CHF₂ (S);
- H, H, OMe (R);
- H, Me, Cl (S);
- H, Me, Cl (R);
- H, Et, F (S);
- H, ethenyl, Cl (S);
- H, ethenyl, Cl (R);
- H, ethenyl, F (S);
- H, ethenyl, F (R);
- H, ethinyl, Cl (S);
- H, ethinyl, Cl (R);
- H, Cl, Cl (S);

H, Cl, Cl (R);
H, Cl, F (S);
H, Br, Me (S);
H, Br, Me (R);
H, Br, Cl (S);
H, Br, Cl (R);
H, Br, F (S);
H, Br, F (R);
H, Me, H (R);
H, n-Pr, H (S);
H, ethenyl, H (S);
H, ethenyl, H (R);
H, 3-propenyl, H (S);
H, Cl, H (R);
H, F, H (S);
H, NO₂, H (S);
H, OEt, H (S);
Cl, H, H (S);
Cl, H, H (R);
F, H, H (S);
F, H, F (S);
F, H, Me (S); a
F, H, Me (R).

2. Způsob ošetřování nebo kontroly bolesti u pacienta, který takové ošetření potřebuje, podle nároku 1, **v y z n a ě n ý t í m , ž e** sloučenina je volena ze skupiny, kterou tvoří (S) enantiomery.

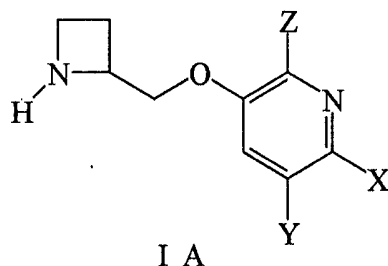
3. Způsob ošetřování nebo kontroly bolesti u pacienta, který takové ošetření potřebuje, podle nároku 1, **v y z n a ě n ý t í m , ž e** sloučenina je volena ze skupiny, kterou tvoří (R) enantiomery.

4. Způsob ošetřování nebo kontroly bolesti u pacienta, který takové ošetření potřebuje, podle nároku 1, **v y z n a ě n ý t í m , ž e** Z je H, Y je H a X je voleno ze skupiny sestávající z Cl a F.

5. Způsob ošetřování nebo kontroly bolesti u pacienta, který takové ošetření potřebuje, podle nároku 4, **v y z n a ě n ý t í m , ž e** sloučeninou je 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-chlorpyridin nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl.

6. Způsob ošetřování nebo kontroly bolesti u pacienta, který takové ošetření potřebuje, podle nároku 4, **v y z n a ě n ý t í m , ž e** sloučeninou je 5-[(2R)-azetidinylmethoxy]-2-fluorpyridin nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl.

7. Sloučenina vzorce I A:



nebo její farmaceuticky přijatelná sůl, kde Z, Y, X, respektive stereochemie 2-azetidinu jsou voleny ze skupiny, kterou tvoří:

- H, H, Me (S);
- H, H, Me (R);
- H, H, CN (S);
- H, H, Cl (S);
- H, H, Cl (R);
- H, H, Br (R);
- H, H, F (S);
- H, H, F (R);
- H, H, CHF₂ (S);
- H, H, OMe (R);
- H, Me, Cl (S);
- H, Me, Cl (R);

H, Et, F (S);
H, ethenyl, Cl (S);
H, ethenyl, Cl (R);
H, ethenyl, F (S);
H, ethenyl, F (R);
H, ethinyl, Cl (S);
H, ethinyl, Cl (R);
H, Cl, Cl (S);
H, Cl, Cl (R);
H, Cl, F (S);
H, Br, Me (S);
H, Br, Me (R);
H, Br, Cl (S);
H, Br, Cl (R);
H, Br, F (S);
H, Br, F (R);
H, Me, H (R);
H, n-Pr, H (S);
H, ethenyl, H (S);
H, ethenyl, H (R);
H, 3-propenyl, H (S);
H, Cl, H (R);
H, F, H (S);
H, NO₂, H (S);
H, OEt, H (S);
Cl, H, H (S);
Cl, H, H (R);
F, H, H (S);
F, H, F (S);
F, H, Me (S); a
F, H, Me (R).

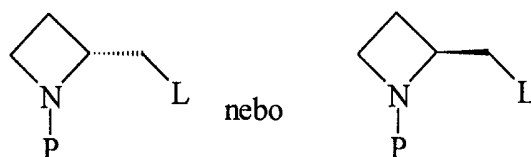
8. Sloučenina podle nároku 7, kde farmaceuticky přijatelná sůl je volena z tosylátu, benzoátu, mesylátu, naftalensulfonátu, citrátu a fumarátu.

9. Sloučenina podle nároku 7, kde farmaceuticky přijatelná sůl je tosylát.
10. Sloučenina podle nároku 7, kde X je Cl, Z je H a Y je voleno ze skupiny, kterou tvoří H, Cl, Br a methyl.
11. Sloučenina podle nároku 10, kde stereochemie azetidinu v poloze 2 je (R).
12. Sloučenina podle nároku 11, kde Y je H.
13. Sloučenina podle nároku 7, kde X je F, Z je H a Y je voleno ze skupiny, kterou tvoří H, ethenyl, Br a methyl.
14. Sloučenina podle nároku 13, kde stereochemie azetidinu v poloze 2 je (R).
15. Sloučenina podle nároku 14, kde Y je H.
16. Farmaceutická kompozice **v y z n a č e n á t í m, ž e** obsahuje sloučeninu podle nároku 7 a farmaceuticky přijatelný excipient.
17. Způsob inhibice odumírání neuronálních buněk **v y z n a č e n ý t í m, ž e** zahrnuje podávání sloučeniny podle nároku 7 pacientovi, který takové ošetření potřebuje.
18. Způsob ošetřování nebo prevence zánětu **v y z n a č e n ý t í m, ž e** zahrnuje podávání sloučeniny podle nároku 7 pacientovi, který takové ošetření potřebuje.
19. Způsob ošetřování nebo prevence bolesti u pacienta, který takové ošetření potřebuje, **v y z n a č e n ý t í m, ž e** zahrnuje podávání kombinace nebo kombinovaný režim sloučeniny podle nároku 7 a opiátu nebo bolest utišujících nesteroidních protizánětlivých přípravků (NSAID).

20. Způsob podle nároku 19 **v y z n a ě n ý t í m, ž e** sloučeninou je (R) enantiomer definovaný tím, že Z je H, Y je H a X je voleno ze skupiny tvořené Cl a F, a kde opíátem je morfin.

21. Způsob podle nároku 20 **v y z n a ě n ý t í m, ž e** sloučenina zvyšuje bolest utěšující efekt morfinu.

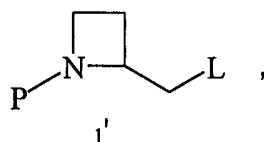
22. Meziprodukt vzorce



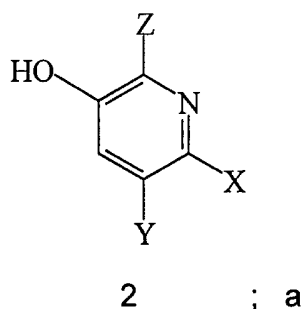
kde L je voleno z anionické odstupující skupiny, která může být nahrazena nukleofilem a P je voleno z chránících skupin pro dusík.

23. Meziprodukt podle nároku 22, kde P je Boc a L je TsO.

24. Způsob výroby sloučeniny podle nároku 7, **v y z n a ě n ý t í m, ž e**
a) azetidín mající vzorec 1'



kde P je chránící skupina pro dusík a L anionická odstupující skupina, se v inertním rozpouštědle za přítomnosti base podrobí reakci s multisubstituovanou pyridinovou sloučeninou mající vzorec 2,



b) odstraní se skupina P.

25. Způsob podle nároku 24 **v y z n a č e n ý t í m, ž e** skupina P se odstraní kyselinou p-toluensulfonovou pro přímé vytvoření tosylátu.

26. Způsob podle nároku 24, **v y z n a č e n ý t í m, ž e** stereochemie azetidinu v poloze 2 je (R).

27. Způsob podle nároku 24, **v y z n a č e n ý t í m, ž e** stereochemie azetidinu v poloze 2 je (S).

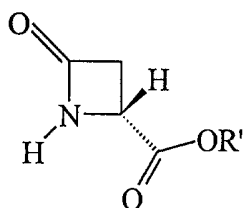
28. Způsob podle nároku 24, **v y z n a č e n ý t í m, ž e** obsahuje dále přidání kyseliny k produktu zbavenému chránící skupiny, aby byla získána farmaceuticky přijatelná sůl.

29. Způsob podle nároku 24, **v y z n a č e n ý t í m, ž e** azetidin je připravován postupem, který obsahuje

(a) reakci kyseliny D-asparagové nebo odpovídajícího esteru O-R', kde R' je voleno ze skupiny sestávající z C₁-C₆ alkylu, benzylu a substituovaného benzylu, s trialkylsilylačním činidlem zvoleným mezi trimethylsilylchloridem nebo terc.butyldimethylsilyl trifluormethansulfonátem v přítomnosti terciárního aminu jako base;

(b) zreagování produktu z kroku (a) s RMgX, kde R je objemný C₃-C₆ alkyl; a X je Cl, Br nebo I;

(c) štěpení silylderivátu za vzniku sloučeniny vzorce 7'



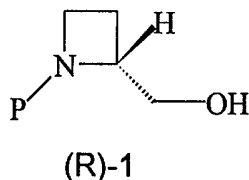
7'

kde R' je nyní voleno ze skupiny obsahující H, C₁-C₆ alkyl, benzyl a substituovaný benzyl, u něhož jsou substituenty voleny z typických aromatických substituentů;

(d) redukci sloučeniny vzorce 7' redukčním činidlem vybraným z diisobutylaluminiumhydridu, LiAlH₄, mono- nebo dihalogenaluminiumhydridu, AlH₃

nebo směsi chloridu hlinitého a LiAlH_4 nebo redukčním činidlem vybraným z NaBH_4 , LiBH_4 nebo CaBH_4 s následnou redukcí aluminiumhydridovým redukčním činidlem;

(e) ochránění azetidinového dusíku chránicí skupinou P pro dusík za vzniku sloučeniny vzorce:

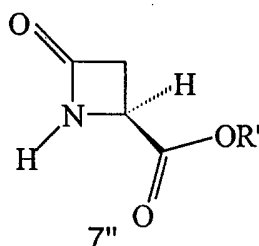


30. Způsob podle nároku 24, **v y z n a č e n ý t í m, ž e** azetidin je připraven postupem, který obsahuje

(a) reakci kyseliny L-asparagové nebo odpovídajícího esteru $\text{O-R}'$, kde R' je voleno ze skupiny sestávající z $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkylu, benzylu a substituovaného benzylu, s trialkylsilylačním činidlem zvoleným mezi trimethylsilylchloridem nebo terc.butyldimethylsilyl trifluormethansulfonátem v přítomnosti terciárního aminu jako base;

(b) zreagování produktu z kroku (a) s RMgX , kde R je objemný $\text{C}_3\text{-C}_6$ alkyl; a X je Cl, Br nebo I;

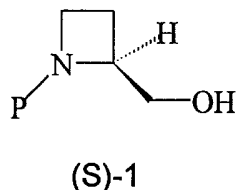
(c) štěpení silylderivátu za vzniku sloučeniny vzorce 7''



kde R' je nyní voleno ze skupiny obsahující H, $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkyl, benzyl a substituovaný benzyl, u něhož jsou substituenty voleny z typických aromatických substituentů;

(d) redukcí sloučeniny vzorce 7'' redukčním činidlem vybraným z diisobutylaluminiumhydridu, LiAlH_4 , mono- nebo dihalogenaluminiumhydridu, AlH_3 nebo směsi chloridu hlinitého a LiAlH_4 nebo redukčním činidlem vybraným z NaBH_4 , LiBH_4 nebo CaBH_4 s následným působením aluminiumhydridovým redukčním činidlem;

(e) ochránění azetidinového dusíku chránicí skupinou P pro dusík za vzniku sloučeniny vzorce:

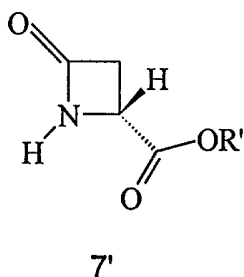


31. Způsob podle nároku 24, **v y z n a č e n ý t í m, ž e** azetidin je připravován postupem, který obsahuje

(a) reakci kyseliny D-asparagové nebo odpovídajícího esteru O-R', kde R' je voleno ze skupiny sestávající z C₁-C₆ alkylu, benzylu a substituovaného benzylu, s trialkylsilylačním činidlem zvoleným mezi trimethylsilylchloridem nebo terc.butyldimethylsilyl trifluormethansulfonátem v přítomnosti terciárního aminu jako base;

(b) zreagování produktu z kroku (a) s RMgX, kde R je objemný C₃-C₆ alkyl; a X je Cl, Br nebo I;

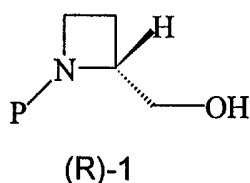
(c) štěpení silylderivátu za vzniku sloučeniny vzorce 7'



kde R' je nyní voleno ze skupiny obsahující H, C₁-C₆ alkyl, benzyl a substituovaný benzyl, u něhož jsou substituenty voleny z typických aromatických substituentů;

(d) redukci sloučeniny vzorce 7' vytvořením odpovídajícího thiolaktamu a následující reduktivní desulfurací;

(e) ochránění azetidinového dusíku chránicí skupinou P pro dusík za vzniku sloučeniny vzorce:

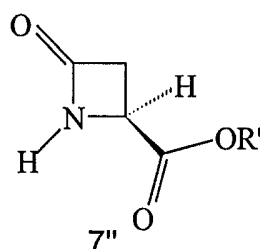


32. Způsob podle nároku 24, **v y z n a ě n ý t í m , ž e** azetidin je připraven postupem, který obsahuje

(a) reakci kyseliny L-asparagové nebo odpovídajícího esteru $O-R'$, kde R' je voleno ze skupiny sestávající z C_1-C_6 alkylu, benzylu a substituovaného benzylu, s trialkylsilylačním činidlem zvoleným mezi trimethylsilylchloridem nebo terc.butyldimethylsilyl trifluormethansulfonátem v přítomnosti terciárního aminu jako base;

(b) zreagování produktu z kroku (a) s $RMgX$, kde R je objemný C_3-C_6 alkyl; a X je Cl, Br nebo I;

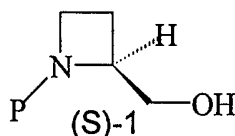
(c) štěpení silylderivátu za vzniku sloučeniny vzorce 7''



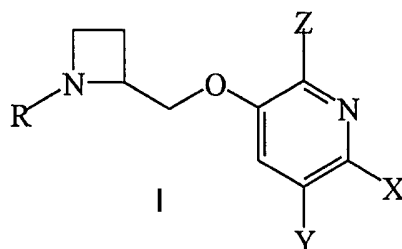
kde R' je nyní voleno ze skupiny obsahující H, C_1-C_6 alkyl, benzyl a substituovaný benzyl, u něhož jsou substituenty voleny z typických aromatických substituentů;

(d) redukci sloučeniny vzorce 7'' vytvořením odpovídajícího thiolaktamu s následující reduktivní desulfurací;

(e) ochránění azetidinového dusíku chránicí skupinou P pro dusík za vzniku sloučeniny vzorce:



33. Způsob kontroly bolesti u savců včetně lidí **v y z n a ě n ý t í m , ž e** se savci nebo pacientovi, který takové ošetření potřebuje, podává sloučenina vzorce I :



nebo její farmaceuticky přijatelná sůl, kde Z, Y, X a respektive stereochemie 2-azetidinu jsou voleny ze skupiny, kterou tvoří:

H, H, Me (S);
H, H, Me (R);
H, H, CN (S);
H, H, Cl (S);
H, H, Cl (R);
H, H, Br (R);
H, H, F (S);
H, H, F (R);
H, H, CHF₂ (S);
H, H, OMe (R);
H, Me, Cl (S);
H, Me, Cl (R);
H, Et, F (S);
H, ethenyl, Cl (S);
H, ethenyl, Cl (R);
H, ethenyl, F (S);
H, ethenyl, F (R);
H, ethinyl, Cl (S);
H, ethinyl, Cl (R);
H, Cl, Cl (S);
H, Cl, Cl (R);
H, Cl, F (S);
H, Br, Me (S);
H, Br, Me (R);
H, Br, Cl (S);
H, Br, Cl (R);
H, Br, F (S);
H, Br, F (R);
H, Me, H (R);
H, n-Pr, H (S);
H, ethenyl, H (S);
H, ethenyl, H (R);

H, 3-propenyl, H (S);

H, Cl, H (R);

H, F, H (S);

H, NO₂, H (S);

H, OEt, H (S);

Cl, H, H (S);

Cl, H, H (R);

F, H, H (S);

F, H, F (S);

F, H, Me (S); a

F, H, Me (R); a

kde R představuje prekursorovou jednotku.

34. Způsob podle nároku 33 **v y z n a č e n ý t í m , ž e** R spolu s azetidinovým dusíkem tvoří jednotku vybranou ze skupiny obsahující:

terciární amin;

amid;

karbamát;

močovinu;

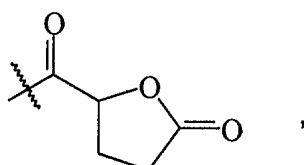
enamin a

amidomethylamin.

35. Způsob podle nároku 33 **v y z n a č e n ý t í m , ž e** R je vybráno ze skupiny obsahující:

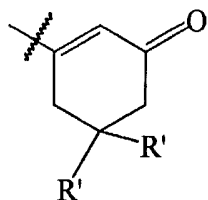
methyl, ethyl, isopropyl, n-propyl, isobutyl, terc. butyl, terc. pentyl, n-pentyl, n-butyl, cyklohexylmethyl, 3-methyl-1-butin-3-yl,

případně N-chráněný-Ala, případně N-chráněný-Phe, ftaloyl methylester, 4-diethylaminobenzoyl, 2-hydroxymethylbenzoyl, acetyl,

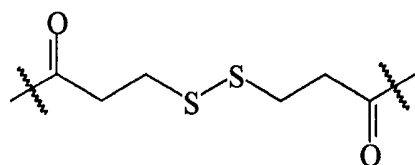
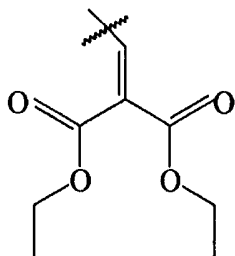
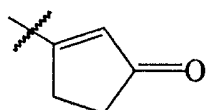


terc, butyloxykarbonyl, ethoxykarbonyl, fenoxycarbonyl, 4-nitrofenoxycarbonyl, 4-methoxyfenoxycarbonyl, 4-karbomethoxyfenoxycarbonyl, 4-methylfenoxy-

karbonyl, 4-fluorfenoxycarbonyl, 4-chlorfenoxycarbonyl, 2,6-dimethylfenoxycarbonyl, 1-acetoxy-1-methyl-ethoxycarbonyl, benzyloxykarbonyl, pyrrolidin-1-ylkarbonyl,



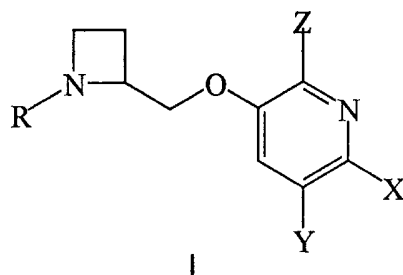
kde R' je H nebo Me,



, kde jsou připojeny dva azetidiny,

N-sukcinimidylmethyl a N-ftalimidylmethyl.

36. Prekursor vzorce I:



nebo jeho farmaceuticky přijatelná sůl, kde Z, Y, X, respektive stereochemie 2-azetidinu jsou voleny ze skupiny, kterou tvoří:

H, H, Me (S);

H, H, Me (R);

H, H, CN (S);
H, H, Cl (S);
H, H, Cl (R);
H, H, Br (R);
H, H, F (S);
H, H, F (R);
H, H, CHF₂ (S);
H, H, OMe (R);
H, Me, Cl (S);
H, Me, Cl (R);
H, Et, F (S);
H, ethenyl, Cl (S);
H, ethenyl, Cl (R);
H, ethenyl, F (S);
H, ethenyl, F (R);
H, ethinyl, Cl (S);
H, ethinyl, Cl (R);
H, Cl, Cl (S);
H, Cl, Cl (R);
H, Cl, F (S);
H, Br, Me (S);
H, Br, Me (R);
H, Br, Cl (S);
H, Br, Cl (R);
H, Br, F (S);
H, Br, F (R);
H, Me, H (R);
H, n-Pr, H (S);
H, ethenyl, H (S);
H, ethenyl, H (R);
H, 3-propenyl, H (S);
H, Cl, H (R);
H, F, H (S);
H, NO₂, H (S);

H, OEt, H (S);

Cl, H, H (S);

Cl, H, H (R);

F, H, H (S);

F, H, F (S);

F, H, Me (S); a

F, H, Me (R); a

kde R představuje prekursorovou jednotku.

37. Sloučenina podle nároku 36, kde R spolu s azetidinovým dusíkem tvoří jednotku vybranou ze skupiny obsahující:

terciární amin;

amid;

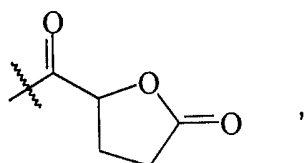
karbamát;

močovinu;

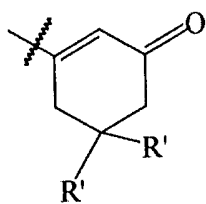
enamin a

amidomethylamin.

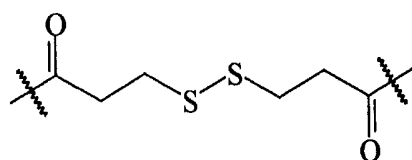
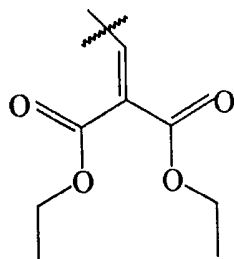
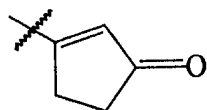
38. Sloučenina podle nároku 36, kde R je vybráno ze skupiny obsahující:
methyl, ethyl, isopropyl, n-propyl, isobutyl, terc. butyl, terc. pentyl, n-pentyl, n-butyl, cyklohexylmethyl, 3-methyl-1-butin-3-yl,
případně N-chráněný-Ala, případně N-chráněný-Phe, ftaloyl methylester, 4-diethylaminobenzoyl, 2-hydroxymethylbenzoyl, acetyl,



terc, butyloxykarbonyl, ethoxykarbonyl, fenoxycarbonyl, 4-nitrofenoxycarbonyl, 4-methoxyfenoxycarbonyl, 4-karbomethoxyfenoxycarbonyl, 4-methylfenoxycarbonyl, 4-fluorfenoxycarbonyl, 4-chlorfenoxycarbonyl, 2,6-dimethylfenoxycarbonyl, 1-acetoxy-1-methyl-ethoxykarbonyl, benzyloxykarbonyl, pyrrolidin-1-ylkarbonyl,

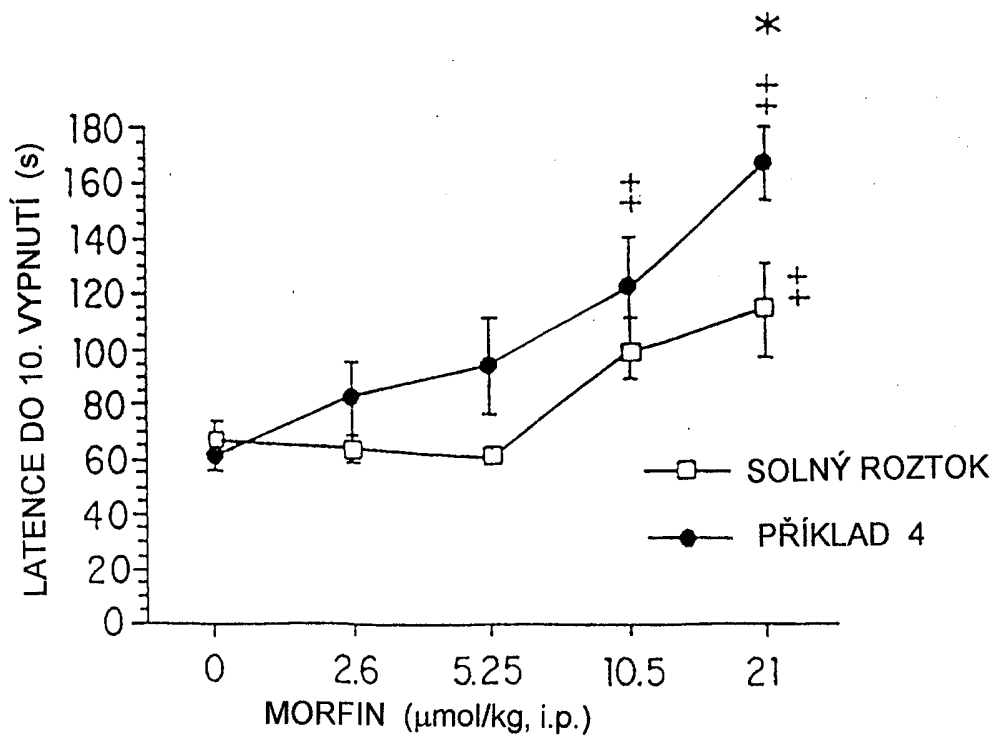
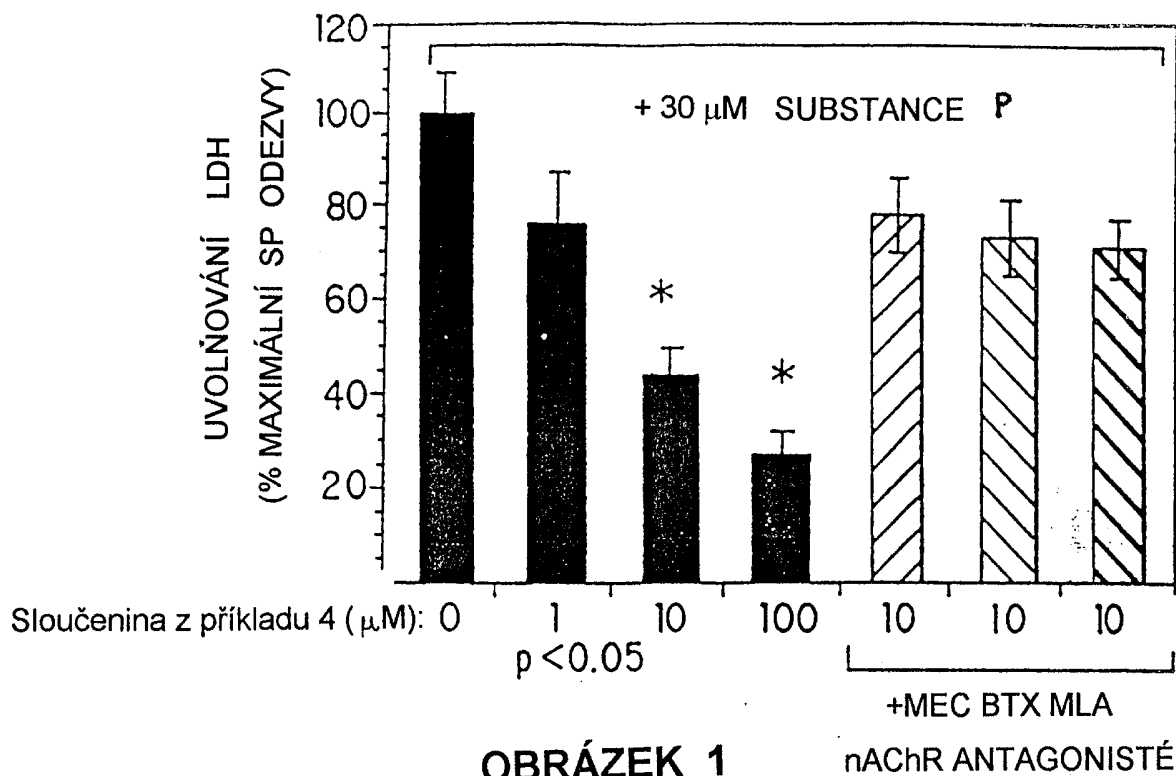


kde R' je H nebo Me,



, kde jsou připojeny dva azetidiny,

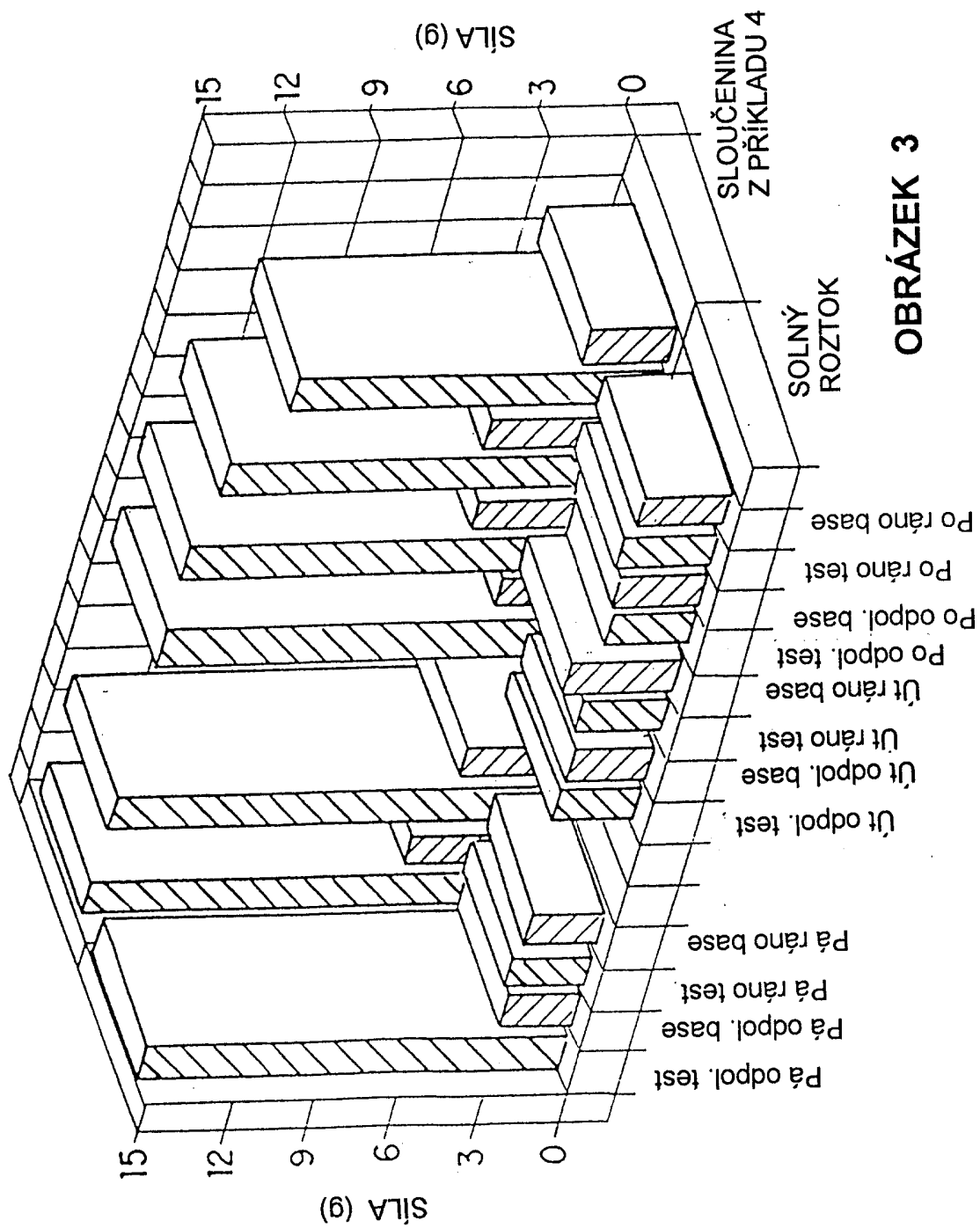
N-sukcinimidylmethyl a N-ftalimidylmethyl.



* odlišné od samotného morfinu; $p < 0,05$

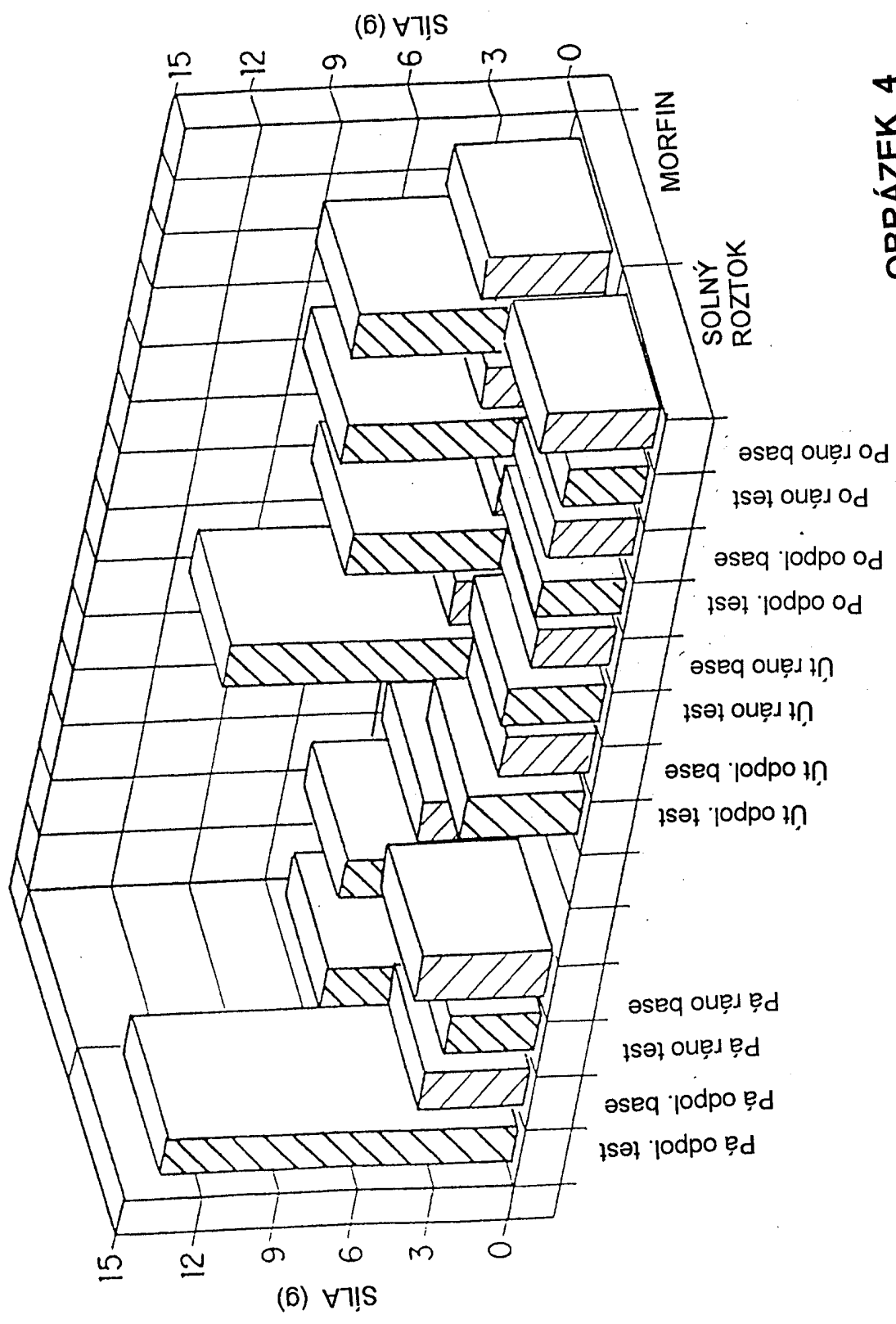
++ odlišné od samotného solného roztoku; $p < 0,05$

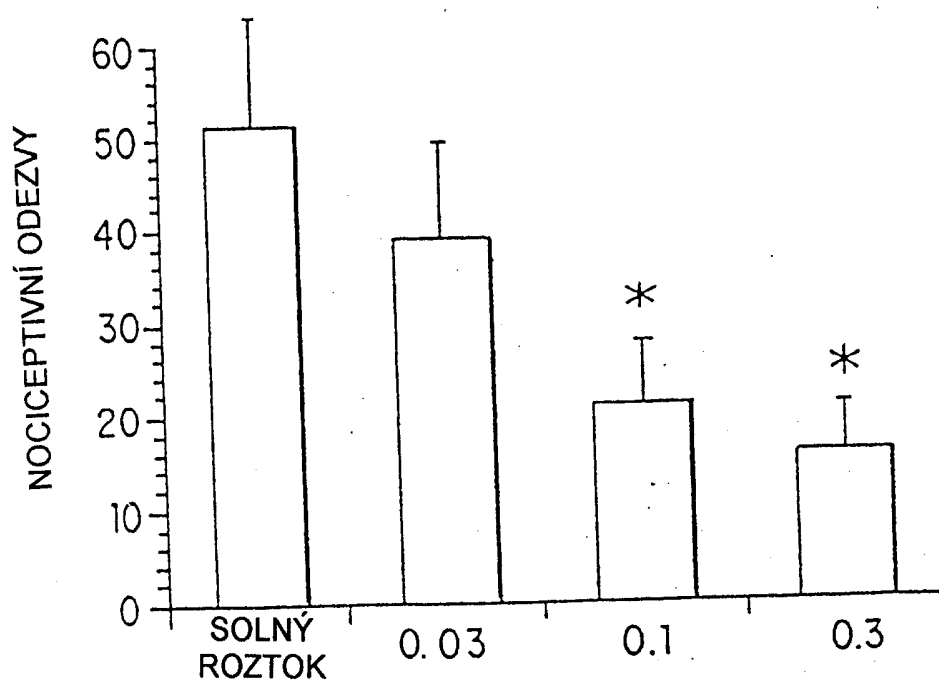
OBRÁZEK 2



OBRÁZEK 3

OBRÁZEK 4

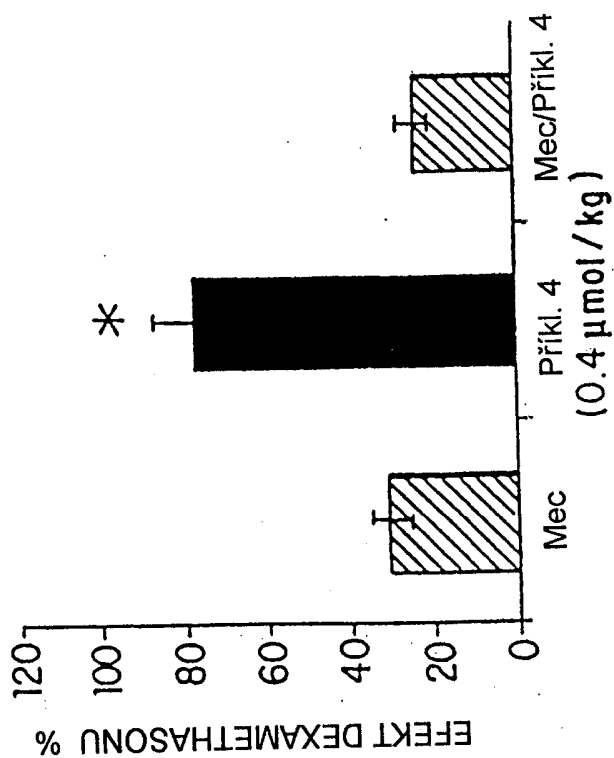




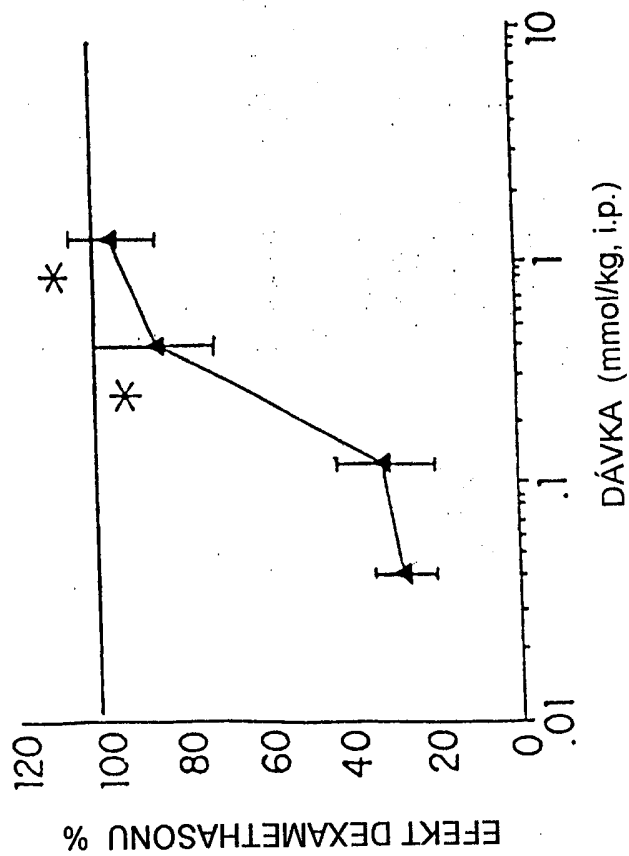
SLOUČENINA Z PŘÍKLADU 4 ($\mu\text{mol/kg}$, p.o.)

* odlišné od solného roztoku, $p < 0,05$.

OBRÁZEK 5



OBRAZEK 6B



OBRAZEK 6A