

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **26.06.2002**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **27.06.2001 26.04.2002**
(31) Číslo prioritní přihlášky: **2001/301333 2002/376015**
(33) Země priority: **US US**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu:
(Věstník č: 5/2004)
(86) PCT číslo: **PCT/US2002/020471**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2003/002531**

(21) Číslo dokumentu:

2003-3521

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁷ :
C 07 D 207/16 A 61 P 3/10
C 07 D 401/12
C 07 D 409/12
C 07 D 413/12
C 07 D 401/06
C 07 D 409/06
A 61 K 31/40
A 61 K 31/4025

(71) Přihlašovatel:
SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION,
Philadelphia, PA, US

(72) Původce:
Hafner Curt Dale, Research Triangle Park, NC, US
McCougald Darryl Lynn, Research Triangle Park, NC,
US
Randhawa Amarjit Sab, Research Triangle Park, NC, US
Reister Steven Michael, Research Triangle Park, NC, US
Lenhard James Martin, Research Triangle Park, NC, US

(74) Zástupce:
Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha 1, 11000

(54) Název přihlášky vynálezu:
Fluorpyrrolidinové deriváty a farmaceutický
prostředek

(57) Anotace:
Nové sloučeniny, jejich použití pro inhibici serinových
proteáz jako jsou dipeptidylpeptidázy, jako je
dipeptidylpeptidáza IV (DPP-IV) a způsoby jejich výroby a
jejich použití v lékařství.

CZ 2003 - 3521 A3

Fluorpyrrolidinové deriváty a farmaceutický prostředek

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká sloučenin inhibujících dipeptidylpeptidázy, jako je dipeptidylpeptidáza II (DPP-II) a IV (DPP-IV), způsobů jejich výroby a jejich použití v lékařství.

Dosavadní stav techniky

Dipeptidylpeptidáza IV (DPP-IV) je serinová proteáza štěpící za prolinem/alaninem, která se nalézá v různých tkáních těla včetně ledvin, jater a střev. Předpokládá se, DPP-IV řídí aktivitu celé řady fyziologicky důležitých peptidů, včetně bez omezení GLP1, GIP, GLP2, GRP, vazoaktivního intestinálního peptidu, peptidu histidinmethioninu, PYY, látky P, beta-kasomorfinu, NPY, PACAP38, prolaktinu, choriového gonadotropinu, aprotininu, peptidu středního laloku podobného kortikotropinu, peptidu aktivujícího adenylcyklázu podvěsku mozkového, (Tyr)melanostatinu, LD78beta(3-70), RANTES, eotaxinprokolipázy, enterostatinu, vazostatinu 1, endomorfínu, morficeptinu, faktoru odvozeného od stromálních buněk, chemokinu odvozeného od makrofágů, chemotaktického proteinu-2 granulocytů, a GHRH/GRF. Jako příklady terapeutického účinku DPP-IV je možno uvést, že DPP-IV se účastní řady metabolických, gastrointestinálních, virových a zánětlivých onemocnění, včetně bez omezení onemocnění ze skupiny diabetes, obezita, hyperlipidemie, onemocnění kůže nebo slizniční membrány, lupénka, střevní onemocnění, zácpa, autoimunitní onemocnění jako je encefalomyelitida, onemocnění podmíněná komplementem jako je glomerulonefritida, lipodystrofie, poškození tkání, psychosomatická, depresivní a neuropsychiatrická onemocnění jako je úzkost, deprese, nespavost, schizofrenie, epilepsie, křeče a

chronická bolest, infekce HIV, alergie, zánět, artritida, odmítání transplantátů, vysoký krevní tlak, městnavé selhání srdce, tumory a potraty indukované stresem, např. myší potraty působením cytokinů. Například DPP-IV, známý také jako CD26, zprostředkuje aktivaci T-buněk a infekci HIV (Ohtsuki a další, 2000). U jedinců infikovaných HIV jsou přednostně infikovány a vyčerpávány T-buňky exprimující DPP-IV/CD26 (Ohtsuki a další, 2000). Ukázalo se, že inhibitory DPP-IV mají protizánětlivé účinky ve zvířecích modelech artritidy (Tanaka a další, 1997). Navíc bylo ukázáno, že inhibice DPP-IV prodlužuje přežívání srdečních transplantátů (Korom a další, 1997). Studie in vitro ukazují, že exprese DPP-IV/CD26 je v korelaci s postupem tumoru u maligních melanomů kůže (Van den Oord, 1998). Navíc se předpokládá, že DPP-IV řídí metabolismus odštěpováním předposledního prolinu/alaninu na aminovém konci polypeptidů (Mentlein, 1999), jako jsou peptidy podobné glukagonu (GLP) a neuropeptid Y (NPY).

Konkrétněji napomáhají GLP metabolizaci glukózy a peptidy GLP by pravděpodobně byly prospěšné při léčení metabolických poruch jako je diabetes. Diabetes např. typu 2 (nazývaná také diabetes mellitus nezávislá na inzulinu (NIDDM) nebo diabetes nastupující v dospělosti), vede ke zvýšeným hladinám krevního cukru v důsledku absolutního nebo relativního nedostatku inzulinu. Diabetes typu 2 je běžnější forma diabetu, která se vyskytuje u 90 % případů nebo u přibližně 16 milionů Američanů. Většina diabetiků typu 2 produkuje různá, někdy normální množství inzulinu, ale mají abnormality v játrech a svalových buňkách, které způsobí rezistenci na jeho působení. Inzulin se naváže na buněčné receptory, ale glukóza neproniká dovnitř, což je podmínka známá jako rezistence na inzulin. Zdá se, že mnoho diabetiků typu 2 není schopno vylučovat dostatečné množství inzulinu, aby se předešlo rezistenci na inzulin. GLP-1 zvyšuje sekreci inzulinu. Regulace GLP-1 tedy koreluje s regulací sekrece inzulinu. Navíc snižuje GLP-1 jaterní produkci glukózy, vyprazdňování

žaludku a příjem potravy (Deacon a další, 1995). GLP-2 dále udržuje integritu střevního slizničního epitelu působením na pohyblivost žaludku, absorpci živin, proliferaci a apoptózu kryptických buněk a střevní permeabilitu (Drucker, 2001).

Inhibitory DPP-IV zachovávají funkci GLP-1 po delší dobu (Balka, 1999). Inhibitory DPP-IV mohou podporovat přesycenost, úbytek hmotnosti a antidiabetické účinky GLP-1 (Deacon a další, 1995; Holst a Deacon, 1998). Například inhibice DPP-IV známou sloučeninou NVP-DPP728 zvyšuje plasmatické koncentrace GLP-1 (2 - 36 amid) a zlepší orální toleranci glukózy u obézních Zuckerových krys, viz *Diabetologia* 42: 1324 - 1331. Subkutánně i intravenózně podaný GLP-1 podléhá rychlé degradaci od NH₂-konce u diabetických pacientů typu II i u zdravých osob, viz *Diabetes* 44: 1126, 1995.

Inhibitory DPP-IV navíc zachovávají působení GLP-2 po delší dobu a mohou být tedy použitelné pro léčení střevní nedostatečnosti a onemocnění slizniční membrány (Hartmann B. a další, 2000).

Zatímco DPP-IV je proteáza převážně regulující biochemický obrat GLP, podobná substrátová nebo inhibiční specifita může být pozorována i u příbuzných proteáz. Příbuzné serinové proteázy zahrnují bez omezení proteázy ze skupiny dipeptidylpeptidáza-II (DPP-II), dipeptidylpeptidáza IV beta, dipeptidylpeptidáza 8, dipeptidylpeptidáza 9, aminopeptidáza P, protein alfa aktivující fibroblasty (sepráza), prolyltriptydylpeptidáza, prolyloligopeptidáza (endoproteináza Pro-C), atraktin (rozpuštěná dipeptidylaminopeptidáza), acylaminoacylpeptidáza (N-acylpeptidhydroláza; fMet aminopeptidáza) a lysozomální Pro-X karboxypeptidáza (angiotensináza C, prolylkarboxypeptidáza). Metalopeptidázy štěpící prolin mohou mít podobné substrátové nebo inhibiční specifity jako DPP-IV včetně membránové Pro-X karboxypeptidázy (karboxypeptidáza P), enzymu konvertujícího angiotensin (peptidyldipeptidáza A multi-peptidáza], kolagenázy 1

(intersticiální kolagenáza; matricová metaloproteináza 1; MMP-1; Mcol-A), ADAM 10 (alfa-sekretáza, desintegrinová metaloproteináza asociovaná s myelinem), neprilysinu (atriopeptidáza; CALLA; CD10; endopeptidáza 24.11; enkefalináza), makrofágové elastázy (metaloelastáza; matricová metaloproteináza 12; MMP-12], matrilysinu (matricová metaloproteináza 7; MMP-7), a neurolysinu (endopeptidáza 24.16; mikrozomální endopeptidáza; mitochondriální oligopeptidáza). Další odkazy viz <http://merops.iapc.bbsrc.ac.uk/>.

Kromě savčích serinových peptidáz a metalopeptidáz štěpících prolin, mohou podobnou substrátovou nebo inhibiční specifitu jako DPP-IV sdílet i další jiné než savčí proteázy. Neomezující příklady těchto jiných než savčích serinových proteáz jsou: prolylaminopeptidáza (prolyliminopeptidáza), IgA1-specifická prolylendopeptidáza serinového typu (IgA proteáza, *Neisseria*, *Haemophilus*), dipeptidylaminopeptidáza A (STE13) (*Saccharomyces cerevisiae*), dipeptidylaminopeptidáza B (houby), homolog prolyl oligopeptidázy (*Pyrococcus* sp.), oligopeptidáza B (*Escherichia coli* alkalická proteináza II; proteáza II), dipeptidylaminopeptidáza B1 (*Pseudomonas* sp.), dipeptidylpeptidáza IV (bakterie), dipeptidylaminopeptidáza (*Aureobacterium*), dipeptidylpeptidáza IV (hmyz), dipeptidylpeptidáza V, alergen Tri t 4 (*Trichophyton tonsurans*), sekrenovaná alanyl DPP (*Aspergillus oryzae*), peptidáza II-mes (*Prosopis velutina*), bambusová serinová proteináza (*Pleuroblastus hindsii*). Neomezující příklady takových jiných než savčích metalopeptidáz štěpících prolin zahrnují penicilolysin (houbová kyselá metaloendopeptidáza), prolin-specifická peptidyldipeptidáza (*Streptomyces*), coccolysin (gelatináza, *Enterococcus faecalis*), aminopeptidáza Ey, (žloutku slepic) (apdE g.p.; *Gallus gallus domesticus*), gametolysin (proteáza degradující buněčné stěny *Chlamydomonas*), a metaloproteázy štěpící prolin hadího jedu, viz <http://merops.iapc.bbsrc.ac.uk/>, kde je možno najít další odkazy.

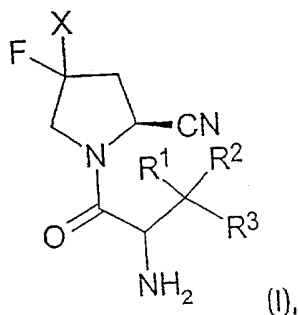
Dipeptidylpeptidáza II (DPP II) je serinová proteáza lokalizovaná v lysosomech v buňkách, a předpokládá se, že se účastní lysosomální degradace a metabolismu proteinů. Pořadí míry exprese DPP-II je ledvina > > varle > nebo = srdce > mozek > nebo = plíce > slezina > kosterní svalstvo > nebo = játra (Araki H a další, J. Biochem. (Tokio) 2001, 129: 279 - 88). Tato exprese ukazuje na možné využití při onemocnění souvisejících s ledvinami nebo lysosomy. Studie substrátové specifity ukázaly, že čištěná DPP-II hydrolyzuje specificky alaninové nebo prolinové zbytky při kyselém pH (4,5 - 5,5). DPP-II má významnou sekvenční homologii a substrátovou specifitu jako prolindipeptidáza klidových buněk a prolylkarboxypeptidáza, což ukazuje na možné překrývání funkcí mezi těmito proteázami (Araki H. a další, J. Biochem. (Tokio) 2001, 129: 279 - 88).

Předkládaný vynález zahrnuje nové inhibitory DPP-II a/nebo DPP-IV, stejně jako způsoby jejich terapeutického využití a způsoby jejich přípravy. Aniž by si autoři přáli být následujícím seznamem omezení, předpokládá se, že sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou použitelné pro léčení řady metabolických, gastrointestinálních, virových a zánětlivých onemocnění, včetně bez omezení onemocnění jako diabetes, obezita, hyperlipidemie, onemocnění kůže nebo slizničních membrán, lupénka, střevní onemocnění, zácpa, autoimunitní onemocnění jako je encefalomyelitida, onemocnění podmíněná komplementem jako je glomerulonefritida, lipodystrofie, a poškození tkání, psychosomatická, depresivní, a neuropsychiatrická onemocnění jako je úzkost, deprese, nespavost, schizofrenie, epilepsie, křeče a chronická bolest, infekce HIV, alergie, zánět, artritida, odmítání transplantátů, vysoký krevní tlak, městnavé selhání srdce, tumory a potraty indukované stresem, např. potraty myši indukované cytokiny.

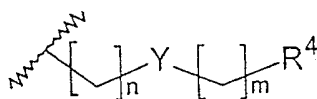
Ve srovnání s jinými inhibitory dipeptidylpeptidáz poskytují sloučeniny podle předkládaného vynálezu zlepšenou stabilitu, účinnost, délku působení a/nebo zlepšené profily bezpečnosti/toxicity.

Podstata vynálezu

Předkládaný vynález zahrnuje sloučeniny vzorce (I):



včetně jejich solí, solvátů a farmaceuticky funkčních derivátů, kde X je F nebo H; každá R^1 a R^2 jsou buď atom vodíku; alkyl; popřípadě substituovaný aryl nebo heteroaryl; nebo jsou kombinovány za vytvoření 3 až 14-členného kruhového systému, popřípadě obsahujícího jeden nebo více heteroatomů, a popřípadě obsahujícího jeden nebo více stupňů nenasycení. Jestliže R^1 a R^2 jsou popřípadě substituovaný aryl nebo heteroaryl, potom R^3 je H nebo alkyl. Jinak je skupina R^3

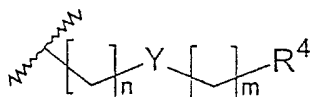


kde n je 0 - 5; m je 0 - 12; Y je $S(O)_p$, O, alkylen, alkenylen, alkinylen, nebo vazba; p je 0 - 2; R^4 je R^5 , jestliže Y je S, O, alkylen, alkenylen, alkinylen nebo vazba, kde R^5 je popřípadě substituovaný alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, cykloalkyl, heteroaryl, nebo heterocyklyl; a R^4 je R^6 , jestliže Y je $S(O)$ nebo $S(O)_2$, kde R^6 je popřípadě substituovaný alkyl, aryl, cykloalkyl, heteroaryl, amino, alkylamino, arylamino, heteroarylamino, cykloalkylamino nebo hydroxy.

Výhodné případné substituenty zahrnují bez omezení jednu nebo více skupin alkyl, alkoxy, aryloxy, halogen, haloalkyl, kyano, alkylsulfonyl nebo aryl. Výhodněji zahrnují případné skupiny jednu nebo více skupin C₁-C₆ alkyl, C₁-C₆ alkoxy, fenoxi, benzoxy, fluor, chlor, C₁-C₆ haloalkyl, kyano, C₁-C₆ alkylsulfonyl, fenyl nebo benzyl.

V jednom provedení jsou každá skupina R¹ a R² aryl, a R³ je H. S výhodou každý aryl je fenyl. Výhodněji každý fenyl je substituovaný atomem halogenu. Výhodněji každý halogen je atom fluoru, výhodněji 4-fluor.

V dalším provedení skupiny R¹ a R² jsou vždy alkyl a R³ je



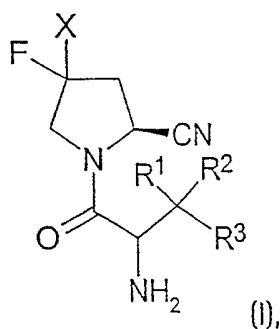
S výhodou každá skupina alkyl je C₁-C₆ alkyl. Výhodněji každá skupina alkyl je methyl. S výhodou n je 0, m je 1, a Y je S(O)_p. V jednom výhodném provedení p je 0, R⁴ je R⁵, a R⁵ je popřípadě substituovaný aryl. S výhodou R⁵ je fenyl substituovaný skupinou alkoxy. Výhodněji skupina alkoxy je methoxy. V dalším výhodném provedení p je 1 nebo 2, R⁴ je R⁶, a R⁶ je popřípadě substituovaný aryl. S výhodou R⁶ je fenyl substituovaný skupinou alkoxy. Výhodněji skupina alkoxy je methoxy. Výhodněji p je 2.

V jednom provedení je znázorněná skupina NH₂ s výhodou v konfiguraci *cis* vzhledem k nitrilové účinné skupině (warhead). V dalším provedení je s výhodou znázorněná skupina NH₂ v konfiguraci *trans* vzhledem k nitrilové účinné skupině.

S výhodou A je H. S výhodou je znázorněná skupina F v konfiguraci *cis* vzhledem k zobrazené nitrilové skupině.

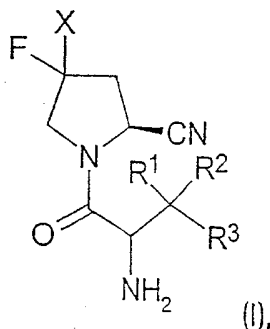
Zvláště výhodné sloučeniny podle předkládaného vynálezu zahrnují sloučeniny vzorce (I):

23.02.04



včetně solí, solvátů a a farmaceuticky funkčních derivátů, kde X je F nebo H; každá skupina R^1 a R^2 je popřípadě substituovaný aryl nebo heteroaryl; a R^3 je H nebo alkyl.

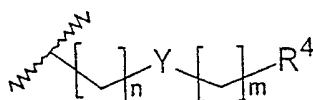
Zvláště výhodné sloučeniny podle předkládaného vynálezu zahrnují sloučeniny vzorce (I):



včetně solí, solvátů a farmaceuticky funkčních derivátů, kde X je F nebo H; každá skupina R^1 a R^2 je buď

- (i) alkyl; nebo
- (ii) jsou tyto skupiny kombinovány za vytvoření 3 až 14-členného kruhového systému, popřípadě obsahujícího jeden nebo více heteroatomů, a popřípadě obsahujícího jeden nebo více stupňů nenasycenosti;

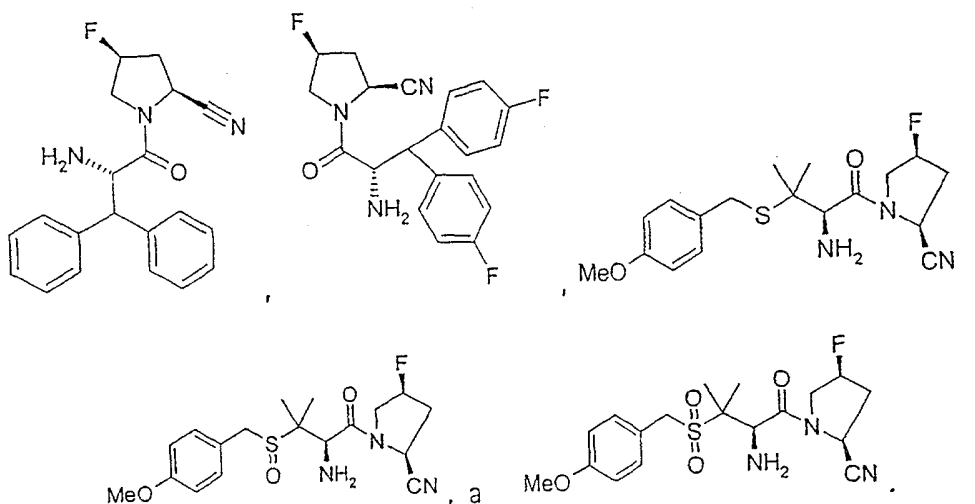
R^3 je



kde n je 0 až 5; m je 0 až 12; Y je $S(O)_p$, O, alkylen, alkenylen, nebo alkinylen; p je 0 až 2; R^4 je R^5 , jestliže Y je S, O, alkylen, alkenylen, nebo alkinylen, kde R^5 je popřípadě substituovaný alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, cykloalkyl, heteroaryl, nebo heterocyklyl; a R^4 je R^6 , jestliže Y je $S(O)$ nebo $S(O)_2$, kde R^6 je popřípadě substituovaný alkyl, aryl, cykloalkyl, heteroaryl, amino, alkylamino, arylamino, heteroarylamino, cykloalkylamino nebo hydroxy.

S výhodou p je 1 nebo 2. Výhodněji p je 2. S výhodou jsou každá R^1 a R^2 alkyl. Výhodněji jsou každá R^1 a R^2 C_1 - C_6 alkyl. Výhodněji jsou každá R^1 a R^2 methyl.

Zvláště výhodné sloučeniny podle předkládaného vynálezu zahrnují:



Zvláště výhodné sloučeniny jsou zvoleny ze skupiny:

- (2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3,3-diphenylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3,5-bis(4-fluorfenyl)propanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;



- (2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-5-(4-fluorfenyl)-3,3-dimethylpentanoyl]-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril hydrochlorid;
- (2S,4R)-1-[(2S)-2-amino-4-(4-fluorfenyl)-3,3-dimethylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2R)-2-amino-3-[(4-methoxybenzyl)thio]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2R)-2-amino-3-methyl-3-[(3-fenylpropyl)thio]butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2R)-2-amino-3-methyl-3-[(2-fenylethyl)thio]butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2R)-2-amino-3-[[3-(4-fluorfenyl)propyl]thio]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2R)-2-amino-3-[(4-methoxybenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2R)-2-amino-3-[(4-methoxybenzyl)sulfinyl]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2R)-2-amino-3-methyl-3-[[4-(trifluormethyl)benzyl]thio]-butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-2-(1-vinylcyklopentyl)ethanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-5-(4-methoxyfenyl)-3,3-dimethylpentanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2R)-2-amino-3-methyl-3-[(3-fenylpropyl)sulfonyl]butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril;
- (2S,4S)-1-[(2R)-2-amino-3-methyl-3-[(4-methylbenzyl)sulfonyl]-butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril;
- (2S,4S)-1-[(2R)-2-amino-3-[[4-(benzyloxy)benzyl]sulfonyl]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril;

- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(4-kyanobenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[[4-(methylsulfonyl)benzyl]-sulfonyl]butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril;
- (2S,4S)-1-((2S)-2-amino-2-[1-(4-fluorbenzyl)cyklopentyl]ethanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2S)-2-amino-2-{1-[4-(trifluormethyl)fenyl]cyklopentyl}-ethanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2S)-2-amino-2-[1-(4-fluorbenzyl)cyklopropyl]ethanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2R)-2-amino-3-(benzylsulfonyl)-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(3-methoxybenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(1,1'-bifenyl-4-ylmethyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(2-methoxybenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(pyridin-3-ylmethyl)thio]butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(pyridin-2-ylmethyl)thio]butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(pyridin-4-ylmethyl)thio]butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(4-fluorbenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(3-fenoksybenzyl)sulfonyl]-butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(3-fenoxibenzyl)thio]butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[[5-chlor-1,1-dioxido-1-benzothien-3-yl)-methyl]sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(2,1,3-benzoxadiazol-5-ylmethyl)thio]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(pyridin-4-ylmethyl)sulfonyl]-butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-pyridin-4-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-pyridin-3-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-piperidin-4-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril dihydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-piperidin-3-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril dihydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-piperidin-2-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril dihydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2S)-2-amino-3-[1-(isopropylsulfonyl)piperidin-4-yl]-propanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2S)-2-amino-3-[1-(4-methylfenylsulfonyl)piperidin-4-yl]-propanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2S)-2-amino-3-[1-(isopropylsulfonyl)piperidin-3-yl]-propanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2S)-2-amino-3-[1-(4-methylfenylsulfonyl)piperidin-3-yl]-propanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-(1-benzothien-3-yl)propanoyl]-4-fluor-pyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-methyl-3-[4-(trifluormethyl)fenyl]butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid; a

(3R)-3-amino-4-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]-2-methyl-4-oxobutan-2-sulfonová kyselina.

Další provedení předkládaného vynálezu zahrnuje farmaceutické prostředky obsahující sloučeninu podle předkládaného vynálezu. Farmaceutický prostředek dále s výhodou obsahuje farmaceuticky přijatelný nosič.

Další provedení předkládaného vynálezu zahrnuje způsob inhibice proteázy s místem štěpení za prolinem/alaninem podáváním sloučeniny podle předkládaného vynálezu. Proteáza s místem štěpení za prolinem/alaninem je s výhodou serinová proteáza. Výhodněji je serinovou proteázou dipeptidylpeptidáza. Výhodněji je dipeptidylpeptidázou DPP-II nebo DPP-IV.

V dalším provedení předkládaného vynálezu zahrnuje způsob léčení nebo prevence metabolických onemocnění, gastrointestinálních poruch, virových onemocnění, zánětlivých onemocnění, diabetu, obezity, hyperlipidemie, onemocnění kůže nebo slizničních membrán, lupénky, onemocnění střev, zácpy, autoimunitních onemocnění, encefalomyelitidy, onemocnění podmíněných komplementem, glomerulonefritidy, lipodystrofie, poškození tkání, psychosomatických, depresivních a neuropsychiatrických poruch, infekce HIV, alergií, zánětu, artritidy, odmítnutí transplantátů, vysokého krevního tlaku, městnavého selhání srdce, tumorů a potratů indukovaných stresem podáváním sloučeniny podle předkládaného vynálezu. Sloučeniny podle vynálezu se s výhodou podávají pro léčení nebo prevenci diabetu.

Další provedení předkládaného vynálezu zahrnuje použití sloučeniny podle předkládaného vynálezu při výrobě léčiva pro inhibici proteázy s místem štěpení za prolinem/alaninem. Proteázou s místem štěpení za prolinem/alaninem je s výhodou serinová proteáza. Serinovou proteázou je s výhodou dipeptidylpeptidáza. Výhodněji je dipeptidylpeptidázou DPP-II nebo DPP-IV.

Další provedení předkládaného vynálezu zahrnuje použití sloučeniny podle předkládaného vynálezu pro výrobu léčiva pro léčení nebo prevenci metabolických onemocnění, gastrointestinálních poruch, virových onemocnění, zánětlivých onemocnění, diabetu, obezity, hyperlipidemie, onemocnění kůže nebo slizničních membrán, lupénky, onemocnění střev, zácpy, autoimunitních onemocnění, encefalomyelitidy, onemocnění podmíněných komplementem, glomerulonefritidy, lipodystrofie, poškození tkání, psychosomatických, depresivních a neuropsychiatrických poruch, infekce HIV, alergií, zánětu, artritidy, odmítnutí transplantátů, vysokého krevního tlaku, městnavého selhání srdce, tumorů a potratů indukovaných stresem.

Další provedení předkládaného vynálezu zahrnuje sloučeninu podle předkládaného vynálezu pro použití jako aktivní léčebné látky. Sloučenina podle předkládaného vynálezu může být navíc použita při výrobě léčiva pro inhibici serinové proteázy. Toto použití je s výhodou pro výrobu léčiva pro léčení nebo prevenci metabolických onemocnění, gastrointestinálních poruch, virových onemocnění, zánětlivých onemocnění, diabetu, obezity, hyperlipidemie, onemocnění kůže nebo slizničních membrán, lupénky, onemocnění střev, zácpy, autoimunitních onemocnění, encefalomyelitidy, onemocnění podmíněných komplementem, glomerulonefritidy, lipodystrofie, poškození tkání, psychosomatických, depresivních a neuropsychiatrických poruch, infekce HIV, alergií, zánětu, artritidy, odmítnutí transplantátů, vysokého krevního tlaku, městnavého selhání srdce, tumorů a potratů indukovaných stresem.

Podrobný popis výhodného provedení

Termín „alkyl“ znamená přímý nebo rozvětvený řetězec nasyceného alifatického uhlovodíku, který může být popřípadě substituovaný, přičemž je možná vícenásobná substituce. Příklady skupiny „alkyl“ zahrnují bez omezení methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, t-butyl, n-pentyl, isobutyl, apod.

Jak se v této přihlášce používá, výhodný počet atomů uhlíku bude vyjádřen například výrazem „C_x-C_y alkyl“, který označuje alkylovou skupinu, jak je zde definována, obsahující uvedený počet atomů uhlíku. Podobná terminologie bude platit i pro další výhodná rozmezí.

Termín „alkylen“ označuje dvojvazný alifatický uhlovodíkový radikál s přímým nebo rozvětveným řetězcem, který může být popřípadě substituovaný, přičemž je možná vícenásobná substituce. Příklad skupiny „alkylen“ zahrnuje, bez omezení, methylen, zejména -CH₂-.

Termín „alkenyl“ označuje přímý nebo rozvětvený alifatický uhlovodík, obsahující jednu nebo více dvojných vazeb uhlík-uhlík, který může být popřípadě substituovaný, přičemž je možná vícenásobná substituce. Příklady zahrnují bez omezení vinyl apod.

Jak se zde používá, termín „alkenylen“ označuje dvojvazný alifatický uhlovodíkový radikál s přímým nebo rozvětveným řetězcem, obsahující jednu nebo více dvojných vazeb uhlík-uhlík, který může být popřípadě substituovaný, přičemž je možná vícenásobná substituce. Příklad skupiny „alkenylen“ zahrnuje, bez omezení, vinylen, zejména -CH=CH-.

Jak se zde používá, termín „alkinyl“ označuje přímý nebo rozvětvený alifatický uhlovodík obsahující jednu nebo více trojných vazeb, které mohou být popřípadě substituovány, přičemž je možná

vícenásobná substituce. Příklady skupiny „alkinyl“, jak se zde používá, zahrnují bez omezení ethinyl apod.

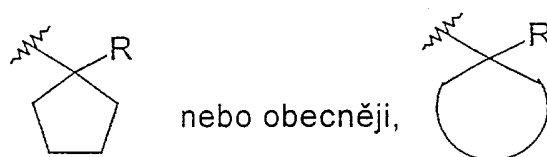
Jak se zde používá, termín „alkinylen“ označuje dvojjazný alifatický uhlovodíkový radikál s přímým nebo rozvětveným řetězcem, obsahující alespoň jednu trojnou vazbu uhlík-uhlík, který může být dále substituovaný, přičemž je možná vícenásobná substituce. Příklad skupiny „alkinylen“ zahrnuje bez omezení ethinylen, zejména $\text{-C}\equiv\text{C-}$.

Termín „aryl“ označuje aromatický kruhový systém, jako je popřípadě substituovaný benzenový kruhový systém, jako je fenyl. Tento termín zahrnuje fúzované systémy, kde jeden nebo více popřípadě substituovaných benzenových kruhů tvoří například anthracenové, fenanthrenové, nebo naftalenové kruhové systémy. Termín zahrnuje kruh nebo kruhy popřípadě substituované, přičemž je možná vícenásobná substituce, a také zahrnuje případnou alkylenovou propojovací skupinu, jako je $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkylen, prostřednictvím které může být arylová skupina navázána. Příklady skupiny „aryl“ zahrnují bez omezení fenyl, benzyl, 2-naftyl, 1-naftyl, bifenyl stejně jako jejich substituované deriváty.

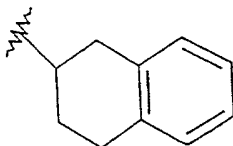
Termín „heteroaryl“ označuje monocyklický aromatický kruhový systém, nebo fúzovaný bicyklický aromatický kruhový systém obsahující dva nebo více aromatických kruhů. Tyto heteroarylové kruhy obsahují jeden nebo více atomů dusíku, síry, a/nebo atomů kyslíku, kde přípustnými substituenty heteroatomů mohou být N-oxidy, oxidy a dioxidy síry, přičemž je možná vícenásobná substituce. Tento termín zahrnuje kruh nebo kruhy, které mohou být popřípadě substituované, přičemž je možná vícenásobná substituce, a také zahrnuje případnou alkylenovou propojovací skupinu, jako je $\text{C}_1\text{-C}_6$ alkylen, prostřednictvím které může být heteroarylová skupina navázána. Příklady skupiny „heteroaryl“, které se zde používají, zahrnují furan, thiofen, pyrrol, imidazol, pyrazol, triazol, tetrazol, thiazol, oxazol, isoxazol, oxadiazol, thiadiazol, isothiazol, pyridin,

pyridazin, pyrazin, pyrimidin, chinolin, isochinolin, benzofuran, benzothiofen, indol, indazol, a jejich substituované varianty.

Jak se zde používá, termín „cykloalkyl“ označuje mono- nebo bicycklický uhlovodíkový kruhový systém, který může být dále substituovaný, přičemž je možná vícenásobná substituce, a který popřípadě zahrnuje alkýlenovou propojovací skupinu, prostřednictvím které může být cykloalkylová skupina navázána. Příklady skupin „cykloalkyl“ zahrnují bez omezení cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl, cyklohexyl a cykloheptyl. Jestliže jsou přítomny substituenty, jedním výhodným místem substituentu cykloalkylových skupin podle předkládaného vynálezu je poloha „1“. Pro ilustraci a bez omezení je výhodné umístění substituentu dále reprezentováno substituentem označeným jako „R“:



Termín „cykloalkyl“ zahrnuje přemostěné nebo fúzované kruhové systémy jako je hydrindan, dekalin, nebo adamantyl. Pro usnadnění odkazů zahrnuje tento termín také fúzované systémy cykloalkyl/aryl, kde je například cykloalkyl, jako je cyklohexyl, fúzovaný s aromatickým kruhem jako je benzenový kruh, za vytvoření skupin jako je



Jak se zde používá, termín „heterocyklický“ nebo termín „heterocyklyl“ označuje heterocyklický kruh, s výhodou 3 až 12-členný, který je buď nasycený nebo má jeden nebo více stupňů nenasycenosti. Tyto heterocyklické kruhy obsahují jeden nebo více heteroatomů, jako je atom dusíku, síry, a/nebo kyslíku, kde přípustné substituenty heteroatomů jsou N-oxidy, oxidy síry a dioxidy síry. Jak se zde používá, heterocyklické skupiny mohou být popřípadě substituované, přičemž je možná vícenásobná substituce, a také zahrnují případnou alkylenovou propojovací skupinu jako je C₁-C₆ alkylen, prostřednictvím které může být skupina heterocyklyl navázána. Tento kruh může být popřípadě fúzovaný s jedním nebo více dalšími „heterocyklickými“ kruhy, jedním nebo více arylovými kruhy nebo jedním nebo více cykloalkylovými kruhy. Příklady skupiny „heterocykl“ zahrnují bez omezení tetrahydrofuran, pyran, 1,4-dioxan, 1,3-dioxan, piperidin, pyrrolidin, morfolin, tetrahydrothiopyran, tetrahydrothiofen, apod.

Termín „halogen“ označuje fluor, chlor, brom, nebo jod.

Termín „haloalkyl“ označuje alkylovou skupinu, jak je zde definována, která je substituovaná alespoň jedním atomem halogenu. Neomezující příklady skupiny „haloalkyl“ zahrnují methyl, ethyl, propyl, isopropyl, n-butyl a t-butyl substituovaný nezávisle jedním nebo více atomy halogenu, jako např. fluor, chlor, brom, a/nebo jod. Termín „haloalkyl“ by měl být interpretován tak, aby zahrnoval i takové substituenty jako perfluoralkyl, například trifluormethyl, CF₃, apod.

Jak se zde používá, termín „haloalkoxy“ označuje skupinu -OR_a, kde R_a je haloalkyl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „alkoxy“ označuje skupinu -OR_a, kde R_a je alkyl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „aryloxy“ označuje skupinu -OR_b, kde R_b je aryl, jak je zde definováno.

Jako příklad platný v rámci celého popisu, protože termín „aryl“

zahrnuje popřípadě substituované arylové skupiny, termín „aryloxy“ zahrnuje popřípadě substituované skupiny aryloxy. Případná substituce platí pro všechny zde definované výrazy, kde je substituce možná. Dále, jak definováno výše, termín „aryl“ zahrnuje arylové skupiny navázané přes alkylenovou skupinu. Termíny jako „aryloxy“ apod. by tedy měly zahrnovat arylové skupiny navázané přes alkylen. Jako příklad, který však nemá být omezující, je možno uvést jako skupinu aryloxy skupinu $-OR_b$, kde R_b je benzyl.

Jak se zde používá, termín „heteroaryloxy“ označuje skupinu $-OR_b$, kde R_b je heteroaryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „alkoxykarbonyl“ označuje skupinu $-C(O)OR_a$, kde R_a je alkyl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „aryloxykarbonyl“ označuje skupinu $-C(O)OR_a$, kde R_a je aryl jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „heteroaryloxykarbonyl“ označuje skupinu $-C(O)OR_a$, kde R_a je heteroaryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „alkoxythiokarbonyl“ označuje skupinu $-C(S)OR_a$, kde R_a je alkyl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „aryloxythiokarbonyl“ označuje skupinu $-C(S)OR_a$, kde R_a je aryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „heteroaryloxythiokarbonyl“ označuje skupinu $-C(S)OR_a$, kde R_a je heteroaryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „oxo“ označuje skupinu $=O$.

Jak se zde používá, termín „merkpto“ označuje skupinu $-SH$.

Jak se zde používá, termín „thio“ označuje skupinu $-S-$.

Jak se zde používá, termín „sulfinyl“ označuje skupinu $-S(O)-$.

Jak se zde používá, termín „sulfonyl“ označuje skupinu $-S(O)_2-$.

Jak se zde používá, termín „alkylthio“ označuje skupinu $-SR_a$,

kde R_a je alkyl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „arylthio“ označuje skupinu $-SR_b$, kde R_b je aryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „heteroarylthio“ označuje skupinu $-SR_b$, kde R_b je heteroaryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „alkylsulfinyl“ označuje skupinu $-S(O)R_a$, kde R_a je alkyl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „arylsulfinyl“ označuje skupinu $-S(O)R_b$, kde R_b je aryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „heteroarylsulfinyl“ označuje skupinu $-S(O)R_b$, kde R_b je heteroaryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „alkylsulfonyl“ označuje skupinu $-S(O)_2R_a$, kde R_a je alkyl jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „cykloalkylsulfonyl“ označuje skupinu $-S(O)_2R_a$, kde R_a je cykloalkyl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „arylsulfonyl“ označuje skupinu $-S(O)_2R_b$, kde R_b je aryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „heteroarylsulfonyl“ označuje skupinu $-S(O)_2R_b$, kde R_b je heteroaryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „aminosulfonyl“ označuje skupinu $-S(O)_2NH_2$.

Jak se zde používá, termín „kyano“ označuje skupinu $-CN$.

Jak se zde používá, termín „kyanoalkyl“ označuje skupinu $-R_aCN$, kde R_a znamená alkylen, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „karboxy“ označuje skupinu $-COOH$.

Jak se zde používá, termín „karbamoyl“ označuje skupinu $-C(O)NH_2$.

Jak se zde používá, termín „alkylkarbamoyl“ označuje skupinu



$-C(O)N(R_a)_2$, kde jedna skupina R_a je alkyl a další R_a je nezávisle H nebo alkyl.

Jak se zde používá, termín „arylkarbamoyl“ označuje skupinu $-C(O)N(R_a)_2$, kde jedna skupina R_a je aryl a druhá R_a je nezávisle H nebo aryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „heteroarylkarbamoyl“ označuje skupinu $-C(O)N(R_a)_2$, kde jedna skupina R_a je heteroaryl a druhá R_a je nezávisle H nebo heteroaryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „thiokarbamoyl“ označuje skupinu $-C(S)NH_2$.

Jak se zde používá, termín „alkylthiokarbamoyl“ označuje skupinu $-C(S)N(R_a)_2$, kde jedna skupina R_a je alkyl a další R_a je nezávisle H nebo alkyl.

Jak se zde používá, termín „arylthiokarbamoyl“ označuje skupinu $-C(S)N(R_a)_2$, kde jedna skupina R_a je aryl a druhá R_a je nezávisle H nebo aryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „heteroarylthiokarbamoyl“ označuje skupinu $-C(S)N(R_a)_2$, kde jedna skupina R_a je heteroaryl a druhá R_a je nezávisle H nebo heteroaryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „amino“ označuje skupinu $-NH_2$.

Jak se zde používá, termín „alkylamino“ označuje skupinu $-N(R_a)_2$, kde jedna skupina R_a je alkyl a další R_a je nezávisle H nebo alkyl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „cykloalkylamino“ označuje skupinu $-N(R_a)_2$, kde jedna skupina R_a je cykloalkyl a druhá R_a je nezávisle H nebo cykloalkyl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „arylamino“ označuje skupinu $-N(R_a)_2$, kde jedna skupina R_a je aryl a druhá R_a je nezávisle H nebo aryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „heteroarylamino“ označuje skupinu $-N(R_a)_2$, kde jedna skupina R_a je heteroaryl a druhá R_a je nezávisle H nebo heteroaryl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „acyl“ označuje skupinu $-C(O)R_a$, kde R_a je alkyl, aryl, heteroaryl, cykloalkyl, nebo heterocyclyl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „thioacyl“ označuje skupinu $-C(S)R_a$, kde R_a je alkyl, aryl, heteroaryl, cykloalkyl, orheterocyclyl, jak je zde definováno.

Jak se zde používá, termín „hydroxy“ označuje skupinu $-OH$.

Jak se zde používá, termín „hydroxyalkyl“ označuje skupinu $-R_aOH$, kde R_a znamená alkylen, jak je zde definováno.

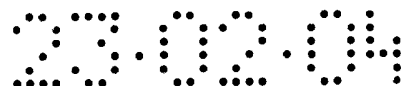
Jak se zde používá, výraz „popřípadě substituovaný“ znamená případnou substituci, která může být jednoduchá nebo vícenásobná, přičemž jako termíny jsou zde definovány skupiny acyl; alkyl; alkenyl; alkynyl; alkylsulfonyl; alkoxy; kyano; halogen; haloalkyl; hydroxy; nitro; aryl, který může být dále substituovaný skupinou acyl, alkoxy, alkyl, alkenyl, alkynyl, alkylsulfonyl, kyano, halogen, haloalkyl, hydroxy, nebo nitro; heteroaryl, který může být dále substituovaný skupinou acyl, alkoxy, alkyl, alkenyl, alkynyl, alkylsulfonyl, kyano, halogen, haloalkyl, hydroxy, nebo nitro; arylsulfonyl, který může být dále substituovaný skupinou acyl, alkoxy, alkyl, alkenyl, alkynyl, alkylsulfonyl, kyano, halogen, haloalkyl, hydroxy, nebo nitro; heteroarylsulfonyl, který může být dále substituovaný skupinou acyl, alkoxy, alkyl, alkenyl, alkynyl, alkylsulfonyl, kyano, halogen, haloalkyl, hydroxy, nebo nitro; aryloxy, který může být dále substituovaný skupinou acyl, alkoxy, alkyl, alkenyl, alkynyl, alkylsulfonyl, kyano, halogen, haloalkyl, hydroxy, nebo nitro; heteroaryloxy, který může být dále substituovaný skupinou acyl, alkoxy, alkyl, alkenyl, alkynyl, alkylsulfonyl, kyano, halogen, haloalkyl, hydroxy, nebo nitro; $-R'OR'^4$; nebo $-NR^4R^5$; kde při každém výskytu skupina R' je alkylen, alkenylen, nebo alkinylen, a R^4 a R^5 jsou vždy

nezávisle zvoleny ze skupiny H, alkyl, alkenyl, alkynyl, cykloalkyl, heterocyklyl, aryl, heteroaryl, alkylsulfonyl, arylsulfonyl, nebo heteroarylsulfonyl, kde při každém výskytu může být tato skupina aryl nebo heteroaryl substituována jednou nebo více skupinami acyl, alkoxy, alkyl, alkenyl, alkylsulfonyl, kyano, halogen, haloalkyl, hydroxy, nebo nitro, nebo R^4 a R^5 mohou být spojeny za vytvoření kruhu, popřípadě obsahujícího další heteroatomy, popřípadě obsahujícího jeden nebo více stupňů nenasycenosti, a popřípadě nesoucího další substituenty skupiny acyl, alkoxy, alkyl, alkenyl, alkynyl, alkylsulfonyl, kyano, halogen, haloalkyl, hydroxy, nebo nitro.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mohou krystalizovat ve více než jedné formě, což je vlastnost známá jako polymorfismus. Všechny polymorfní formy („polymorfy“) spadají do rámce předkládaného vynálezu. Polymorfismus může nastat obecně jako odpověď na změny teploty nebo tlaku nebo obou, a může být také důsledkem změn při postupu krystalizace. Polymorfy mohou být rozlišovány na základě různých fyzikálních vlastností, které jsou známé v oboru, jako jsou rozložení vrcholů rentgenové difrakce, rozpustnost a teplota tání.

Některé zde popisované sloučeniny obsahují jedno nebo více center chiralit, nebo mohou být jinak schopny existovat jako větší počet stereoisomerů. Předkládaný vynález zahrnuje čisté stereoisomery stejně jako směsi stereoisomerů, jako jsou vyčištěné enantiomery/diasteromery nebo enantiomerně/diastereomerně obohacené směsi. V rámci vynálezu jsou také zahrnuty jednotlivé isomery sloučenin jako takové, stejně jako jejich úplně nebo částečně rovnovážné směsi. Předkládaný vynález zahrnuje jednotlivé isomery sloučenin výše uvedených vzorců jako směsi s isomery, ve kterých je převráceno jedno nebo více center chiralit.

Jak bylo uvedeno výše, předkládaný vynález zahrnuje soli, solváty a farmaceuticky funkční deriváty sloučenin podle

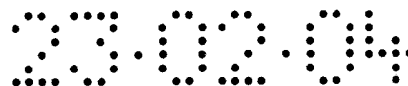


předkládaného vynálezu. Soli zahrnují adiční soli, kovové soli, nebo popřípadě alkylované amoniové soli. Příklady těchto solí zahrnují soli s kyselinou chlorovodíkovou, bromovodíkovou, jodovodíkovou, fosforečnou, sírovou, trifluoroctovou, trichloroctovou, šťavelovou, maleinovou, pyrohroznovou, malonovou, jantarovou, citronovou, mandlovou, benzoovou, skořicovou, methansulfonovou, ethansulfonovou, pikrovou apod.

Další soli zahrnují soli s lithiem, sodíkem, draslíkem, hořčíkem, apod. Ještě další soli zahrnují acetát, benzensulfonát, benzoát, bikarbonát, bisulfát, bitartrát, borát, bromid, kalciumedetát, kamsylát, karbonát, chlorid, klavulanát, citrát, dihydrochlorid, edetát, edisylát, estolát, esylát, fumarát, gluceptát, glukonát, glutamát, glykolyarsanilát, hexylresorcinát, hydrabamin, hydroxynaftoát, isethionát, laktát, laktobionát, laurát, malát, mandlát, mesylát, methylbromid, methylnitrát, methylsulfát, maleát monodraselný, mukát, napsylát, nitrát, methylglukamin, pamoát (embonát), palmitát, pantothenát, fosfát/difosfát, polygalakturonát, draselná sůl, salicylát, sodná sůl, stearát, subacetát, tannát, tartrát, teoklát, tosylát, triethjodid, trimethylamonium a valerát. Je také možné odkázat na časopis Journal of Pharmaceutical Science, 1997, 66, 2, který je zde zařazen odkazem, a ve kterém se popisují různé soli.

Jak se zde používá, termín „solvát“ označuje komplex s proměnnou stechiometrií, vytvořený rozpuštěnou látkou nebo solí nebo farmaceuticky funkčním derivátem a rozpouštědlem. Tato rozpouštědla by pro účely vynálezu neměla interferovat s biologickou aktivitou rozpuštěné látky. Příklady rozpouštědel zahrnují bez omezení vodu, methanol, ethanol a kyselinu octovou. Použité rozpouštědlo je s výhodou farmaceuticky přijatelné rozpouštědlo. Příklady farmaceuticky přijatelných rozpouštědel zahrnují vodu, ethanol a kyselinu octovou.

Termín „farmaceuticky funkční derivát“ znamená farmaceuticky



přijatelný derivát sloučeniny podle předkládaného vynálezu, např. ester nebo amid, který je po podání savci schopen poskytnout (přímo nebo nepřímo) sloučeninu podle předkládaného vynálezu, nebo její aktivní metabolit. Tyto deriváty jsou známé odborníkům v oboru, aniž by bylo potřeba provádět další experimenty. Odkázat je však možno na publikaci Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 5. vydání, díl 1: Principles and Practice, která se zařazuje odkazem, z hlediska znalostí o farmaceuticky funkčních derivátech.

I když se sloučeniny podle předkládaného vynálezu mohou podávat jako samostatné chemikálie, tyto sloučeniny se s výhodou předkládají jako účinná složka obsažená ve farmaceutické formulaci, jak je v oboru známo. Předkládaný vynález tedy dále zahrnuje farmaceutickou formulaci obsahující sloučeninu podle předkládaného vynálezu, enbo její sůl, solvát nebo farmaceuticky funkční derivát, spolu s jedním nebo více farmaceuticky přijatelnými nosiči. V případě potřeby mohou být ve farmaceutické formulaci zahrnuty také další terapeutické a/nebo preventivní („účinné“) složky. Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mohou být například kombinovány s jinými antidiabeticky účinnými látkami, jako je jeden nebo více z následujících prostředků: inzulin, inhibitory α -glukosidázy, biguanidy, látky podporující sekreci inzulinu nebo látky zvyšující citlivost na inzulin. Neomezující příklady inhibitorů α -glukosidázy zahrnují akarbózu, emiglitát, miglitol a voglibózu. Neomezující příklady biguanidů zahrnují metformin, buformin a fenformin. Neomezující příklady látek podporujících sekreci inzulinu zahrnují sulfonylmočoviny. Neomezující příklady látek zvyšujících citlivost na inzulin zahrnují ligandy receptoru aktivovaného peroxisomovým proliferátorem (PPAR), jako jsou agonisté PPAR- γ , např. prostředky ActosTM a AvandiaTM.

Mezi formulace podle předkládaného vynálezu patří prostředky, které jsou zvláště formulovány pro orální, bukální, parenterální, transdermální, inhalační, intranazální, transmukosální, implantační

nebo rektální podávání. Mezi různými způsoby podávání je typicky výhodné orální podávání. Pro orální podávání mohou tablety, kapsle a kapsle ve tvaru tablet obsahovat běžné pomocné látky jako jsou pojiva, kluzné látky, rozvolňovadla a/nebo smáčedla. Neomezující příklady pojiv zahrnují sirup, akácii, želatinu, sorbitol, tragakant, sliz nebo škrob, nebo polyvinylpyrrolidon (PVP). Neomezující příklady plniv zahrnují např. laktózu, cukr, mikrokrystalickou celulózu, kukuřičný škrob, fosforečnan vápenatý nebo sorbitol. Neomezující příklady kluzných látek zahrnují např. stearan hořečnatý, kyselinu stearovou, talek, polyethylenglykol nebo oxid křemičitý. Neomezující příklady rozvolňovadel zahrnují např. bramborový škrob nebo sodnou sůl glykolátu škrobu. Neomezující příklady smáčedel zahrnují laurylsulfát sodný. Tablety mohou být navíc potahovány způsoby známými v oboru.

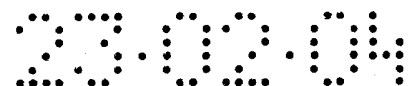
Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mohou být alternativně součástí orálních kapalných prostředků jako jsou vodné nebo olejové suspenze, roztoky, emulze, sirupy nebo elixíry. Navíc mohou být formulace obsahující tyto sloučeniny předkládány ve formě suchého produktu určeného pro rekonstituci vodou nebo jiným vhodným vehikulem před použitím. Kapalně preparáty mohou obsahovat běžná aditiva. Neomezující příklady těchto aditiv zahrnují suspendující prostředky jako je sorbitolový sirup, methylcelulóza, sirup glukóza/cukr, želatina, hydroxyethylcelulóza, karboxymethylcelulóza, gel stearanu hlinitého nebo hydrogenované jedlé tuky. Dále mohou být přidány emulgátory jako je lecitin, sorbitolmonooleát nebo akácie, nevodná vehikula (která mohou zahrnovat jedlé oleje) jako je mandlový olej, frakcionovaný kokosový olej, estery olejů, propylenglykol nebo ethylalkohol. Do prostředku mohou být také přidány ochranné látky jako jsou methyl- nebo propyl-p-hydroxybenzoáty nebo kyselina sorbová. Tyto preparáty mohou být také formulovány jako čípky, které např. obsahují běžné čípkové základy jako kakaové máslo nebo jiné glyceridy.

Formulace podle předkládaného vynálezu mohou být sestaveny tak, aby byly vhodné pro parenterální podávání injekcí nebo kontinuální infuzí. Formulace pro injekce mohou mít formu čípků, roztoků nebo emulzí v olejových nebo vodných nosičích, a mohou obsahovat formulační pomocné látky jako jsou suspendující, stabilizační a/nebo dispergační látky. Účinná složka může být alternativně v práčkové formě pro rekonstituci vhodným vehikulem, např. sterilní apyrogenní vodou, před použitím.

Prostředky podle vynálezu mohou být také formulovány jako depotní preparáty. Tyto dlouhodobě působící formulace se mohou podávat implantací, např. subkutánně nebo intramuskulárně, nebo intramuskulární injekcí. Sloučeniny podle vynálezu mohou být tedy formulovány s vhodnými polymerními nebo hydrofobními materiály, jako je emulze v přijatelném oleji, iontoměničové pryskyřice nebo omezeně rozpustné deriváty, jako je omezeně rozpustná sůl.

Farmaceutické prostředky mohou být předkládány v jednotkových dávkových formách, které obsahují předem určené množství účinné složky v jednotkové dávce. Taková jednotka může obsahovat určité množství sloučeniny podle předkládaného vynálezu v závislosti na léčeném stavu, způsobu podávání a věku, hmotnosti a stavu pacienta. Příklady těchto množství mohou být formulace obsahující přibližně 0,1 až přibližně 99,9 % účinné složky. Výhodné jednotkové dávkové formulace jsou formulace obsahující předem určenou dávku, jako je denní dávka, nebo její vhodnou část, účinné složky. Tyto farmaceutické formulace mohou být připraveny kterýmkoli způsobem dobře známým ve farmacii.

Jak se zde používá, termín „účinné množství“ znamená množství léčiva nebo farmaceutického prostředku, které vyvolá biologickou nebo léčebnou reakci tkáně, systému, zvířete nebo člověka, která je požadována např. výzkumným pracovníkem nebo klinikem. Termín „terapeuticky účinné množství“ dále znamená jakékoli množství, které



vede ve srovnání se subjektem, který tímto množstvím není léčen, ke zlepšenému léčení, hojení, prevenci nebo odstranění onemocnění, poruchy nebo vedlejšího účinku, nebo snížení rychlosti postupu onemocnění nebo stavu. Tento termín také ve svém rámci zahrnuje množství účinná pro posílení normální fyziologické funkce.

Terapeuticky účinné množství sloučeniny podle předkládaného vynálezu bude záviset na řadě faktorů, včetně např. věku a hmotnosti živočicha, přesného stavu vyžadujícího léčení a jeho vážnosti, povaze formulace a způsobu podávání. Požadovanou terapeutickou účinnost vždy nakonec určí ošetřující lékař nebo veterinární lékař. Účinné množství soli nebo solvátu, nebo farmaceuticky funkčního derivátu může být určeno jako podíl účinného množství sloučeniny podle předkládaného vynálezu jako takové. Dávkování se může lišit v závislosti na příslušné inhibici DPP-IV pro účely léčení nebo prevence řady metabolických, gastrointestinálních, virových a zánětlivých onemocnění, včetně bez omezení diabetu, obezity, hyperlipidemie, onemocnění kůže nebo slizniční membrány, lupénky, střevních onemocnění, zácpy, autoimunitních onemocnění jako je encefalomyelitida, onemocnění podmíněných komplementem jako je glomerulonefritida, lipodystrofie a poškození tkání, psychosomatických, depresivních a neuropsychiatrických onemocnění, infekce HIV, alergií, zánětu, artritidy, odmítnutí transplantátu, vysokého krevního tlaku, městnavého selhání srdce, tumorů a potratů indukovaných stresem, např. potratů myší indukovaných cytokiny.

Pokud se sloučenina podle předkládaného vynálezu podává ve výše uvedeném rozmezí dávek, nejsou indikovány/očekávány žádné toxikologické účinky.

Následující příklady ilustrují některá provedení předkládaného vynálezu, ale neměly by být považovány za omezující. Jak se zde používá, symboly a konvence používané v těchto způsobech, schématech a příkladech, jsou v souladu s konvencemi používanými

v současné vědecké literatuře, jako je např. Journal of the American Chemical Society nebo Journal of Biological Chemistry. Pokud není uvedeno jinak, všechny výchozí látky byly získány od komerčních dodavatelů a použity bez dalšího čištění.

Spektra ^1H NMR byla zaznamenávána na přístroji Varian VXR-300, Varian Unity-300, Varian Unity-400 nebo General Electric QE-300. Chemické posuvy jsou vyjádřeny jako části v milionu (ppm, jednotky δ). Vazebné konstanty jsou v jednotkách Hertz (Hz). Rozštěpení vrcholů popisuje zdánlivé multiplicity a označuje se jako s (singlet), d (dublet), t (triplet), q (kvartet), m (multiplet), br (široký).

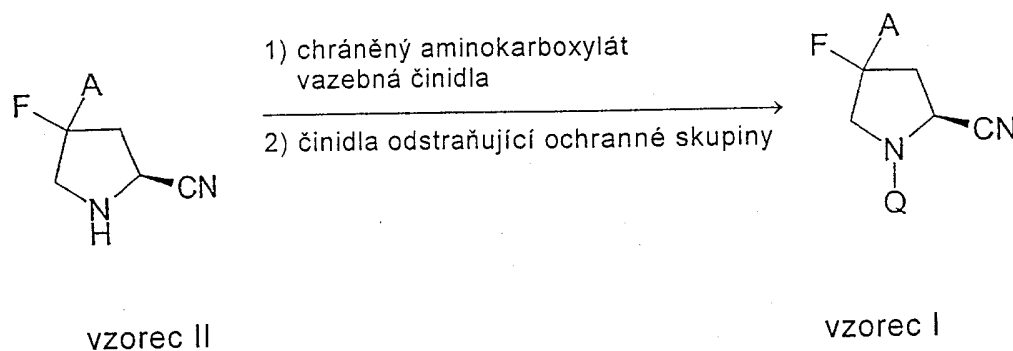
Hmotnostní spektra s nízkým rozlišením (MS) byla zaznamenávána na spektrometru JOEL JMS-AX505HA, JOEL SX-102, nebo SCIEX-APIiii; hmotnostní spektra s vysokým rozlišením byla získána na spektrometru JOEL SX-102. Všechna hmotnostní spektra byla prováděna použitím metod elektrorozprašovací ionizace (ESI), chemické ionizace (CI), nárazy elektronů (EI) nebo nárazy rychlých atomů (FAB). Infračervená (IR) spektra byla získána na spektrometru Nicolet 510 FT-IR s použitím 1 mm kyvety NaCl. Všechny reakce byly monitorovány chromatografií na tenké vrstvě, na deskách 0,25 mm E. Merck silica gel plates (60F-254), přičemž vizualizace byla prováděna UV zářením, 5% ethanolovým roztokem kyseliny fosfomolybdenové nebo roztokem p-anisaldehydu. Blesková chromatografie na koloně byla prováděna na silikagelu (230 - 400 mesh, Merck). Optické rotace byly zjišťovány na polarimetru Perkin Elmer Model 241 Polarimeter. Teploty tání byly zjišťovány na zařízení Mel-Temp II a jsou nekorigované.

Zařazeny jsou názvy IUPAC pro další identifikaci konkrétních sloučenin podle předkládaného vynálezu. Zde uvedené názvy IUPAC by v žádném případě neměly omezovat rozsah předkládaného vynálezu.

Příklady provedení vynálezu

Experimentální část

V souladu s předkládaným vynálezem a jak se uvádí dále, může být provedení sloučenin podle předkládaného vynálezu připraveno reakcí sloučeniny vzorce II s α - nebo β -aminokarboxylátem nebo s α - nebo β -aminoaktivovaným karboxylátem, kde obě tyto skupiny sloučenin se zde budou obecně označovat jako aminokarboxyláty, za standardních vazebných podmínek, např. s HATU, DMF, Hünigovou bází.



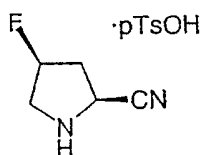
Konkrétněji může sloučenina vzorce II reagovat s aminokarboxylátem, kde aminokarboxylát je vhodně chráněný, například na α -dusíku, vhodnou ochrannou skupinou jako je například t-butylkarboxylová ochranná skupina.

V jiném provedení sloučenina vzorce II může být ponechána reagovat s aminoaktivovaným karboxylátem, jako je například ester N-hydroxysukcinimidu nebo chlorid kyseliny, kde aminoaktivovaný karboxylát je vhodně chráněný, například na α -dusíku, vhodnou ochrannou skupinou, jako je například t-butylkarboxylová ochranná skupina. Odstranění ochranné skupiny za vhodných podmínek, jako je například kyselina trifluoroctová pro odstranění skupiny t-butylkarboxy, poskytne sloučeniny vzorce (I).

Odkazy na další podrobnosti týkající se přípravy aminokarboxylátů pro použití při výrobě sloučenin podle

předkládaného vynálezu, je možno nalézt v dokumentech WO 95/15309 a WO 98/19998, které se zařazují co se týče přípravy těchto reaktantů odkazem.

Příklad meziprojektu 1



(2S,4S)-4-Fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát

A. Methyl-(2S,4R)-4-hydroxy-2-pyrrolidinkarboxylát hydrochlorid

K MeOH roztoku (420 ml) obsahujícímu L-hydroxyprolin (62,67 g, 478 mmol) ochlazenému v lázni ledové vody byl po kapkách přidán thionylchlorid (58,6 g, 492,3 mmol). Po ukončení přidávání byla suspenze míchána při teplotě laboratoře po dobu 2 h. Směs byla potom zahřívána pod zpětným chladičem 6 h a potom byla ochlazená na laboratorní teplotu a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Zbylá pevná látka byla evakuována na vysoké vakuum, za získání 86,03 g (474 mmol, 99% výtěžek) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

^1H NMR ($\text{d}_4\text{-MeOH}$) 400 MHz δ 4,62 - 4,57 (m, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,43 (dd, 1H, $J = 12,2, 3,7$ Hz), 3,30 (m, 1H), 2,41 (dd, 1H, $J = 13,6, 7,6$ Hz), 2,19 (m, 1H) ppm.

B. 1-Terc-butyl-2-methyl-(2S,4R)-4-hydroxy-1,2-pyrrolidindikarboxylát

K roztoku CH_2Cl_2 (1,4 l) obsahujícímu sloučeninu A (88,67 g, 0,49 mol) a di-*t*-butyldikarbonát (109,8 g, 0,50 mol) byl přidáván při 0 °C po kapkách triethylamin (123,6 g, 1,22 mol) v průběhu 1,5 h. Získaný roztok byl potom ponechán pomalu ohřát na laboratorní

teplotu přes noc. Rozpouštědlo bylo potom odstraněno ve vakuu a ke zbylé pevné látce byl přidán Et₂O. Pevná látka byla oddělena vakuovou filtrací a promyta důkladně Et₂O. Z filtrátu bylo potom rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a byl rozpuštěn v CH₂Cl₂. Organické podíly byly promyty nasyceným NaCl a nasyceným roztokem NaHCO₃ a potom sušeny nad MgSO₄. Filtrace a odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytly světlý žlutý olej, který po evakuování ve vysokém vakuu ~15 min ztuhl. K získané pevné látce bylo přidáno 500 ml hexanů a byla míchána přes noc. Pevná látka byla oddělena vakuovou filtrací a evakuována ve vysokém vakuu za získání 104,5 g (0,43 mol, 87% výtěžek) sloučeniny B jako bílé pevné látky.

¹H NMR(d₄-MeOH) 400 MHz δ 4,37 - 4,32 (m, 2H), 3,72 - 3,71 (m, 3H), 3,51 (m, 1H), 3,43 (m, 1H), 2,23 (m, 1H), 2,02 (m, 1H), 1,42 (m, 9H) ppm.

C. 1-Terc-butyl-2-methyl-(2S,4S)-4-fluor-1,2-pyrrolidindikarboxylát

Do 2 l baňky obsahující sloučeninu B (124,25 g, 0,51 mol) v 1,25 l 1,2-dichlorethanu, ochlazené na -30 °C, byl přidán čistý DAST (125 g, 0,78 mol). Reakční směs byla pomalu zahřívána na -10 °C v průběhu 1 h a potom byla chladná lázeň odstraněna. Míchání pokračovalo při teplotě laboratoře po dobu 24 h, kdy byl tmavý roztok vlit do dvou 2 l baněk, které obsahovaly rozdrčený led a pevný NaHCO₃. Baňky byly periodicky převrzeny a míchány, až do ukončení vývoje CO₂ (pozn.: periodicky byl přidáván další pevný NaHCO₃). Organická vrstva byla oddělena a vodná vrstva byla extrahována CH₂Cl₂. Po usušení nad MgSO₄ bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a zbylý tmavý olej byl rozpuštěn ve 200 ml EtOAc a potom bylo přidáno 800 ml hexanu. K tomuto roztoku bylo přidáno 100 g SiO₂. Po míchání po dobu 30 min byl roztok zfiltrován a SiO₂ byl promyt směsí hexany/EtOAc (4 : 1, ~500 ml). Odstranění rozpouštědla ve vakuu a evakuace ve vysokém vakuu přes noc poskytly 121,81 g (0,40 mol,

97% výtěžek) sloučeniny C jako tmavého oleje.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 5,18 (d (br), 1H, $J = 53$ Hz), 4,53 (d, 1/2H, $J = 9,7$ Hz), 4,40 (d, 1/2H, $J = 9,4$ Hz), 3,87 - 3,59 (m, 2H), 3,73 (s, 3H), 2,51 - 2,28 (m, 2H), 1,46 (s, 3H, rotomer), 1,41 (s, 6H, rotomer) ppm.

D. Kyselina (2S,4S)-1-(terc-butoxykarbonyl)-4-fluor-2-pyrrolidin-karboxylová

Do 2 l baňky obsahující sloučeninu C (121,8 g, 0,49 mol) v 1,1 l dioxanu bylo přidáno 380 ml H_2O , potom hydrát hydroxidu lithného (103,6 g, 2,46 mol) při teplotě laboratoře. Získaný roztok byl míchán po dobu 23 h (pozn.: na základě TLC se reakce jevila ukončená po 5 h) a potom byla největší část dioxanu odstraněna ve vakuu. Zbylý materiál byl rozpuštěn v další H_2O a potom bylo přidáno aktivní uhlí. Po 15 min míchání byl roztok zfiltrován přes lože celitu. K filtrátu byl přidán pevný NaCl, dokud se již další nerozpouštěl. Směs byla potom ochlazená v lázni ledové vody a byla okyselena koncentrovaným HCl na pH 3, zatímto teplota roztoku byla udržována mezi 5 až 10 °C. Produkt se začal srážet při pH 4 a po dosažení pH 3 byla světlehnědá pevná látka oddělena vakuovou filtrací. Po evakuování ve vysokém vakuu přes noc byla pevná látka rozpuštěna v CH_3CN (1,5 l) a usušena nad MgSO_4 . Odstranění rozpouštědla ve vakuu a sušení ve vysokém vakuu poskytlo 92,7 g (0,40 mol, 81% výtěžek) sloučeniny jako světlehnědé pevné látky.

^1H NMR(d_6 -DMSO) 400 MHz δ 12,5 (s (br), 1H), 5,22 (d (br), 1H, $J = 54$ Hz), 4,25 (m, 1H), 3,60 - 3,43 (m, 2H), 2,45 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 1,33 (m, 9H) ppm.

E. Terc-butyl-(2S,4S)-2-(aminokarbonyl)-4-fluor-1-pyrrolidinkarboxylát

Do 2 l trojhrdlé baňky opatřené vzduchem poháněným míchadlem byla přidána sloučenina D (92,7 g, 0,40 mol), CH₃CN (1,1 l), di-t-butyldikarbonát (130 g, 0,60 mol) a pyridin (32,4 g, 0,41 mol) při laboratorní teplotě. Po míchání po dobu 20 min byl přidán hydrogenuhličitán amonný (47,2 g, 0,60 mol). Reakční směs byla míchána po dobu 23 h a potom byla většina CH₃CN odstraněna ve vakuu. Zbytek byl potom rozpuštěn v CH₂Cl₂ a promyt směsí 1 : 1 1M HCl/nasycený roztok NaCl. Vodná vrstva byla potom extrahována 2 x CH₂Cl₂. Spojené organické vrstvy byly sušeny (MgSO₄) a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Světlehnědá pevná látka byla smísena s hexany (~0,5 l) a oddělena vakuovou filtrací. Po evakuování ve vysokém vakuu bylo získáno 68,75 g (0,30 mol, 74% výtěžek) sloučeniny E jako světlehnědé pevné látky. Filtrát po odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytl tmavý olej, který se při analýze ¹H NMR jevil jako obsahující další produkt.

¹H NMR(d₆-DMSO) 400 MHz δ 7,21 (s (br), 1/2H), 7,14 (s (br), 1/2H), 6,94 (s (br), 1H), 5,19 (d (br), 1 H, J = 54 Hz), 4,11 (m, 1H), 3,63 - 3,47 (m, 2H), 2,38 (m, 1H), 2,11 (m, 1H), 1,39 (s, 3H, rotomer), 1,34 (s, 6H, rotomer) ppm.

F. Terc-butyl-(2S,4S)-2-kyano-4-fluor-1-pyrrolidinkarboxylát

Do baňky obsahující imidazol (2,93 g, 43,1 mmol) byl přidán pyridin (75 g, 0,9 mol, 15 objemů, vztaženo na hmotnost amidu). Roztok byl potom ochlazen na 0 °C a po míchání po dobu 10 min byl jednou přidán BOC-4-fluorprolinkarboxamid (5,0 g, 21,6 mmol). Roztok byl potom ochlazen na -30 °C (pozn.: pokles teploty pod tuto hodnotu může vést k vytvoření heterogenního roztoku) a v průběhu 5 min byl po kapkách přidán POCl₃ (13,2 g, 86,4 mmol). Po ukončení přidávání byla nahrazena lázeň suchý led-aceton lázní s ledovou vodou a míchání pokračovalo při 0 °C 1 h a potom byla směs vlita na

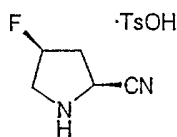
směs rozdrceného ledu, pevného NaCl a EtOAc. Organická vrstva byla oddělena a vodná vrstva byla extrahována EtOAc (2 x). Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu (pozn.: lázeň rotační odparky byla udržována na $<35\text{ }^{\circ}\text{C}$) a zbytek byl rozpuštěn v EtOAc. Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl a 1M HCl (2 x). Po usušení nad MgSO_4 bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu za získání 4,0 g (18,6 mmol, 86% výtěžek) sloučeniny F jako světlehnědé pevné látky.

^1H NMR($\text{d}_4\text{-MeOH}$) 400 MHz δ 5,32 (d (br), 1H, $J = 52\text{ Hz}$), 4,78 (m, 1H), 3,74 - 3,48 (m, 2H), 2,55 - 2,40 (m, 2H), 1,52 - 1,43 (m, 9H) ppm.

G. (2S,4S)-4-Fluor-2-pyrrolidinkarbonitril 4-methylbenzensulfonát

K roztoku CH_3CN (1 l) obsahujícímu sloučeninu F (56,62 g, 0,26 mol) byl přidán hydrát kyseliny p-toluensulfonové (75,4 g, 0,40 mol) při teplotě laboratoře. Po 24 h byl CH_3CN odstraněn ve vakuu a potom byl zbylý hnědý olej rozpuštěn v 500 ml EtOAc. V průběhu 1 min se vysrážela pevná látka a roztok byl ochlazen v lázni led-voda a po míchání po dobu 1 h byla pevná látka oddělena vakuovou filtrací. Oddělená pevná látka byla opláchnuta chladným ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) EtOAc ($\sim 500\text{ ml}$) a potom evakuována ve vysokém vakuu přes noc za získání 60,94 g (0,21 mol, 82% výtěžek) sloučeniny G jako světlehnědé pevné látky.

^1H NMR ($\text{d}_4\text{-MeOH}$) 400 MHz δ 7,69 (d, 2H, $J = 8,1\text{ Hz}$), 7,23 (d, 2H, $J = 8,0\text{ Hz}$), 5,52 (dd, 1H, $J = 51, 3,4\text{ Hz}$), 4,96 (dd, 1H, $J = 9,8, 3,6\text{ Hz}$), 3,78 (m, 1H), 3,55 (m, 1H), 2,84 - 2,63 (m, 2H), 2,36 (s, 3H) ppm.

Alternativní způsob přípravy pro příklad meziprojektu 1(2S,4S)-4-Fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátTerc-butyl (2S,4R)-2-(aminokarbonyl)-4-hydroxypyrrolidin-1-karboxylát

K THF roztoku (420 ml) obsahujícímu BOC-L-hydroxyprolin (30,0 g, 129 mmol) a triethylamin (14,4 g, 141,9 mmol), ochlazenému na $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ byl po kapkách přidán ethylchloroformát (15,4 g, 141,9 mmol). Získaný roztok byl míchán 10 min, potom bylo přidáno 80 ml 28% NH_4OH . Reakce byla ponechána pomalu ohřát na $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ v průběhu 2 h a byl přidáván nasycený roztok NH_4Cl , dokud nezmizela přítomná bílá pevná látka. THF byl oddělen a vodná vrstva extrahována THF. Spojené organické vrstvy byly sušeny (MgSO_4) a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Zbýlý olej byl smísen s Et_2O a a malým množstvím CH_2Cl_2 a MeOH . Po uchování v mrazicím boxu 1 h byla získaná bílá pevná látka oddělena vakuovou filtrací za získání 22,0 g (95,6 mmol, 74% výtěžek) sloučeniny A.

^1H NMR(d_6 -DMSO) 400 MHz δ 7,33 - 7,29 (d (br), 1H, rotomery), 6,88 - 6,80 (d (br), 1H, rotomery), 4,94 (s (br), 1H), 4,18 (s (br), 1H), 4,04 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 3,21 (m, 1H), 1,99 (m, 1H), 1,77 (m, 1H), 1,36 - 1,31 (d, 9H, rotomery) ppm.

B. Terc-butyl-(2S,4R)-2-kyano-4-hydroxypyrrolidin-1-karboxylát

K roztoku pyridinu (180 ml) obsahujícímu sloučeninu A (17,89 g, 77,8 mmol) ochlazenému na $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ byl po kapkách přidán anhydrid kyseliny trifluorooctové (40,8 g, 194,4 mmol). Po ukončení přidávání

byla reakční směs ponechána ohřát na teplotu laboratoře. Po 6 h byla reakce ukončena H_2O a směs byla vlita do EtOAc (přibližně 500 ml). Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl, 1,0M HCl a 2,0 M NaOH, následovalo sušení nad MgSO_4 . K filtrátu bylo přidáno uhlí a po 10 min míchání byl roztok zfiltrován přes lože celitu. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu (teplota lázně rotační odparky $\sim 34^\circ\text{C}$), za získání 13,21 g (62,3 mmol, 80% výtěžek) sloučeniny B jako oranžového oleje.

^1H NMR(d_4 -MeOH) 400 MHz δ 4,60 (m, 1H), 4,40 (s (br), 1H), 3,49 - 3,41 (m, 2H), 2,36 - 2,34 (m, 2H), 1,51 - 1,48 (m, 9H, rotomery).

C. Terc-butyl-(2S,4S)-2-kyano-4-fluor-1-pyrrolidinkarboxylát

K roztoku 1,2-dichlorethanu (300 ml) obsahujícímu sloučeninu B (13,21 g, 62,3 mmol), ochlazenému na -30°C , byl přidán DAST (15,1 g, 93,4 mmol). Po 30 min byla chladná lázeň odstraněna a míchání pokračovalo 24 h a potom byla reakce opatrně ukončena nasyceným NaHCO_3 . Roztok byl potom vlit na rozdrcený led a organické podíly extrahovány CH_2Cl_2 (2 x). Po závěrečném promytí nasyceným NaHSO_4 byly organické podíly sušeny (MgSO_4) a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu, za získání 10,86 g (50,7 mmol, 81% výtěžek) sloučeniny C jako hnědé polotuhé látky.

^1H NMR (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 5,32 (d (br), 1H, $J = 52$ Hz), 4,78 (m, 1H), 3,74 - 3,48 (m, 2H), 2,55 - 2,40 (m, 2H), 1,52 - 1,43 (m, 9H) ppm.

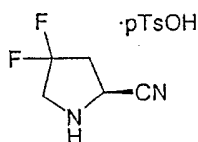
D. (2S,4S)-4-Fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát

K roztoku CH_3CN (200 ml) obsahujícímu sloučeninu C (10,86 g, 50,7 mmol) byla přidána kyselina p-toluensulfonová (14,8 g, 78 mmol) při laboratorní teplotě. Získaný roztok byl míchán 24 h a potom byl CH_3CN odstraněn ve vakuu. Zbýlý hnědý olej byl rozpuštěn v EtOAc

(300 ml) a v průběhu 1 min se vysrážela pevná látka. Roztok byl chlazen v lázni led-voda 2 h a potom byla pevná látka oddělena vakuovou filtrací. Byla promyta 300 ml chladného (-20 °C) EtOAc, za získání 10,07 g (35,2 mmol, 69% výtěžek) sloučeniny D.

^1H NMR($\text{d}_4\text{-MeOH}$) 400 MHz δ 7,69 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz), 7,23 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 5,52 (dd, 1H, $J = 51, 3,4$ Hz), 4,96 (dd, 1H, $J = 9,8, 3,6$ Hz), 3,78 (m, 1H), 3,55 (m, 1H), 2,84 - 2,63 (m, 2H), 2,36 (s, 3H) ppm.

Příklad meziprojektu 2



(2S)-4,4-Difluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát

A. Terc-butyl-(2S,4S)-2-(aminokarbonyl)-4-hydroxy-1-pyrrolidin-karboxylát

K THF roztoku (420 ml) obsahujícímu BOC-L-hydroxyprolin (30,0 g, 129 mmol) a Et_3N (14,4 g, 141,9 mmol), ochlazenému na -15 °C, byl po kapkách přidán ethylchlorformát (15,4 g, 141,9 mmol). Získaný bílý roztok byl míchán -15 °C po dobu 30 min, potom bylo přidáno stříkačkou 80 ml 28% roztoku NH_4OH . Po ukončení přidávání byla chladná lázeň odstraněna a míchání pokračovalo 19 h. Homogenní roztok byl vlit do nasyceného roztoku NH_4Cl a organická vrstva byla oddělena. Vodná vrstva byla extrahována THF a spojené organické vrstvy sušeny (MgSO_4). Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a pevná látka byla evakuována ve vysokém vakuu po dobu 2 h. Získaná bílá pevná látka byla oddělena vakuovou filtrací s Et_2O , za

získání 15,86 g (68,9 mmol, 53% výtěžek) sloučeniny A.

^1H NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) 400 MHz δ 7,34 (s (br), 1H, rotomer), 7,31 (s (br), 1H, rotomer), 6,90 (s (br), 1H, rotomer), 6,82 (s (br), 1H, rotomer), 4,95 (d, 1H, $J = 3,1$ Hz), 4,05 (m, 1H), 3,36 (m, 1H), 3,22 (m, 1H), 2,03 (m, 1H), 1,78 (m, 1H), 1,37 (s, 3H, rotomer), 1,32 (s, 6H, rotomer) ppm.

B. Terc-butyl (2S)-2-(aminokarbonyl)-4-oxo-1-pyrrolidinkarboxylát

K roztoku CH_2Cl_2 (12 ml) obsahujícímu oxalylchlorid (607 mg, 4,78 mmol), ochlazenému na -78°C , byl přidán roztok CH_2Cl_2 (3 ml) obsahující DMSO. Po 5 min byl přidán pokapkách terc-butyl-(2S,4S)-2-(aminokarbonyl)-4-hydroxy-1-pyrrolidinkarboxylát (1,0 g, 4,35 mmol, jak je popsáno v kroku E výše) v roztoku $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{THF}$ (20 ml/15 ml). Po ukončení přidávání byla reakční směs míchána 20 min a bylo přidáno Et_3N (2,20 g, 21,7 mmol). Po 10 min byla chladná lázeň odstraněna a míchání pokračovalo 1 h. Roztok byl vlit do nasyceného roztoku NaHCO_3 a organické podíly byly extrahovány CH_2Cl_2 . Po usušení nad MgSO_4 bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a zbylý žlutý olej čištěn chromatografií na koloně ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (15 : 1)), za získání 560 mg (2,45 mmol, 56% výtěžek) sloučeniny B jako bílé pevné látky.

^1H NMR($\text{d}_6\text{-DMSO}$) 400 MHz δ 7,58 (s (br), 1H), 7,15 (s (br), 1H, rotomer), 7,09 (s (br), 1H, rotomer), 4,51 (d, 1H, $J = 9,7$ Hz, rotomer), 4,46 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz, rotomer), 3,76 - 3,64 (m, 2H), 3,02 (m, 1H), 2,28 (m, 1H), 1,39 (s, 3H, rotomer), 1,37 (s, 6H, rotomer) ppm.

C. Terc-butyl-(2S)-2-(aminokarbonyl)-4,4-difluor-1-pyrrolidinkarboxylát

K roztoku CH_2Cl_2 (10 ml) obsahujícímu sloučeninu B (423 mg, 1,85 mmol) ochlazenému na -70°C byl přidán DAST (889 mg, 5,50 mmol). Získaný roztok byl míchán při -70°C po dobu 30 min a potom při teplotě laboratoře 2 h. Reakce byla ukončena nasyceným

NaHCO₃ a organické podíly extrahovány CH₂Cl₂. Po usušení nad MgSO₄ byla získaná žlutá pevná látka čištěna chromatografií na koloně (CH₂Cl₂/MeOH (15 : 1)) za získání 211 mg (0,84 mmol, 46% výtěžek) sloučeniny C.

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 4,38 (m, 1H), 3,84 - 3,75 (m, 2H), 2,76 (m, 1H), 2,41 (m, 1H), 1,44 (s (br), 9H) ppm.

D. Terc-butyl-(2S)-2-kyano-4,4-difluor-1-pyrrolidinkarboxylát

K roztoku pyridinu (20 ml) obsahujícímu sloučeninu C (658 mg, 2,63 mmol) a imidazol (358 mg, 5,26 mmol), ochlazenému na -35 °C, byl přidán POCl₃ (1,61 g, 10,5 mmol). Získaná kaše byla míchána 1,5 h a v průběhu této doby byla ochlazená na 10 °C. Roztok byl zředěn EtOAc a potom promyt 3 x 1M HCl. Po usušení nad MgSO₄ bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu za získání 610 mg (2,63 mmol, 100% výtěžek) sloučeniny D, která byla přímo převedena do stupně E (níže).

¹H NMR(d₄-MeOH) 400 MHz δ 4,88 (s (br), 1H), 3,79 - 3,72 (m, 2H), 2,87 (m, 1H), 2,69 (m, 1H), 1,50 (s, 9H) ppm.

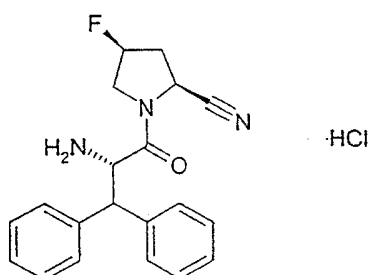
E. (2S)-4,4-Difluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát

K roztoku CH₃CN (15 ml) obsahujícímu sloučeninu D (512 mg, 2,21 mmol) byl přidán hydrát kyseliny p-toluensulfonové (839 mg, 4,42 mmol) při laboratorní teplotě. Získaný roztok byl míchán 2 h a potom byl CH₃CN odstraněn ve vakuu. Ke zbylému oleji byl přidán EtOAc (~10 ml) a byl potom odstraněn ve vakuu. Získaná pevná látka byla smísena s Et₂O a byl přidán EtOAc. Pevná látka byla oddělena vakuovou filtrací za získání 375 mg (1,23 mmol, 56% výtěžek) sloučeniny E jako bílé pevné látky.

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7,70 (d, 2H, J = 8,2 Hz), 7,23 (d,

2H, $J = 7,9$ Hz), 5,12 (t, 1H, $J = 7,9$ Hz), 3,91 - 3,78 (m, 2H), 3,08 - 2,89 (m, 2H), 2,89 (s, 3H), 2,36 (s, 9H) ppm.

Příklad 1



(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3,3-difenypropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-
-karbonitril hydrochlorid

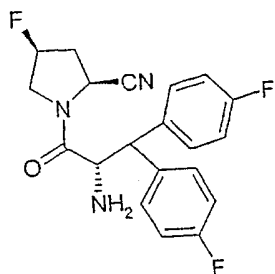
A. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3,3-difenypropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-
karbonitril hydrochlorid

K suchému DMF (25 ml) byla přidána kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3,3-difenypropanová (1,96 g, 6,0 mmol), HATU (2,28 g, 6,0 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (1,05 ml, 6,0 mmol). Po míchání při laboratorní teplotě 30 min byly přidány (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát (1,31 g, 4,5 mmol) a další N,N-diisopropylethylamin (0,783 ml, 4,5 mmol). Roztok byl ponechán míchat při laboratorní teplotě 12 h a potom byl přidán nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (110 ml). Směs byla extrahována ethylacetátem (2 x 100 ml) a organické podíly byly promyty nasyceným NaCl (100 ml), sušeny nad $MgSO_4$ a zakoncentrovány do sucha, za získání surové pevné látky. Pevná látka byla čištěna chromatografií (silikagel, hexany/EtOAc 4 : 1) za poskytnutí pevné látky, která byla míchána v roztoku směsi dioxan-HCl (4,0 M, 20 ml) 2 h a potom byl přidán diethylether (100 ml). Získaná

sraženina byla oddělena filtrací a sušena ve vysokém vakuu, za získání 1,36 g (3,64 mmol, 81% výtěžek) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

^1H NMR(d_6 -DMSO) 400 MHz δ 8,45 - 8,41 (s (br), 3H), 7,70 (m, 2H), 7,38 - 7,36 (m, 2H), 7,29 - 7,26 (m, 3H), 7,24 - 7,18 (m, 3H), 5,39 (d, 1H, J = 51 Hz), 4,89 - 4,85 (m, 2H), 4,38 (d, 1H, J = 11,3 Hz), 3,98 (ddd, 1H, J = 38,8, 12,4 Et 3,1 Hz), 3,39 - 3,33 (m, 1H), 2,30 - 2,18 (m, 2H) ppm.

Příklad 2



(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3,3-bis(4-fluorfenyl)propanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina 3,3-bis(4-fluorfenyl)-3-hydroxypropanová

K bezvodému THF (80 ml) roztoku *n*-butyllithia (46 ml 2,5M, 115 mmol) byl při 0 °C přidán po kapkách diisopropylamin (11,13 g, 115 mmol) a roztok byl míchán 10 min. Za udržování teploty na 0 °C byla k roztoku po kapkách přidána kyselina octová (2,64 g, 44 mmol) a směs byla míchána 10 min a potom byla zahřáta na 50 °C. Po 30 min se vytvořila těžká sraženina a roztok byl ponechán ochladit. Byl přidán roztok 4,4'-difluorobenzofenonu (9,6 g, 0,044 mol) v THF (50 ml, bezvodý) při 0 °C, a roztok byl míchán při teplotě laboratoře přes noc. Byly přidány voda (100 ml) a diethylether (100 ml) a vodná vrstva byla oddělena a okyselena 1M HCl na pH 3. Organické podíly byly

extrahovány ethylacetátem (3 x 200 ml) a usušeny nad MgSO_4 . Zfiltrování a odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytlo surovou bílou pevnou látku, která mohla být promyta chladným CHCl_3 pro odstranění stopových množství benzofenonu. Pevná látka byla sušena ve vysokém vakuu za získání 5,63 g (20,2 mmol, 46% výtěžek) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

^1H NMR(d_6 -DMSO) 400 MHz δ 12,4 (s (br), 1H), 7,48 - 7,39 (m, 4H), 7,19 - 7,02 (m, 4H), 5,91 (s (br), 1H), 3,25 (s, 2H) ppm.

B. Kyselina 3,3-bis(4-fluorfenyl)akrylová

K 20% roztoku kyseliny sírové v kyselině octové (50 ml, obj./obj.) byla přidána sloučenina A (5,6 g, 20,2 mmol) a směs byla míchána 30 min při laboratorní teplotě. K tomuto roztoku byl přidán H_2O (500 ml) a organické podíly byly extrahovány ethylacetátem (3 x 150 ml), potom sušeny MgSO_4 . Zfiltrování a odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytlo bílou pevnou látku. Látka byla sušena ve vysokém vakuu za získání 4,97 g (19,1 mmol, 95% výtěžek) sloučeniny B jako bílé pevné látky.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,27 - 7,21 (m, 2H), 7,19 - 7,13 (m, 2H), 7,10 - 6,95 (m, 4H), 6,26 (s, 1H) ppm.

C. Kyselina 3,3-bis(4-fluorfenyl)propanová

K roztoku sloučeniny B (2,5 g, 9,61 mmol) v ethylacetátu (250 ml) bylo přidáno 10% paladium na uhlí (50% hmotn./hmotn.) a směs byla hydrogenována při tlaku vodíku 0,1 MPa 12 hod. Heterogenní roztok byl zfiltrován přes celit a zakoncentrován ve vakuu za poskytnutí žlutého oleje. Olej byl sušen ve vysokém vakuu za získání 2,40 g (9,16 mmol, 95 % výtěžek) sloučeniny C jako žlutého oleje.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 12,08 (brs, 1H), 7,40 - 7,30 (m, 4H), 7,15 - 7,05 (m, 4H), 4,45 (t, 1H, $J = 8,1$ Hz), 3,05 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz) ppm.

D. (4S,5R)-3-[3,3-Bis(4-fluorfenyl)propanoyl]-4-methyl-5-fenyl-1,3-oxazolidin-2-on

K THF (50 ml, bezvodý) obsahujícímu sloučeninu C (2,0 g, 7,63 mmol) byl přidán N,N-diisopropylethylamin (1,18 g, 9,16 mmol) a potom byl roztok ochlazen na -78°C . K tomuto roztoku byl přidán trimethylacetylchlorid (0,97 g, 8,01 mmol) a roztok byl zahřát na 0°C v průběhu 1 hod. Kalná směs byla zfiltrována a filtrát byl pomalu v průběhu 10 min přidán k lithiovanému (4S,5R)-(-)-4-methyl-5-fenyl-2-oxazolidinonu při -78°C , přičemž tato látka byla připravena přikapáváním n-butyllithia (3,0 ml 2,5M, 7,63 mmol) k THF (50 ml) roztoku (4S,5R)-(-)-4-methyl-5-fenyl-2-oxazolidinonu (1,35 g, 7,63 mmol) při -78°C , roztok byl míchán 10 min, za získání lithiovaného (4S,5R)-(-)-4-methyl-5-fenyl-2-oxazolidinonu. Žlutá směs byla ohřata na 0°C a reakce byla ukončena H_2O (50 ml) a extrahována diethyletherem (3 x 250 ml), následovalo sušení MgSO_4 . Filtrace a odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytlo pevnou látku. Blesková chromatografie (silikagel, 20 % ethylacetát/hexany) poskytla sloučeninu D. Bílá pevná látka byla sušena ve vysokém vakuu za získání 2,31 g (5,49 mmol, 72% výtěžek) jako bílou pevnou látku.

^1H NMR(d_6 -DMSO) 400 MHz δ 7,40 - 7,25 (m, 9H), 7,18 - 7,02 (m, 4H), 5,76 (d, 1H, $J = 7,6$ Hz), 4,65 (m, 1H), 4,58 (t, 1H, $J = 7,6$ Hz), 3,72 (dd, 1H, $J = 16,8, 7,0$ Hz) 3,57 (dd, 1H, $J = 16,8, 7,0$ Hz), 0,58 (d, 3H, $J = 6,7$ Hz) ppm.

E. (4S,5R)-3-[(2S)-2-Azido-3,3-bis(4-fluorfenyl)propanoyl]-4-methyl-5-
-[(1E,3Z)-1-methylhexa-1,3,5-trienyl]-1,3-oxazolidin-2-on

K THF (50 ml, bezvodý) roztoku obsahujícímu sloučeninu D (2,0 g, 4,75 mmol) byl při -78 °C po kapkách přidán bis(trimethylsilyl)amid draselný (10,0 ml 0,5M roztok toluenu, 4,98 mmol). Po 10 min míchání byl naráz přidán 2,4,6-triisopropylbenzensulfonylazid (trisylazid) (1,84 g, 5,94 mmol) v THF (10 ml, bezvodý). Po 3 min byla přidána kyselina octová (1,31 g, 21,8 mmol) při -78 °C a potom byla reakční směs rychle ohřáta na 30 °C a míchána 1 h, za vytvoření světležlutého roztoku. K tomuto roztoku byla přidána H₂O (100 ml) a organické podíly byly extrahovány ethylacetátem (500 ml). Po promytí nasyceným NaHCO₃ (100 ml) a sušení nad MgSO₄ bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu, za získání žlutého oleje. Chromatografie na koloně (ethylacetát/hexany 1 : 9) poskytla sloučeninu E jako bílou pevnou látku. HPLC ukázala jediný diastereoisomer. Bílá pevná látka byla sušena ve vysokém vakuu za získání 1,71 g (3,70 mmol, 78% výtěžek) jako bílé pevné látky.

¹H NMR(CDCl₃) 400 MHz δ 7,42 - 7,35 (m, H), 7,25 - 7,18 (m, H), 7,10 - 7,06 (m, 2H), 7,05 - 6,92 (m, 2H), 5,95 (d, 1H, J = 10,8 Hz), 5,05 (d, 1H, J = 7,1 Hz), 4,60 (d, 1H, J = 10,8 Hz), 4,38 (m, 1H), 0,95 (d, 3H, J = 6,8 Hz) ppm.

F. Kyselina (2S)-2-azido-3,3-bis(4-fluorfenyl)propanová

K THF/H₂O (4 : 1,50 ml) roztoku sloučeniny E (1,5 g, 3,25 mmol) byl při 0 °C přidán roztok hydroxidu lithného (0,272 g, 6,49 mmol) v peroxidu vodíku (1,50 ml 30% roztok v H₂O, 48,75 mmol). Směs byla míchána při 0 °C 1 h a potom byla reakce ukončena Na₂SO₄ (6,3 g, 50 ml 1,0M roztok v H₂O). THF byl odstraněn ve vakuu a roztok byl okyselen na pH 1 6,0M HCl při 0 °C. Organické podíly byly extrahovány ethylacetátem (2 x 200 ml) a sušeny nad MgSO₄. Filtrace a odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytly čirý olej. Chromatografie

na koloně (EtOAc/hexany/kyselina octová 50 : 50 : 1) poskytla sloučeninu F jako bílou pevnou látku. Pevná látka byla sušena ve vysokém vakuu za získání 0,78 g (2,60 mmol, 80% výtěžek) jako bílou pevnou látku.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 9,60 (s (br), 1H), 7,25 - 7,10 (m, 4H), 7,10 - 6,95 (m, 4H), 4,50 (d, 2H, J = 8,6 Hz) ppm.

G. Kyselina (2S)-2-amino-3,3-bis(4-fluorfenyl)propanová

K ethylacetátovému roztoku (250 ml) sloučeniny F (1,5 g, 4,95 mmol) bylo přidáno 10% paladium na uhlí (10% hmotn./hmotn.) a směs byla hydrogenována při tlaku vodíku 0,1 MPa 12 h. Heterogenní roztok byl zfiltrován přes celit (1 g) a filtrát byl zakoncentrován ve vakuu za získání čirého oleje. Olej byl sušen ve vysokém vakuu za poskytnutí 1,30 g (4,70 mmol, 95% výtěžek) sloučeniny G jako bílé pevné látky.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 10,2 (s (br), 1H), 7,38 - 7,27 (m, 4H), 7,08 - 6,98 (m, 4H), 4,25 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 3,95 (d, 1H, J = 8,3 Hz) ppm.

H. Kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3,3-bis(4-fluorfenyl)-propanová

K CH_2Cl_2 roztoku (150 ml) obsahujícímu sloučeninu G (1,30 g, 4,69 mmol) byly přidány triethylamin (2,37 g, 23,4 mmol) a di-terc-butyldikarbonát (1,23 g, 5,63 mmol). Po 12 h míchání byly přidány H_2O (50 ml) a CH_2Cl_2 (300 ml) a roztok byl okyselen na pH 3 1,0M HCl. Oddělení ethylacetátové vrstvy následované sušením nad MgSO_4 a odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytlo čirý olej. Olej byl sušen ve vysokém vakuu za získání 1,68 g (4,4 mmol, 95% výtěžek) sloučeniny H jako bílé pevné látky.

^1H NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) 400 MHz δ 12,4 (s (br), 1H), 7,35 - 7,22 (m, 4H), 7,15 - 6,95 (m, 4H), 4,78 (t, 1H, $J = 8,9$ Hz), 4,25 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz), 3,05 (m, 1H), 1,20 (s, 3H), 1,15 (s, 6H) ppm.

I. (2S,4S)-1-[(2S)-2-(terc-Butoxykarbonyl)amino-3,3-bis(4-fluorfenyl)-propanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K DMF roztoku (25 ml, bezvodý) byly přidány sloučenina H (1,0 g, 2,65 mmol) a HATU (1,0 g, 2,65 mmol). K tomuto roztoku byl přidán N,N-diisopropylethylamin (0,462 ml, 2,65 mmol) a po 30 min (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitrilmethylbenzensulfonát (0,619 g, 2,12 mmol) a další N,N-diisopropylethylamin (0,37 ml, 2,12 mmol). Roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře 12 h a potom byl přidán nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (100 ml). Získaná gumovitá směs byla extrahována ethylacetátem (3 x 100 ml) a organické podíly byly promyty nasyceným NaCl (50 ml) a sušeny nad MgSO_4 . Filtrace a odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytly čirý olej. Olej byl čištěn chromatografií na silikagelu (hexany/EtOAc 4 : 1) za získání bílé pevné látky. Pevná látka byla sušena ve vysokém vakuu za získání 815 mg (1,72 mmol, 65% výtěžek) sloučeniny I jako bílé pevné látky.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,38 - 7,32 (m, 2H), 7,21 - 7,15 (m, 2H), 7,12 - 6,98 (m, 4H), 5,15 (d, 1H, $J = 51$ Hz), 5,03 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz), 4,89 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz), 4,86 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz), 4,40 (d, 1H, $J = 11,2$ Hz), 3,83 (ddd, 1H, $J = 36,8, 12,1, 3,7$ Hz), 3,05 (d, 1H, $J = 12,2$ Hz), 2,62 (t, 1H, $J = 15,3$ Hz), 2,25 (m, 1H), 1,38 (s, 9H) ppm.

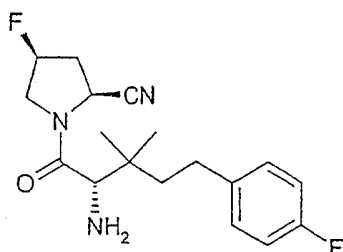
J. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3,3-bis(4-fluorfenyl)propanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

Ke sloučenině I (0,5 g, 1,05 mmol) byly přidány 4,0N HCl v 1,4-dioxanu (10 ml, 40 mmol) a po 3 h diethylether (100 ml). Získaná

sraženina byla oddělena filtrací a po sušení ve vysokém vakuu bylo získáno 0,41 g (1,0 mmol, 95% výtěžek) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 8,42 (s (br), 3H), 7,72 - 7,66 (m, 2H), 7,38 - 7,32 (m, 2H), 7,25 - 7,19 (m, 2H), 7,06 - 7,0 (m, 2H), 5,38 (d, 1H, $J = 51$ Hz), 4,91 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 4,82 (d, 1H, $J = 11,3$ Hz), 4,41 (d, 1H, $J = 11,3$ Hz), 3,86 (ddd, 1H, $J = 39,2, 12,4, 3,1$ Hz), 3,45 (q, 1H, $J = 12,4$ Hz), 2,38 - 2,20 (m, 2H) ppm.

Příklad 3



(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-5-(4-fluorfenyl)-3,3-dimethyletanoyl]-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril hydrochlorid

A. 4-(4-Fluorfenyl)-2,2-dimethylbutanal

Do baňky obsahující 4-(4-fluorfenyl)-2,2-dimethylbutannitril (viz Org. Lett. 2000, 2, 3285; Knochel, P. a další, pro přípravu této sloučeniny) (13,4 g, 702 mmol) v 300 ml toluenu, ochlazený na -78°C , bylo přidáno 70,2 ml 1,5M toluenového roztoku DIBAL (105,3 mmol). Po 2,5 h byl postupně přidán roztok $\text{H}_2\text{O}/\text{THF}$ (250 ml/50 ml) obsahující 17,9 g octanu sodného a 17,9 ml kyseliny octové. Po ukončení přidávání byly přidány celit a Et_2O a baňka byla ponechána ohřát na laboratorní teplotu. Po míchání 1 h byl heterogenní roztok zfiltrován přes lože celitu. Celit byl opláchnut Et_2O a potom byl filtrát promyt H_2O . Po usušení nad MgSO_4 bylo rozpouštědlo odstraněno ve

vakuu a zbylý olej byl čištěn chromatografií na koloně (5% EtOAc/hexany), za získání 11,3 g (58,2 mmol, 83% výtěžek) sloučeniny A.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 9,47 (s, 1H), 7,12 - 7,10 (m, 2H), 7,09 - 6,93 (m, 2N), 2,51 - 2,47 (m, 2H), 1,77 - 1,72 (m, 2H), 1,12 (s, 6H) ppm.

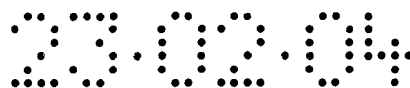
B. 5-(4-Fluorfenyl)-3,3-dimethyl-2-(((1R)-1-fenyl-2-[(trimethylsilyl)-oxy]ethyl)amino)pentannitril

K CH_2Cl_2 roztoku (250 ml) obsahujícímu sloučeninu A (9,07 g, 46,8 mmol) byl přidán (R)-fenylglycinol (6,41 g, 46,8 mmol) při laboratorní teplotě. Získaný roztok byl míchán 1,5 h a potom byl ochlazen na 0 °C a byl přidán trimethylsilylkyanid (928 g, 93,5 mmol). Žlutý roztok byl ponechán pomalu ohřát na laboratorní teplotu přes noc. Reakce byla ukončena nasyceným roztokem NaHSO_4 a organická vrstva byla oddělena. Organické podíly byly promyty H_2O , sušeny (MgSO_4) a odbarveny aktivním uhlím. Po zfiltrování přes celit byl žlutý olej čištěn chromatografií na koloně (hexany/EtOAc (9 : 1)) za získání 11,9 g (28,9 mmol, 62% výtěžek) sloučeniny B jako 6 : 1 směsi diastereomerů.

Hlavní diastereomer: ^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,38 - 7,29 (m, 5H), 7,11 - 7,07 (m, 2H), 6,98 - 6,93 (m, 2H), 4,03 (dd, 1H, J = 9,95, 3,8 Hz), 3,68 (m, 1H), 3,52 (t, 1N, J = 10,2 Hz), 3,06 (d, 1H, J = 13,4 Hz), 2,44 - 2,34 (m, 3H), 1,73 - 1,65 (m, 2H), 1,11 (s, 3H), 1,09 (s, 3H), 0,14 (s, 9H) ppm.

C. 5-(4-Fluorfenyl)-2-(((1R)-2-hydroxy-1-fenylethyl)amino)-3,3-dimethylpentannitril

K MeOH roztoku (300 ml) obsahujícímu sloučeninu B (11,85 g, 28,8 mmol) byl přidán fluorid draselný (16,7 g, 287,6 mmol) při teplotě



laboratoře. Roztok byl míchán 1,5 h a potom byla většina MeOH odstraněna ve vakuu. Byly přidány CH_2Cl_2 a H_2O a organická vrstva byla oddělena. Po usušení nad MgSO_4 bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a získaný olej byl čištěn chromatografií na koloně (hexany/EtOAc (4 : 1)) za získání 8,86 g (26,1 mmol, 90% výtěžek) sloučeniny C jako 6 : 1 směsi diastereomerů.

Hlavní diastereomer: ^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,38 - 7,30 (m, 5H), 7,10 - 7,06 (m, 2H), 6,97 - 6,92 (m, 2H), 4,06 (dd, 1H, J = 9,5, 4,0 Hz), 3,79 (m, 1H), 3,58 (m, 1H), 3,07 (d, 1H, J = 12,5 Hz), 2,43 - 2,30 (m, 3H), 1,95 (dd, 1H, J = 7,8, 4,1 Hz), 1,74 - 1,64 (m, 2H), 1,11 (s, 3H), 1,09 (s, 3H) ppm.

D. 5-(4-Fluorfenyl)-3,3-dimethyl-2-[(E)-fenylmethyliden)amino]-pentannitril

K CH_2Cl_2 roztoku (10 ml)/MeOH (4 ml) obsaujícímu sloučeninu C (494 mg, 1,45 mmol), ochlazenému na 0 °C, byl přidán octan olovičitý (838 mg, 1,89 mmol). Získaný roztok byl míchán přes noc a potom byl ohřát na laboratorní teplotu. K tomuto roztoku bylo přidáno 20 ml fosfátového pufru pH 7,2. Po 30 min byl kalný roztok zfiltrován přes lože celitu, přičemž celit byl důkladně promyt CH_2Cl_2 . K filtrátu byla přidána H_2O a organická vrstva byla oddělena. Vodná vrstva byla extrahována CH_2Cl_2 a potom byly spojené organické vrstvy sušeny (MgSO_4). Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a olej čištěn chromatografií na koloně (hexany/EtOAc (9 : 1)) za získání 270 mg (0,88 mmol, 60% výtěžek) sloučeniny D.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 8,50 (d, 1H, J = 1,4 Hz), 7,81 - 7,80 (d, 2H, J = 6,6 Hz), 7,54 - 7,43 (m, 3H), 7,17 - 7,13 (m, 3H), 6,99 - 6,94 (m, 2H), 4,48 (s, 1H), 2,68 - 2,64 (m, 2H), 1,81 - 1,74 (m, 2H), 1,19 (s, 3H), 1,15 (s, 3H) ppm.

E. 5-(4-Fluorfenyl)-3,3-dimethylnorvailin hydrochlorid

Do baňky obsahující sloučeninu D (268 mg, 0,87 mmol) bylo přidáno 7 ml koncentrované HCl. Roztok byl vařen pod zpětným chladičem 18 h a potom byl ochlazen extrahován Et₂O. Rozpouštědlo bylo z vodné vrstvy odstraněno ve vakuu a zbylá olejovitá látka byla rozpuštěna v Et₂O/MeOH a byla odbarvena aktivním uhlím. Po zfiltrování a odstranění rozpouštědla ve vakuu byl zbytek smísen s Et₂O a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu za získání 180 mg (0,65 mmol, 75% výtěžek) sloučeniny E jako olejové látky, která byla dále použita v surovém stavu.

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7,25 - 7,20 (m, 2H), 7,01 - 6,95 (m, 2H), 4,45 (s (br), 1H), 2,67 - 2,63 (m, 2H), 1,76 - 1,72 (m, 2H), 1,22 - 1,13 (m, 6H).

F. N-Terc-butoxykarbonyl)-5-(4-fluorfenyl)-3,3-dimethylnorvalín

K dioxanovému roztoku (5 ml) obsahujícímu sloučeninu E (180 mg, 0,65 mmol) bylo přidáno 2,5 ml 2M roztoku NaOH při laboratorní teplotě. K získanému roztoku byl potom přidán di-t-butyldikarbonát (284 mg, 1,34 mmol). Po míchání přes noc byl roztok okyselen 1,0M HCl. Organické podíly byly extrahovány EtOAc (2 x), sušeny (MgSO₄) a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Zbýlý olej byl čištěn chromatografií na koloně (5% MeOH/CH₂Cl₂), za získání 76 mg (0,22 mmol, 34% výtěžek) sloučeniny F.

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7,18 - 7,15 (m, 2H), 6,96 - 6,92 (m, 2H), 6,62 (d, 1H, J = 9,3 Hz), 4,18 (d, 1H, J = 9,5 Hz), 2,65 - 2,58 (m, 2H), 1,62 - 1,53 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,05 (s, 3H), 1,01 (s, 3H) ppm.

G. Terc-butyl(1S)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidiny]karbonyl}-4-(4-fluorfenyl)-2,2-dimethylbutylkarbamát

K DMF roztoku (4 ml) obsahujícímu sloučeninu F (172 mg, 0,51 mmol) byl přidán diisopropylethylamin (98 mg, 0,76 mmol), potom HATU (213 mg, 0,56 mmol) při laboratorní teplotě. Po 15 min byly přidány (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát (153 mg, 0,53 mmol) a diisopropylethylamin (68 mg, 0,53 mmol) ve 2 ml DMF. Reakční směs byla míchána přes noc a potom byla vlita do EtOAc. Organické podíly byly promyty H₂O (2 x), nasyceným roztokem NaHCO₃ a nasyceným roztokem NaHSO₄. Po usušení nad MgSO₄ bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a zbylý žlutý olej byl čištěn chromatografií na koloně (2% MeOH)CH₂Cl₂) za získání 147 mg sloučeniny G, která byla dále čištěna semipreparativní HPLC za získání 80 mg sloučeniny G.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,15 - 7,12 (m, 2H), 6,96 - 6,92 (m, 2H), 5,40 (d (br), 1H, J = 52,0 Hz), 5,18 (d, 1H, J = 9,7 Hz), 5,04 (d, 1H, J = 9,3 Hz), 4,31 (d, 1H, J = 9,9 Hz), 4,11 (s, 1H), 4,03 (m, 1H), 2,70 - 2,52 (m, 3H), 2,33 (m, 1H), 1,64 - 1,60 (m, 2H), 1,41 (s, 9H), 1,11 (s, 3H), 1,09 (s, 3H) ppm.

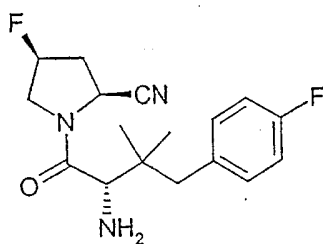
H. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-5-(4-fluorfenyl)-3,3-dimethylpentanoyl]-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril hydrochlorid

K CH₂Cl₂ roztoku (4 ml) obsahujícímu sloučeninu G (80 mg, 0,18 mmol) bylo přidáno 71 µl TFA (5 ekv.). Po 30 min bylo přidáno dalších 5 ekv. TFA a následovalo přidání 10 ekv. po 1 h. Po míchání po dobu celkově 3,5 h bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a zbytek rozpuštěn v EtOAc. Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaHCO₃, sušeny (MgSO₄) a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Ke zbylému oleji bylo přidáno 1,5 ml dioxanu, potom 2,0 ml 4,0M dioxanového roztoku HCl. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a byl přidán Et₂O. Vysrážená pevná látka byla oddělena

vakuovou filtrací za získání 40 mg (0,11 mmol, 60% výtěžek) sloučeniny H.

^1H NMR ($\text{d}_4\text{-MeOH}$) 400 MHz δ 7,25 - 7,22 (m, 2H), 7,00 - 6,95 (m, 2H), 5,46 (d (br), 1H, J = 51,1 Hz), 5,09 (d, 1H, J = 9,4 Hz), 4,12 (m, 1H), 4,03 (s, 1H), 3,90 (ddd, 1H, J = 37,6, 12,7, 3,0 Hz), 2,68 - 2,44 (m, 4H), 1,78 - 1,73 (m, 2H), 1,21 (s, 6H) ppm.

Příklad 4



(2S,4R)-1-[(2S)-2-Amino-4-(4-fluorfenyl)-3,3-dimethylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. 3-(4-Fluorfenyl)-2,2-dimethylpropannitril

K toluenovému roztoku (60 ml) obsahujícímu isobutyronitril (5,0 g, 72,3 mmol), ochlazenému na 0 °C, bylo přidáno 152 ml 0,5M toluenového roztoku KNMDS (76,0 mmol). Po 15 min byl přidán 4-fluorbenzylbromid (14,4 g, 76,0 mmol). Roztok byl pomalu zahříván na laboratorní teplotu přes noc a potom byla reakce ukončena H_2O . Organické podíly byly extrahovány EtOAc a promyty nasyceným roztokem NaHSO_4 . Po usušení nad MgSO_4 bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a zbylý žlutý olej byl čištěn chromatografií na koloně (5% EtOAc/hexany) za získání 10,05 g (56,8 mmol, 79% výtěžek) sloučeniny A.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,25 - 7,22 (m, 2H), 7,05 - 7,00 (m,

2H), 2,78 (s, 2H), 1,34 (s, 6H) ppm.

B. 3-(4-Fluorfenyl)-2,2-dimethylpropanol

K toluenovému roztoku (100 ml) obsahujícímu sloučeninu A (10,0 g, 56,5 mmol), ochlazenému na -78 °C, bylo přidáno 56,5 ml 1,5M toluenového roztoku DIBAL (84,7 mmol). Po 2,5 h byly přidány roztok H₂O/THF (160 ml/40 ml) obsahující octan sodný (14,3 g) a kyselinu octovou (14,3 ml), potom byl přidán celit. Roztok byl míchán 1 h a potom byl přidán Et₂O. Roztok byl zfiltrován přes celit, přičemž celit byl důkladně promyt Et₂O. Filtrát byl promyt H₂O (2 x) a potom nasyceným roztokem NaHCO₃. Po usušení nad MgSO₄ bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a zbylý olej čištěn chromatografií na koloně (5% EtOAc/hexany) za získání 923 g (51,3 mmol, 91% výtěžek) sloučeniny B.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 9,56 (s, 1H), 7,06 - 7,03 (m, 2H), 6,97 - 6,93 (m, 2H), 2,75 (s, 2H), 1,04 (s, 6H) ppm.

C. 2-Amino-4-(4-fluorfenyl)-3,3-dimethylbutannitril

K MeOH roztoku (32 ml) obsahujícímu sloučeninu B (5,0 g, 27,8 mmol) bylo přidáno 3,8 ml 30% NH₄OH, kyanid draselný (1,9 g, 29,2 mmol) a 15 ml H₂O. Do tohoto roztoku byl přidán chlorid amonný (1,64 g, 30,6 mmol) při laboratorní teplotě. Získaný roztok byl míchán přes noc a potom byl zahříván na 70 °C. Po 5 h byl roztok ochlazen, zředěn EtOAc a potom promyt H₂O (2 x) a nasyceným roztokem NaHCO₃. Po usušení nad MgSO₄ bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a získaný žlutý olej byl čištěn chromatografií na koloně (hexany/EtOAc (1 : 1)) za získání 3,69 g (17,9 mmol, 64% výtěžek) sloučeniny C.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,17 - 7,13 (m, 2H), 7,00 - 6,95 (m, 2H), 3,33 (t, 1H, J = 8,5 Hz), 2,80 (d, 1H, J = 13,4 Hz), 2,61 (d, 1H, J =

13,4 Hz), 1,58 - 1,57 (m, 2H), 1,03 (s, 3H), 1,02 (s, 3H) ppm.

D. Kyselina 2-amino-4-(4-fluorfenyl)-3,3-dimethylbutanová

Do baňky obsahující sloučeninu C (3,69 g, 17,9 mmol) bylo přidáno 80 ml koncentrované HCl. Roztok byl potom zahříván pod zpětným chladičem 24 h. Heterogenní roztok byl potom ochlazen v ledové lázni a vakuovou filtrací byla oddělena bílá pevná látka. Po evakuování ve vysokém vakuu bylo získáno 4,06 g bílého prášku. Tento materiál byl dále použit surový.

E. Kyselina 2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-4-[4-fluorfenyl]-3,3-dimethylbutanová

K dioxanovému roztoku (20 ml) obsahujícímu sloučeninu D (2,0 g, 7,66 mmol) bylo přidáno 5 ml H₂O a 9,6 ml 2,0M vodného roztoku NaOH. K tomuto roztoku byl při laboratorní teplotě přidán di-t-butyl dikarbonát (2,34 g, 10,7 mmol). Po míchání přes noc byl heterogenní roztok vlit do nasyceného roztoku NaHCO₃ a promyt Et₂O. Vrstva Et₂O byla promyta nasyceným roztokem NaHCO₃ a potom byly spojené vodné vrstvy okyseleny 1,0M HCl a extrahovány EtOAc (2 x). Po usušení nad MgSO₄ bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu za získání 928 mg (2,86 mmol, 37% výtěžek) sloučeniny E.

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7,21 - 7,18 (m, 2H), 7,00 - 6,95 (m, 2H), 6,74 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 3,98 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 2,68 (d, 1H, J = 13,4 Hz), 2,62 (d, 1H, J = 13,3 Hz), 1,45 (s (br), 9H), 0,93 (s, 3H), 0,92 (s, 3H) ppm.

F. Terc-butyl(1S)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl}-3-(4-fluorfenyl)-2,2-dimethylpropylkarbamát

K DMF roztoku (20 ml) obsahujícímu sloučeninu E (928 mg,

2,86 mmol) byl přidán diisopropylethylamin (406 mg, 3,14 mmol), potom HATU (1,14 g, 3,00 mmol) při teplotě laboratoře. Po 30 min byly přidány (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát (857 mg, 3,00 mmol) a diisopropylethylamin (388 mg, 3,00 mmol) ve 13 ml DMF. Po míchání přes noc byl roztok vlit do EtOAc a promyt H₂O (2 x), nasyceným roztokem NaHCO₃ a 1,0M HCl. Po usušení nad MgSO₄ bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Zbylý olej byl čištěn chromatografií na koloně (hexany/EtOAc/CH₂Cl₂ (5 : 4 : 1)) za získání 273 mg (0,65 mmol, materiál s nízkým R_f) (S)-diastereomeru při měření vibračním cirkulárním dichroismem a 226 mg směsi (R)-diastereomeru spolu s neznámou nečistotou. Dále byl použit (S)-diastereomer.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,15 - 7,11 (m, 2H), 7,01 - 6,96 (m, 2H), 5,32 (dt, 1H, *J* = 51,3, 3,3 Hz), 5,20 (d, 1H, *J* = 9,7 Hz), 5,01 (d, 1H, *J* = 9,3 Hz), 4,16 (d, 1H, *J* = 10,1 Hz), 3,91 (m, 1H), 3,68 (dd, 1H, *J* = 23,6, 12,1 Hz), 2,72 - 2,56 (m, 2H), 2,30 (m, 1H), 1,43 (s, 9H), 1,08 (s, 3H), 0,95 (s, 3H) ppm.

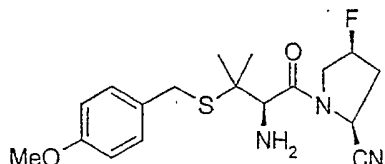
G. (2S,4R)-1-[(2S)-2-Amino-4-(4-fluorfenyl)-3,3-dimethylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH₂Cl₂ roztoku (7 ml) obsahujícímu sloučeninu F (242 mg, 0,58 mmol) bylo přidáno 443 µl (10 ekv.) TFA při teplotě laboratoře. Po 30 min bylo přidáno 10 ekv. TFA a po celkově 3 h byla reakční směs vlita do nasyceného roztoku NaHCO₃. Organické podíly byly extrahovány EtOAc, sušeny (MgSO₄) a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Zbylý olej byl rozpuštěn v dioxanu (4 ml) a potom byly přidány 4,0 ml 4,0M roztoku HCl v dioxanu. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a zbytek byl rozetřen s Et₂O. Získaná pevná látka byla oddělena vakuovou filtrací za poskytnutí 175 mg (0,46 mmol, 79% výtěžek) soli G.

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7,22 - 7,19 (m, 2H), 7,08 - 7,04

(m, 2H), 5,43 (d (br), 1H, $J = 51,1$ Hz), 5,09 (d, 1H, $J = 9,5$ Hz), 4,05 (s, 1H), 3,97 - 3,74 (m, 2H), 2,82 (d, 1H, $J = 13,4$ Hz), 2,72 (d, 1H, $J = 13,2$ Hz), 2,64 - 2,39 (m, 2H), 1,07 (s, 3H), 1,00 (s, 3H) ppm.

Příklad 5



(2S,4S)-1-(2R)-2-Amino-3-[(4-methoxybenzyl)thio]-3-methylbutanoyl]-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Terc-buty)((1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluoropyrrolidin-1-yl]karbonyl)-2-[(4-methoxybenzyl)thio]-2-methylpropylkarbamát

K DMF roztoku (35 ml) obsahujícímu kyselinu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[(4-methoxybenzyl)thio]-3-methylbutanovou (2,0 g, 5,41 mmol, 1,2 ekv.) byl přidán N,N-diisopropylethylamin (1,06 ml, 6,09 mmol, 1,35 ekv.), potom HATU (2,9 g, 7,67 mmol, 1,7 ekv.). Získaný jantarový roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu 20 min. K tomuto míchanému roztoku byl přidán roztok (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátu (1,29 g, 4,51 mmol, 1,0 ekv.) a N,N-diisopropylethylamin (864 μ l, 4,96 mmol, 1,1 ekv.) v DMF (12 ml). Získaný roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu 18 h a potom byla reakce byla ukončena nasyceným roztokem NaHCO₃ (přibližně 50 ml). Kalný roztok byl potom vlit do H₂O (přibližně 100 ml) a extrahován EtOAc (3 x 50 ml). Spojené organické extrakty byly promyty H₂O (2 x) a roztokem soli (1 x), sušeny nad MgSO₄ a zakoncentrovány ve vakuu. Získaný světlehnědý

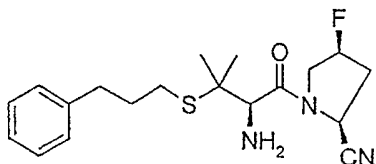
olej byl čištěn bleskovou chromatografií s použitím směsi 1 : 1 hexany/EtOAc jako mobilní fáze. Bylo izolováno 1,96 g (4,23 mmol, 78% výtěžek) sloučeniny A jako bílé pěny.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,29 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 6,83 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 5,48 (d, 1H, $J = 51,4$ Hz), 5,43 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 5,04 (d, 1H, $J = 9,3$ Hz), 4,38 (d, 1H, $J = 8,9$ Hz), 4,27 (m, 1H), 4,04 (m, 1H), 3,80 (s, 2H), 3,77 (s, 3H), 2,72 (t, 1H, 15,5 Hz), 2,37 (m, 1H), 1,47 - 1,41 (m, 14H) ppm.

B. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-[(4-methoxybenzyl)thio]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (60 ml) obsahujícímu kyselinu trifluoroctovou (8 ml) byla přidána sloučenina A (1,2 g, 2,58 mmol, 1,0 ekv.). Získaný bleděžlutý roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu 2 h a potom bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Získaná sůl TFA byla převedena na volnou bázi přidáním nasyceného roztoku NaHCO_3 a extrahováním vodné vrstvy (2 x) EtOAc. Spojené organické extrakty byly sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bělavá pěna byla čištěna bleskovou chromatografií s použitím 5% MeOH (s 0,1% NH_3) v CH_2Cl_2 jako mobilní fáze, za poskytnutí 897 mg (2,45 mmol, 95% výtěžek) bílé pěny. Pro vytvoření HCl soli byla volná báze převedena do Et_2O a byl přidáván aceton, dokud všechny pevné látky nepřešly do roztoku. Po kapkách byl přidáván 2,0M HCl v etheru, dokud se již netvořila další sraženina. Sraženina byla potom zfiltrována a několikrát promyta Et_2O . Získaná sůl byla sušena ve vysokém vakuu.

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7,31 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 6,88 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 5,49 (d, 1H, $J = 50,5$ Hz), 5,00 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,02 - 3,52 (m, 8H), 2,65 (t, 1H, $J = 15,7$ Hz), 2,40 (m, 1H), 1,44 (s, 3H), 1,31 (s, 3H) ppm.

Příklad 6

(2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(3-phenylpropyl)thio]butanoyl]-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Methyl(2R)-2-amino-3-merkpto-3-methylbutanoát

K methanolovému roztoku (18 ml, 1,14 M) obsahujícímu L-penicilamin (3,0 g, 20,11 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán thionylchlorid (1,5 ml, 20,7 mmol, 1,03 ekv.). Získaná směs byla zahřívána pod zpětným chladičem 18 h a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Získaná čirá polotuhá látka byla použita v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 328 g (20,1 mmol, 100% výtěžek).

B. Methyl(2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkpto-3-methylbutanoát

K CH_2Cl_2 (60 ml) obsahujícímu sloučeninu A (3,28 g, 20,1 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán di-terc-butyldikarbonát (4,48 g, 20,5 mmol, 1,02 ekv.) a triethylamin (7,0 ml, 50,3 mmol, 2,5 ekv.). Získaná směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 18 h. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a zbytek vložen do Et_2O . Nerozpuštěná bílá pevná látka byla zfiltrována a filtrát promyt roztokem soli, sušen nad MgSO_4 a zakoncentrován ve vakuu. Získaná bílá pevná látka byla použita v příštím kroku bez dalšího čištění. Bylo

izolováno 5,01 g (19,02 mmol, 95% výtěžek).

^1H NMR (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 4,26 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 1,44 - 1,42 (m, 15H) ppm.

C. Methyl-(2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methyl-3-[(3-fenyl-propyl)thio]butanoát

K CH_3CN roztoku (20 ml) obsahujícímu sloučeninu B (346 mg, 1,31 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán terc-butoxid sodný (138 mg, 1,44 mmol, 1,1 ekv.). Získaná bleděžlutá směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 10 min a potom byl přidán 1-brom-3-fenylpropan (219 μl , 1,44 mmol, 1,1 ekv.). Získaný roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře po dobu 18 h. Reakce byla potom ukončena nasyceným roztokem NH_4Cl , vlita do H_2O a extrahována (2 x) EtOAc. Spojené extrakty byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Čištění bleskovou chromatografií s použitím směsi 2 : 1 hexan/EtOAc jako mobilní fáze. Izolováno 376 mg (0,988 mmol, 76% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,30 - 7,16 (m, 5H), 5,38 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 4,29 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 3,71 (s, 3H), 2,72 (t, 2H, J = 7,4 Hz), 2,58 - 2,51 (m, 2H), 1,89 - 1,82 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,36 (d, 6H, J = 8,8 Hz) ppm.

D. Kyselina (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methyl-3-[(3-fenyl-propyl)thio]butanová

K dioxanovému roztoku (7,5 ml)/ H_2O (2,5 ml) obsahujícímu sloučeninu C (376 mg, 0,988 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán monohydrát hydroxidu lithného (207 mg, 4,94 mmol, 5,0 ekv.). Získaná heterogenní směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 18 h. Reakce byla potom ukončena nasyceným roztokem NH_4Cl , vlita do H_2O a extrahována (2 x) EtOAc. Spojené extrakty byly sušeny

nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Pro čištění byla použita blesková chromatografie s použitím směsi 1 : 1 hexany/ EtOAc (s 0,1% AcOH) jako mobilní fáze. Bylo izolováno 230 mg (0,626 mmol, 64% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,31 - 7,16 (m, 5H), 5,51 (d, 1H, J = 9,5 Hz), 4,33 (d, 1H, J = 9,5 Hz), 3,41 (t, 2H, J = 6,8 Hz), 2,79 (t, 2H, J = 7,3 Hz), 2,20 - 2,13 (m, 2H), 1,47 - 1,44 (m, 15 H) ppm.

E. Terc-butyl-(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl-2-methyl-2[(3-fenylpropyl)thio]propylkarbamát

K DMF roztoku (5 ml) obsahujícímu sloučeninu D (230 mg, 0,626 mmol, 1,2 ekv.) byl přidán N,N -diisopropylethylamin (123 μl , 0,705 mmol, 1,35 ekv.), potom HATU (337 mg, 0,887 mmol, 1,7 ekv.). Získaný jantarový roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu 20 min. K tomuto míchanému roztoku byl přidán roztok (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátu (149 mg, 0,522 mmol, 1,0 ekv.) a N,N -diisopropylethylamin (100 μl , 0,574 mmol, 1,1 ekv.) v DMF (2 ml). Získaný roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu 18 h a reakce byla ukončena nasyceným roztokem NaHCO_3 (přibližně 5 ml). Kalný roztok byl potom vlit do H_2O (přibližně 20 ml) a extrahován EtOAc (3 x 10 ml). Spojené organické extrakty byly promyty H_2O (2 x) a roztokem soli (1 x), sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaný světlehnědý olej byl čištěn bleskovou chromatografií s použitím směsi 1 : 1 hexany/ EtOAc jako mobilní fáze. Bylo izolováno 190 mg (0,411 mmol, 79% výtěžek) sloučeniny E jako bílé pěny.

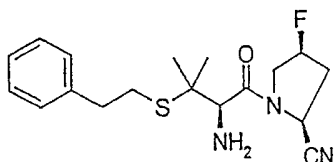
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,28 - 7,17 (m, 5H), 5,46 (d, 1H, J = 51,4 Hz), 5,37 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 5,00 (d, 1H, J = 9,3 Hz), 4,38 - 4,29 (m, 2H), 4,01 (m, 1H), 2,77 - 2,58 (m, 5H), 2,35 (m, 1H), 1,92 - 1,80 (m, 2H), 1,44 - 1,34 (m, 15H) ppm.

F. (2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(3-phenylpropyl)thio]butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K CH_2Cl_2 roztoku (10 ml) obsahujícímu kyselinu trifluoroctovou (1 ml) byla přidána sloučenina E (190 mg, 0,411 mmol, 1,0 ekv.). Získaný bleděžlutý roztok byl míchán při teplotě laboratoře 2 hod a potom bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Získaná sůl TFA byla převedena na volnou bázi přidáním nasyceného roztoku NaHCO_3 a extrakcí vodné vrstvy (2 x) EtOAc. Spojené organické extrakty byly sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bělavá pěna byla čištěna bleskovou chromatografií s použitím směsi 5% MeOH (s 0,1% NH_3) v CH_2Cl_2 jako mobilní fáze, za poskytnutí 134 mg (0,389 mmol, 94% výtěžek) bílé pěny. Pro vytvoření HCl soli byla volná báze převedena do Et_2O a byl přidáván aceton, dokud všechny pevné látky nepřešly do roztoku. Po kapkách byl přidáván 2,0M HCl v etheru, dokud se již netvořila další sraženina. Sraženina byla potom zfiltrována a několikrát promyta Et_2O . Získaná sůl byla sušena ve vysokém vakuu.

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7,23 - 7,11 (m, 5H), 5,46 (d, 1H, J = 50,4 Hz), 4,98 (d, 1H, J = 9,1 Hz), 4,04 - 3,96 (m, 2H), 3,68 (m, 1H), 2,62 - 2,30 (m, 6H), 1,78 - 1,71 (m, 2H), 1,29 (d, 6H, J = 9,7 Hz) ppm.

Příklad 7



(2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(2-fenylethyl)thio]butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Methyl-(2R)-2-[(tercbutoxykarbonyl)amino]-3-methyl-3-[(2-fenylethyl)thio]butanoát

K CH_3CN roztoku (50 ml) obsahujícímu methyl(2R)-2-[(tercbutoxykarbonyl)amino]-3-merkpto-3-methylbutanoát (jak bylo uvedeno výše) (1,26 g, 4,78 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán terc-butoxid sodný (597 mg, 6,21 mmol, 1,3 ekv.). Získaná bleděžlutá směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 10 min a potom byl přidán (2-bromethyl)benzen (718 μl , 5,26 mmol, 1,1 ekv.). Získaný roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře po dobu 18 h. Reakce byla potom ukončena nasyceným roztokem NH_4Cl , vlita do H_2O a extrahována (2 x) EtOAc. Spojené extrakty byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Pro čištění byla použita blesková chromatografie s použitím směsi 5 : 1 hexany/EtOAc jako mobilní fáze. Bylo izolováno 761 mg (2,07 mmol, 45% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,31 - 7,19 (m, 5H), 5,36 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 4,33 (d, 1H, J = 9,1 Hz), 3,71 (s, 3H), 2,83 - 2,78 (m, 4H), 1,44 (s, 9H), 1,36 (d, 6H, J = 7,5 Hz) ppm.

B. Kyselina (2R)-2-[(tercbutoxykarbonyl)amino]-3-methyl-3-[(2-fenylethyl)thio]butanová

K dioxanovému roztoku (20 ml)/ H_2O (7 ml) obsahujícímu sloučeninu A (761 mg, 2,07 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán monohydrát hydroxidu lithného (434 mg, 10,35 mmol, 5,0 ekv.). Získaná heterogenní směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře 18 h. Reakce byla potom ukončena nasyceným roztokem NH_4Cl , vlita do H_2O a extrahována (2 x) EtOAc. Spojené extrakty byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Pro čištění byla použita blesková

chromatografie s použitím směsi 1 : 1 hexany/EtOAc (s 0,1% AcOH) jako mobilní fáze. Bylo izolováno 502 mg (1,42 mmol, 69% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,31 - 7,18 (m, 5H), 5,42 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 4,32 (s (br), 1H), 2,87 - 2,81 (m, 4H), 1,44 (s, 9H), 1,40 (s, 3H), 1,36 (s, 3H) ppm.

C. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl}-2-methyl-2[(2-fenylethyl)thio]propylkarbamát

K DMF roztoku (10 ml) obsahujícímu sloučeninu B (502 mg, 1,42 mmol, 1,2 ekv.) byl přidán N,N-diisopropylethylamin (278 μl , 1,59 mmol, 1,35 ekv.), potom HATU (764 mg, 2,01 mmol, 1,7 ekv.). Získaný jantarový roztok byl míchán při teplotě laboratoře 20 min. K tomuto míchanému roztoku byl přidán roztok (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátu (338 mg, 1,18 mmol, 1,0 ekv.) a N,N-diisopropylethylamin (226 μl , 1,3 mmol, 1,1 ekv.) v DMF (5 ml). Získaný roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu 18 h a reakce byla ukončena nasyceným roztokem NaHCO_3 (přibližně 5 ml). Kalný roztok byl potom vlit do H_2O (přibližně 20 ml) a extrahován EtOAc (3 x 10 ml). Spojené organické extrakty byly promyty H_2O (2 x) a roztokem soli (1 x), sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaný světlehnědý olej byl čištěn bleskovou chromatografií s použitím směsi 1 : 1 hexany/EtOAc jako mobilní fáze. Bylo izolováno 361 mg (0,803 mmo), 80% výtěžek sloučeniny C jako bílé pěny.

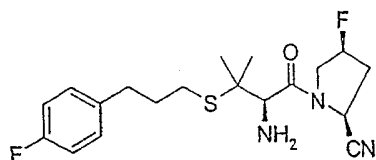
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,30 - 7,20 (m, 5H), 5,46 (d, 1H, J = 51,0 Hz), 5,38 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 5,01 (d, 1H, J = 9,4 Hz), 4,36 - 4,25 (m, 2H), 4,06 (m, 1H), 2,87 - 2,84 (m, 4H), 2,70 (t, 1H, J = 15,0 Hz), 2,35 (m, 1H), 1,41 - 1,37 (m, 15H) ppm.

D. (2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(2-fenylethyl)thio]butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K CH_2Cl_2 roztoku (20 ml) obsahujícímu kyselinu trifluoroctovou (2 ml) byla přidána sloučenina C (361 mg, 0,803 mmol, 1,0 ekv.). Získaný bleděžlutý roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu 2 h a potom bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Získaná TFA sůl byla převedena na volnou bázi přidáním nasyceného roztoku NaHCO_3 a extrakcí vodné vrstvy (2 x) EtOAc. Spojené organické extrakty byly sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bělavá pěna byla čištěna bleskovou chromatografií s použitím směsi 5% MeOH (s 0,1% NH_3) v CH_2Cl_2 jako mobilní fáze, za poskytnutí 223 mg (0,638 mmol, 80% výtěžek) bílé pěny. Pro vytvoření HCl soli byla volná báze převedena do Et_2O a byl přidáván aceton, dokud veškerá pevná látka nepřešla do roztoku. Po kapkách byl přidáván 2,0M HCl v etheru, dokud se již netvořila další sraženina. Sraženina byla potom zfiltrována a několikrát promyta Et_2O . Získaná sůl byla sušena ve vysokém vakuu.

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7,20 - 7,09 (m, 5H), 5,43 (d, 1H, J = 50,5 Hz), 4,94 (d, 1H, J = 9,5 Hz), 4,13 (m, 1H), 3,89 (s, 1H), 3,71 (m, 1H), 2,84 - 2,70 (m, 4H), 2,59 (t, 1H, J = 15,7 Hz), 2,37 (m, 1H), 128 (s, 3H), 1,22 (s, 3H) ppm.

Příklad 8



(2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-[3-(4-fluorfenyl)propyl]thio}-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. 3-(4-Fluorfenyl)propan-1-ol

K THF roztoku (200 ml) obsahujícímu kyselinu 3-(4-fluorfenyl)propanovou (33,6 g, 0,2 mol) byl přidán 1,0M roztok LiAlH_4 v Et_2O (200 ml, 0,2 mol) v průběhu 0,5 h. Získaná směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře 18 h. Reakce byla pomalu ukončena H_2O a vodná vrstva byla extrahována (1 x) Et_2O . Spojené organické extrakty byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaný olej byl použit v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 31,4 g (0,2 mol, 100% výtěžek).

B. 1-(3-Chlorpropyl)-4-fluorbenzen

K CH_2Cl_2 roztoku (300 ml) obsahujícímu sloučeninu A (31,4 g, 0,2 mol) byl přidán dichlortrifenyfosforan (110 g, 0,33 mol). Získaná směs byla míchána při teplotě laboratoře 20 min a potom zakoncentrována ve vakuu. Ke zbytku byly přidány hexany (přibližně 200 ml) a získaná heterogenní směs byla míchána při teplotě laboratoře po dobu 30 min. Nerozpuštěné pevné podíly byly zfiltrvány a promyty hexany. Filtrát byl zakoncentrován ve vakuu a získaný olej byl použit v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 33,3 g (0,193 mol, 96% výtěžek).

C. Methyl-(2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-{[3-(4-fluorfenyl)-propyl]thio}-3-methylbutanoát

K CH_3CN roztoku (60 ml) obsahujícímu methyl-(2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkpto-3-methylbutanoát (jak bylo uvedeno výše) (1,51 g, 5,73 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán terc-butoxid sodný (716 mg, 7,45 mmol, 1,3 ekv.). Získaná bleděžlutá směs byla

ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 10 min a potom byl přidán 1-(3-chlorpropyl)-4-fluorbenzen (jak bylo uvedeno výše) (1,09 g, 6,3 mmol, 1,1 ekv.). Získaný roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře po dobu 18 h. Reakce byla potom ukončena nasyceným roztokem NH_4Cl , vlita do H_2O a extrahována (2 x) EtOAc. Spojené extrakty byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu a potom čištěny bleskovou chromatografií s použitím směsi 5 : 1 hexany/EtOAc jako mobilní fáze. Bylo izolováno 700 mg (1,75 mmol, 31% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,14 - 7,10 (m, 2H), 6,98 - 6,93 (m, 2H), 5,36 (d, 1H, $J = 9,1$ Hz), 4,29 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 3,71 (s, 3H), 2,68 (t, 2H, $J = 7,4$ Hz), 2,56 - 2,49 (m, 2H), 1,86 - 1,79 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,35 (d, 6H, $J = 6,8$ Hz) ppm.

D. Kyselina (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-{[3-(4-fluorfenyl)-propyl]thio}-3-methylbutanová

K dioxanovému roztoku (20 ml)/ H_2O (7 ml) obsahujícímu sloučeninu A (700 mg, 1,75 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán monohydrát hydroxidu lithného (367 mg, 8,75 mmol, 5,0 ekv.). Získaná heterogenní směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře 18 h. Reakce byla potom ukončena nasyceným roztokem NH_4Cl , vlita do H_2O a extrahována (2 x) EtOAc. Spojené extrakty byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Pro čištění byla použita blesková chromatografie s použitím směsi 1 : 1 hexany/EtOAc (s 0,1% AcOH) jako mobilní fáze. Bylo izolováno 512 mg (1,33 mmol, 76% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,13 - 7,10 (m, 2H), 6,99 - 6,93 (m, 2H), 5,41 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 4,29 (s (br), 1H), 2,68 - 2,55 (m, 4H), 1,88 - 1,80 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,39 (s, 3H), 1,36 (s, 3H) ppm.

E. Terc-butyl-(1R)-1-([(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl)-2-[(3-(4-fluorfenyl)propyl)thio]-2-methylpropylkarbamát

K DMF roztoku (15 ml) obsahujícímu sloučeninu B (512 mg, 1,33 mmol, 1,2 ekv.) byl přidán N,N-diisopropylethylamin (261 μ l, 1,5 mmol, 1,35 ekv.), potom HATU (717 mg, 1,89 mmol, 1,7 ekv.). Získaný jantarový roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu 20 min. K tomuto míchanému roztoku byl přidán roztok (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátu (317 mg, 1,11 mmol, 1,0 ekv.) a N,N-diisopropylethylamin (213 μ l, 1,22 mmol, 1,1 ekv.) v DMF (10 ml). Získaný roztok byl míchán při teplotě laboratoře 18 h a reakce byla ukončena nasyceným roztokem NaHCO₃ (přibližně 5 ml). Kalný roztok byl potom vlit do H₂O (přibližně 20 ml) a extrahován EtOAc (3 x 10 ml). Spojené organické extrakty byly promyty H₂O (2 x) a roztokem soli (1 x), sušeny nad MgSO₄ a zakoncentrovány ve vakuu. Získaný jantarový olej byl čištěn bleskovou chromatografií s použitím směsi 1 : 1 hexan/EtOAc jako mobilní fáze. Bylo izolováno 420 mg (0,872 mmol, 79% výtěžek) sloučeniny C jako bílé pěny.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,14 - 7,11 (m, 2H), 6,97 - 6,92 (m, 2H), 5,47 (d, 1H, *J* = 50,9 Hz), 5,36 (d, 1H, *J* = 8,4 Hz), 5,00 (d, 1H, *J* = 9,3 Hz), 4,42 - 4,32 (m, 2H), 4,01 (m, 1H), 2,74 - 2,57 (m, 5H), 2,36 (m, 1H), 1,89 - 1,76 (m, 2H), 1,41 - 1,37 (m, 15H) ppm.

F. (2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-[(3-(4-fluorfenyl)propyl)thio]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

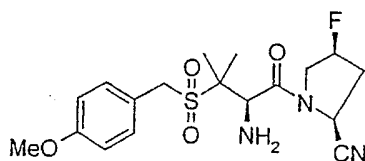
K CH₂Cl₂ roztoku (30 ml) obsahujícímu kyselinu trifluoroctovou (3 ml) byla přidána sloučenina C (420 mg, 0,872 mmol, 1,0 ekv.). Získaný bleděžlutý roztok byl míchán při teplotě laboratoře 2 h a potom bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Získaná TFA sůl byla převedena na volnou bázi přidáním nasyceného roztoku NaHCO₃ a extrakcí vodné vrstvy (2 x) EtOAc. Spojené organické extrakty byly sušeny nad Na₂SO₄ a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bělavá

23.02.04

pěna byla čištěna bleskovou chromatografií s použitím směsi 5% MeOH (s 0,1% NH₃) v CH₂Cl₂ jako mobilní fáze, za poskytnutí 275 mg (0,721 mmol, 83% výtěžek) bílé pěny. Pro vytvoření HCl soli byla volná báze převedena do Et₂O a byl přidáván aceton, dokud všechny pevné podíly nepřešly do roztoku. Po kapkách byl přidáván 2,0M HCl v etheru, dokud se již netvořila další sraženina. Sraženina byla potom zfiltrována a několikrát promyta Et₂O. Získaná sůl byla sušena ve vysokém vakuu.

¹H NMR (D₂O) 400 MHz δ 7,15 - 7,10 (m, 2H), 6,96 - 6,90 (m, 2H), 5,48 (d, 1H, J = 50,9 Hz), 4,99 (d, 1H, J = 9,6 Hz), 4,07 - 3,98 (m, 2H), 3,74 (m, 1H), 2,64 - 2,32 (m, 6H), 1,80 - 1,68 (m, 2H), 1,30 (d, 6H, J = 6,6 Hz) ppm.

Příklad 9



(2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-[(4-methoxybenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Terc-butyl(1R)-1-[[[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-[(4-methoxybenzyl)sulfonyl]-2-methylpropylkarbamát

K CHCl₃ roztoku (25 ml) obsahujícímu terc-butyl(1R)-1-[[[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-[(4-methoxybenzyl)thio]-2-methylpropylkarbamát (jak bylo uvedeno výše) (473 mg, 1,017 mmol, 1,0 ekv.) byla přidána kyselina 3-chlorperoxybenzoová (1,76 g, 10,18 mmol, 10 ekv.). Získaná směs byla míchána při teplotě

laboratoře 18 h. Reakce byla potom ukončena 1,0N NaOH (přibližně 5 ml) a vrstvy byly odděleny. Organická vrstva byla sušena nad MgSO_4 a zakoncentrována ve vakuu. Získaná bílá lehká pevná látka byla použita v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 400 mg (0,805 mmol, 80% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,35 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 6,92 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 5,48 (d, 1H, $J = 51,0$ Hz), 5,04 (d, 1H, $J = 9,1$ Hz), 4,99 (d, 1H, $J = 9,4$ Hz), 4,34 - 3,98 (m, 4H), 3,81 (s, 3H), 2,73 (t, 1H, $J = 15,0$ Hz), 2,39 (m, 1H), 1,58 (s, 3H), 1,53 (s, 3H), 1,42 (s, 9H) ppm.

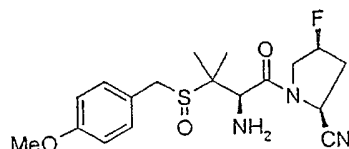
B. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-[(4-methoxybenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K CH_2Cl_2 roztoku (40 ml) obsahujícímu kyselinu trifluoroctovou (4 ml) byla přidána sloučenina A (400 mg, 0,805 mmol, 1,0 ekv.). Získaný bleděžlutý roztok byl míchán při teplotě laboratoře 2 h a potom bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Získaná TFA sůl byla převedena na volnou bázi přidáním nasyceného roztoku NaHCO_3 a extrahováním vodné vrstvy (2 x) EtOAc. Spojené organické extrakty byly sušeny nad Na_2SO_4 a koncentrovány ve vakuu. Získaná bělavá pěna byla čištěna bleskovou chromatografií s použitím směsi 5% MeOH (s 0,1% NH_3) v CH_2Cl_2 jako mobilní fáze, za poskytnutí 296 mg (0,745 mmol, 93% výtěžek) bílé pěny. Pro vytvoření HCl soli byla volná báze převedena do Et_2O a byl přidáván aceton, dokud všechny pevné podíly nepřešly do roztoku. Po kapkách byl přidáván 2,0M HCl v etheru, dokud se již netvořila další sraženina. Sraženina byla potom zfiltrována a několikrát promyta Et_2O . Získaná sůl byla sušena ve vysokém vakuu.

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7,28 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 6,92 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 5,47 (d, 1H, $J = 50,6$ Hz), 5,00 (d, 1H, $J = 10,0$ Hz), 4,66 (s, 1H), 4,51 (s, 2H), 4,05 (m, 1H), 3,81 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 2,64 (t, 1H,

$J = 15,7 \text{ Hz}$), 2,42 (m, 1H), 1,62 (s, 3H), 1,48 (s, 3H) ppm.

Příklad 10



(2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-[(4-methoxybenzyl)sulfinyl]-3-methylbutanoyl]-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Terc-butyl(1R)-1-[[[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-[(4-methoxybenzyl)sulfinyl]-2-methylpropylkarbamát

K methanolovému roztoku (10 ml) obsahujícímu terc-butyl(1R)-1-[[[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-[(4-methoxybenzyl)thio]-2-methylpropylkarbamát (jak bylo uvedeno výše) (660 mg, 1,42 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán roztok NaIO_4 (334 mg, 1,56 mmol, 1,1 ekv.) v H_2O (10 ml). Získaná směs byla míchána při teplotě laboratoře 18 h. Získaná heterogenní směs byla rozdělena mezi CH_2Cl_2 a H_2O . Organická vrstva byla sušena nad MgSO_4 a zakoncentrována ve vakuu. Získaná bílá lehká pevná látka byla použita v příštím kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 600 mg (1,25 mmol, 87% výtěžek) ve formě směsi diastereomerů.

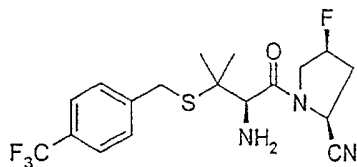
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 400 MHz δ 7,27 - 7,25 (m, 2H), 6,90 - 6,88 (m, 2H), 5,87 (s (br), 1H), 5,40 (m, 1H), 5,03 - 4,95 (m, 2H), 4,19 - 3,66 (m, 7H), 2,65 (m, 1H), 2,36 (m, 1H), 1,49 - 1,38 (m, 15H) ppm.

B. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-[(4-methoxybenzyl)sulfinyl]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K CH_2Cl_2 roztoku (50 ml) obsahujícímu kyselinu trifluoroctovou (5 ml) byla přidána sloučenina A (600 mg, 1,25 mmol, 1,0 ekv.). Získaný bleděžlutý roztok byl míchán při teplotě laboratoře 2 h a potom bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Získaná TFA sůl byla převedena na volnou bázi přidáním nasyceného roztoku NaHCO_3 a extrakcí vodné vrstvy (2 x) EtOAc . Spojené organické extrakty byly sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bělavá pěna byla čištěna bleskovou chromatografií s použitím směsi 5% MeOH (s 0,1% NH_3) v CH_2Cl_2 jako mobilní fáze, za poskytnutí 368 mg (0,965 mmol, 77% výtěžek) bílé pěny. Pro vytvoření HCl soli byla volná báze převedena do Et_2O a byl přidáván aceton, dokud všechny pevné podíly nepřešly do roztoku. Po kapkách byl přidáván 2,0M HCl v etheru, dokud se již netvořila další sraženina. Sraženina byla potom zfiltrována a několikrát promyta Et_2O . Získaná sůl byla sušena ve vysokém vakuu.

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7,25 - 7,21 (m, 2H), 6,93 - 6,90 m, 2N), 5,42 (m, 1H), 5,02 (m, 1H), 4,48 (m, 1H), 4,24 - 3,70 (m, 7H), 2,68 - 2,31 (m, 2H), 1,52 - 1,32 (m, 6H) ppm.

Příklad 11



(2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-methyl-3-[4-(trifluormethyl)benzyl]thio}-
-butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2R)-2-[(Terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkpto-3-
-methylbutanová

K THF roztoku (300 ml) obsahujícímu L-penicilamin (5,0 g, 33,51 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán hydroxid draselný (1,88 g, 33,51 mmol, 1,0 ekv.). Směs byla potom ochlazena na 0 °C a byl přidán di-terc-butyldikarbonát (7,31 g, 33,51 mmol, 1,0 ekv.). Získaná míchaná směs byla ponechána ohřát na teplotu laboratoře přes noc. Reakční směs byla potom vlita do H₂O (přibližně 300 ml) a extrahována (2 x) EtOAc. Spojené organické extrakty byly sušeny nad MgSO₄ a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bílá pevná látka byla použita v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 7,68 g (30,80 mmol, 92% výtěžek).

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 5,51 (d, 1H, J = 9,6 Hz), 4,33 (d, 1H, J = 9,6 Hz), 1,55 (s, 3N), 1,45 (s, 9H), 1,41 (s, 3H) ppm.

B. Kyselina (2R)-2-[(Terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methyl-3-{[4-
-(trifluormethyl)benzyl]thio}butanová

K CH₃CN roztoku (40 ml) obsahujícímu sloučeninu A (1,0 g, 4,011 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán terc-butoxid sodný (810 mg, 8,42 mmol, 2,1 ekv.). Získaný bleděžlutý roztok byl ponechán míchat po dobu 10 min a potom byl přidán 4-(trifluormethyl)benzylbromid (1,05 g, 4,41 mmol, 1,1 ekv.). Získaná směs byla zahřívána na 50 °C a ponechána míchat 18 h. Reakční směs byla potom vlita do H₂O (přibližně 50 ml) a extrahována (2 x) EtOAc. Spojené extrakty byly sušeny nad MgSO₄ a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná pevná látka byl použita v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 1,45 g (3,55 mmol, 89% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,55 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz), 7,44 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz), 5,39 (s (br), 1H), 4,44 (s (br), 1H), 3,85 (s, 2H), 1,45 - 1,43 (m, 15H) ppm.

C. Terc-butyl(1R)-1-{[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl}-
-2-methyl-2-{[4-(trifluormethyl)benzyl]thio}propylkarbamát

K DMF roztoku (30 ml) obsahujícím sloučeninu B (1,45 mg, 3,55 mmol, 12 ekv.) byl přidán N,N-diisopropylethylamin (698 μl , 4,01 mmol, 1,35 ekv.), potom HATU (1,92 g, 5,05 mmol, 1,7 ekv.). Získaný jantarový roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu 20 min. K tomuto míchanému roztoku byl přidán roztok (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátu (849 mg, 2,97 mmol, 1,0 ekv.) a N,N-diisopropylethylaminu (569 μl , 3,27 mmol, 1,1 ekv.) v DMF (25 ml). Získaný roztok byl míchán při teplotě laboratoře 18 h a potom byla reakce ukončena nasyceným roztokem NaHCO_3 (přibližně 5 ml). Kalný roztok byl potom vlit do H_2O (přibližně 20 ml) a extrahován EtOAc (3 x 10 ml). Spojené organické extrakty byly promyty H_2O (2 x) a roztokem soli (1 x), sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaný světlehnědý olej byl čištěn bleskovou chromatografií s použitím směsi 1 : 1 hexany/EtOAc jako mobilní fáze. Bylo izolováno 682 mg (1,35 mmol, 45% výtěžek) sloučeniny C jako bílé pěny.

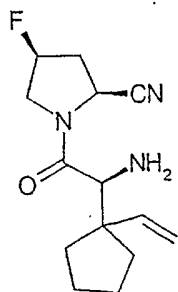
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,55 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz), 7,50 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 5,49 (d, 1H, $J = 50,8$ Hz), 5,42 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 5,03 (d, 1H, $J = 10,0$ Hz), 4,40 (d, 1H, $J = 9,5$ Hz), 4,32 (m, 1H), 4,04 (m, 1H), 3,88 (s, 2H), 2,74 (t, 1H, $J = 15,1$ Hz), 2,38 (m, 1H), 1,47 (s, 3H), 1,42 (s, 9H), 1,41 (s, 3H) ppm.

D. (2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-methyl-3-[[4-(trifluoromethyl)benzyl]-thio]butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K CH_2Cl_2 roztoku (70 ml) obsahujícímu kyselinu trifluoroctovou (7 ml) byla přidána sloučenina A (682 mg, 1,35 mmol, 1,0 ekv.). Získaný bleděžlutý roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu 2 h a potom bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Získaná TFA sůl byla převedena na volnou bázi přidáním nasyceného roztoku NaHCO_3 a extrakcí vodné vrstvy (2 x) EtOAc. Spojené organické extrakty byly sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bělavá pěna byla čištěna bleskovou chromatografií s použitím směsi 5% MeON (s 0,1% NH_3) v CN_2Cl_2 jako mobilní fáze, za poskytnutí 390 mg (0,967 mmol, 72% výtěžek) bílé pěny. Pro vytvoření HCl soli byla volná báze převedena do Et_2O a byl přidáván aceton, dokud všechny pevné podíly nepřešly do roztoku. Po kapkách byl přidáván 2,0M HCl v etheru, dokud se již netvořila další sraženina. Sraženina byla potom zfiltrována a několikrát promyta Et_2O . Získaná sůl byla sušena ve vysokém vakuu.

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7,57 (d, 2H, $J = 8,1$ Hz), 7,49 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 5,46 (d, 1H, $J = 51,4$ Hz), 4,98 (d, 1H, $J = 9,5$ Hz), 4,05 - 3,53 (m, 5H), 2,62 - 2,28 (m, 2H), 1,40 (s, 3H), 1,31 (s, 3H) ppm.

Příklad 12



(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-2-(1-vinylcyklopentyl)ethanoyl]-4-fluor-pyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Terc-butyl(1S)-2-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]-2-oxo-1-(1-vinylcyklopentyl)ethylkarbamát

K DMF roztoku (25 ml) obsahujícímu racemickou kyselinu [(terc-butoxykarbony)amino](1-vinylcyklopentyl)octovou (jak je popsáno v Robl, Jeffrey A.; Sulsky, Richard B.; Augeri, David J.; Magnin, David R.; Hamann, Lawrence G.; Betebenner, David A.: Preparation of fused cyklopropylpyrrolidine-based inhibitors of dipeptidyl peptidase IV, WO 200168603A2) (1,07 g, 3,97 mmol) byly přidány Hünigova báze (0,835 ml, 4,37 mmol) a HATU (1,66 g, 4,37 mmol). Získaný roztok byl míchán po dobu 15 min při teplotě laboratoře, potom byl po kapkách, v průběhu 2 až 3 min přidán (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenszensulfonát (1,14 g, 3,97 mmol) a Hünigova báze (0,835 ml, 4,37 mmol) v 10 ml DMF. Získaný roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu 18 h, byla reakce ukončena H₂O. Roztok byl vlit do H₂O a organické podíly extrahovány EtOAc (2 x). Po promytí nasyceným roztokem NaCl a 1,0N HCl byly organické podíly sušeny (MgSO₄) a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu, za získání tmavého oleje, který byl čištěn na silikagelu s použitím systému Biotage FlashElute System, a s elucí gradientovým způsobem s hexany/EtOAc 3 : 1 až 1 : 1 za poskytnutí dvou produktů, diastereomerních, v poloze alfa-amino (C1), v poměru přibližně 1 : 1 (582 mg diastereomeru 1, 628 mg diastereomeru 2, 83% celkový výtěžek). Na základě analýzy vibračním cirkulárním dichroismem hotového produktu bylo zjištěno, že pomaleji se eluující diastereomer má absolutní stereochemickou konfiguraci (S).

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 5,92 (dd, 1H, *J* = 10,8, 17,3 Hz), 5,38 (m, 1H), 5,22 (dd, 2H, *J* = 10,8, 27,4 Hz), 5,02 (d, 1H, *J* = 10,3 Hz), 4,23 (d, 1H, *J* = 9,2 Hz), 4,06 (m, 2H), 2,63 (t, 1H, *J* =

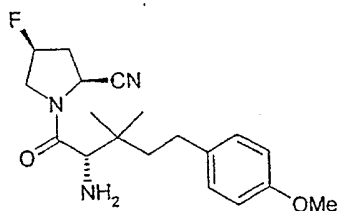
15,5 Hz), 2,40 - 2,23 (m, 2H), 1,85 (m, 1H), 1,75 - 1,52 (m, 6H), 1,43 (m, 1H), 1,37 (s, 9H) ppm.

B. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-2-(1-vinylcyklopentyl)ethanoyl]-4-fluor-pyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

Do baňky obsahující terc-butyl(1S)-2-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluor-pyrrolidin-1-yl]-2-oxo1-(1-vinylcyklopentyl)ethylkarbamát (70 mg, 0,19 mmol) v 1 ml 1,4-dioxanu byly přidány 2 ml 4N HCl v 1,4-dioxanu, potom 1 ml 2N HCl v Et₂O. Získaný roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu 3 h, během kterých byl výchozí materiál spotřebován, jak bylo zjištěno pomocí TLC. K reakční směsi byly přidány 3 ml Et₂O, potom 3 ml hexanů. Získaná světlehnědá sraženina byla zfiltrována, smísena s Et₂O, oddělena vakuovou filtrací a sušena ve vakuu, za poskytnutí sloučeniny B jako krémové pevné látky (35 mg, 70% výtěžek).

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 5,83 (dd, 1H, *J* = 10,7, 17,6 Hz), 5,36 (dd, 2H, *J* = 10,7, 27,7 Hz), 5,07 (d, 1H, *J* = 9,7 Hz), 4,16 (m, 2H), 3,79 (m, 1H), 2,63 (t, 1H, *J* = 16,2 Hz), 2,45 (m, 1H), 1,86 - 1,58 (m, 7H), 1,36 (M, 3H) ppm.

Příklad 13



(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-5-(4-methoxyfenyl)-3,3-dimethylpentanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. 4-(4-Methoxyfenyl)-2,2-dimethylbutanal

K toluenovému roztoku (80 ml) obsahujícímu 4-(4-methoxyfenyl)-2,2-dimethylbutannitril (3,65 g, 18,0 mmol; viz Knochel, P. a další, Org. Lett. 2000, 2, 3285, pro přípravu této sloučeniny) ochlazenému na -78°C , bylo přidáno 18,0 ml 1,5M toluenového roztoku DIBAL (27,0 mmol). Po 3 h při -78°C byla reakce byla ukončena roztokem $\text{H}_2\text{O}/\text{THF}$ (75 ml/15 ml) obsahujícím octan sodný (4,6 g) a kyselinu octovou (4,6 ml) při -78°C . K tomuto roztoku byl přidán celit, potom Et_2O . Roztok byl ponechán ohřát na laboratorní teplotu a potom byl zfiltrován přes lože celitu. Celit byl důkladně opláchnut Et_2O a potom byl filtrát promyt H_2O . Po usušení nad MgSO_4 bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a zbytek byl čištěn chromatografií na koloně (hexany/ EtOAc (9 : 1)) za získání 3,55 g (172 mmol, 96% výtěžek) sloučeniny A.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 9,47 (s, 1H), 7,07 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 6,81 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 3,78 (s, 3H), 2,48 - 2,44 (m, 2H), 1,77 - 1,73 (m, 2H), 1,11 (s, 6H) ppm.

B. 1,1,1-Trichlor-5-(4-methoxyfenyl)-3,3-dimethylpentan-2-ol

K THF roztoku (10 ml) obsahujícímu sloučeninu A (511 mg, 2,48 mmol) a bezvodý chloroform (311 mg, 2,60 mmol), ochlazenému na -78°C , bylo po kapkách přidáno 2,6 ml 1,0M TNF roztoku LiHMDS (2,60 mmol) v průběhu 5 min. Získaný roztok byl míchán při -78°C 30 min a potom byla reakce ukončena H_2O . Po ohřátí byly organické podíly extrahovány EtOAc a po usušení nad MgSO_4 bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Zbýlý olej byl čištěn chromatografií na koloně (10% EtOAc /hexany) za získání 588 mg (1,81 mmol, 73% výtěžek)

sloučeniny B jako bílé pevné látky.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,10 (d, 2H, $J = 8,7$ Hz), 6,82 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 4,05 (d, 1H, $J = 5,7$ Hz), 3,78 (s, 3H), 2,95 (d, 1H, $J = 5,7$ Hz), 2,64 - 2,59 (m, 2H), 1,95 (m, 1H), 1,73 (m, 1H), 1,32 (s, 3H), 1,25 (s, 3N) ppm.

C. Kyselina 2-azido-5-(4-methoxyfenyl)-3,3-dimethylpentanová

K DME roztoku (4 ml) obsahujícímu sloučeninu B (581 mg, 1,79 mmol) bylo přidáno 7 ml vodného roztoku obsahujícího azid sodný (232 mg, 3,58 mmol) a hydroxid sodný (286 mg, 7,15 mmol) při laboratorní teplotě. Po míchání přes noc byl roztok vlit do 2,0M NaOH a organické podíly extrahovány Et_2O . Vodná vrstva byla extrahována nasyceným roztokem NaHSO_4 a organické podíly extrahovány EtOAc (2 x). Po usušení nad MgSO_4 bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a zbylý olej čištěn chromatografií na koloně (5% $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) za získání 186 mg (0,67 mmol, 37% výtěžek) sloučeniny C.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,09 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 6,82 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 3,91 (s, 1H), 3,78 (s, 3H), 2,58 - 2,52 (m, 2H), 1,71 - 1,61 (m, 2H), 1,10 (s, 6H) ppm.

D. (2S,4S)-1-[2-Azido-5-(4-methoxyfenyl)-3,3-dimethylpentanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K DMF roztoku (15 ml) obsahujícímu sloučeninu C (696 mg, 2,52 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (358 mg, 2,77 mmol) byl přidán HATU (1,05 g, 2,77 mmol) při laboratorní teplotě. Po 20 min byly přidány roztok DMF (8 ml) obsahující (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidin-karbonitril-4-methylbenzensulfonát (755 mg, 2,64 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (341 mg, 2,64 mmol). Roztok byl míchán přes noc a potom byl zředěn EtOAc a promyt H_2O (3 x), nasyceným roztokem NaHCO_3 a 2,0M HCl. Po usušení nad MgSO_4 bylo

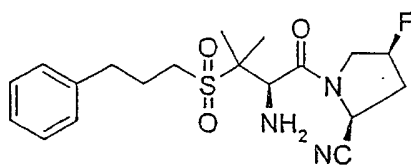
rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Zbýlý žlutý olej byl čištěn chromatografií na koloně (na počátku hexany/EtOAc/CH₂Cl₂ (6 : 3 : 1), potom hexany/EtOAc/CH₂Cl₂ (3 : 1 : 1)) za získání 605 mg (1,62 mmol, 64% výtěžek) sloučeniny D jako bílé pevné látky, která byla na základě analýzy ¹H NMR určena jako směs diastereomerů 3 : 2. Diastereomerní směs byla použita v dalším kroku.

E. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-5-(4-methoxyfenyl)-3,3-dimethylpentano-yl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K EtOH roztoku (8 ml) obsahujícímu 10% Pd/C (200 mg) byl přidán roztok 1 : 1 THF/EtOH (10 ml) obsahující sloučeninu D (593 mg, 1,59 mmol). Roztok byl 4 x odplyněn a potom umístěn pod balonem vodíku. Po 6,5 h byl roztok zfiltrován přes lože celitu, přičemž celit byl důkladně propláchnut CH₂Cl₂. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a zbylá pevná látka byla čištěna chromatografií na koloně (5% methanolický NH₃/CH₂Cl₂), za získání 251 mg (0,72 mmol) sloučeniny E jako volné báze. Tento materiál byl potom rozpuštěn ve 2 ml CH₂Cl₂ a byly přidány 3,0 ml 4,0M dioxanového roztoku HCl. Rozpouštědlo bylo potom ihned odstraněno ve vakuu a zbylý olej rozetřen s Et₂O. Získaná pevná látka byla oddělena vakuovou filtrací za získání 231 mg (0,60 mmol) sloučeniny E jako hydrochloridové soli.

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7,13 (d, 2H, *J* = 8,6 Hz), 6,81 (d, 2H, *J* = 8,7 Hz), 5,31 (d (br), 1H, *J* = 51,1 Hz), 5,09 (d, 1H, *J* = 9,5 Hz), 4,10 (m, 1H), 4,01 (s, 1H), 3,86 (m, 1H), 3,74 (s, 3H), 2,65 - 2,42 (m, 4H), 1,76 - 1,72 (m, 2H), 1,20 (s, 6H) ppm.

Příklad 14



(2S,4S)-1-{(2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(3-fenylpropyl)sulfonyl]butanoyl}-
-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

A. Terc-butyl(1R)-1-{[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl}-
-2-methyl-2-[(3-fenylpropyl)sulfonyl]propylkarbamát

K CHCl_3 roztoku (50 ml) obsahujícímu terc-butyl(1R)-1-
-{[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl}-2-methyl-2-[(3-
-fenylpropyl)thio]propylkarbamát (jak bylo uvedeno výše) (830 mg,
1,79 mmol, 1,0 ekv.) byla přidána kyselina 3-chlorperoxybenzoová
(3,09 g, 17,9 mmol, 10 ekv.). Získaná směs byla míchána při teplotě
laboratoře 18 h. Reakce byla ukončena 1,0N NaOH (přibližně 10 ml) a
vrstvy odděleny. Organická vrstva byla sušena nad MgSO_4 a
zakoncentrována ve vakuu. Získaná bílá lehká pevná látka byla
použita v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 800 mg
sloučeniny A (1,62 mmol, 91% výtěžek).

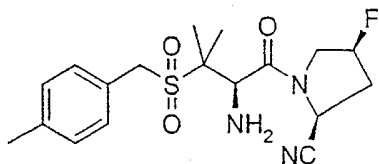
B. (2S,4S)-1-{(2R)-2-amino-3-methyl-3-[(3-fenylpropyl)sulfonyl]-
-butanoyl}-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K CH_2Cl_2 roztoku (50 ml) obsahujícímu kyselinu trifluoroctovou
(5 ml) byla přidána sloučenina A (800 mg, 1,62 mmol, 1,0 ekv.).
Získaný bleděžlutý roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu
2 h a potom bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Získaná TFA sůl
byla převedena na volnou bázi přidáním nasyceného roztoku NaHCO_3
a extrakcí vodné vrstvy (2 x) EtOAc. Spojené organické extrakty byly
sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bělavá
pěna byla čištěna bleskovou chromatografií s použitím 5% MeOH
(s 0,1 % NH_3) v CH_2Cl_2 jako mobilní fáze, za poskytnutí 532 mg
sloučeniny B jako volné báze (1,35 mmol, 83% výtěžek). Pro vytvoření
HCl soli byla volná báze převedena do Et_2O a byl přidáván aceton,

dokud všechny pevné podíly nepřešly do roztoku. Po kapkách byl přidáván 2,0M HCl v etheru, dokud se již netvořila další sraženina. Sraženina byla potom zfiltrována a několikrát promyta Et₂O. Získaná sůl byla sušena ve vysokém vakuu.

¹H NMR (D₂O) 400 MHz δ 7,26 - 7,13 (m, 5H), 5,48 (d, 1H, *J* = 50,7 Hz), 5,00 (d, 1H, *J* = 9,7 Hz), 4,63 (s, 1H), 4,02 (m, 1H), 3,81 (m, 1H), 3,20 - 3,15 (m, 2H), 2,71 (t, 2H, *J* = 7,5 Hz), 2,65 - 2,33 (m, 2H), 2,09 - 2,01 (m, 2H), 1,50 (s, 3H), 1,35 (s, 3H) ppm.

Příklad 15



(2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(4-methylbenzyl)sulfonyl]-butanoyl)-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril

A. Kyselina (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methyl-3-[(4-methylbenzyl)thio]butanová

K roztoku 1,0N NaOH (50 ml) obsahujícímu kyselinu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkpto-3-methylbutanovou (jak bylo uvedeno výše) (1,0 g, 4,01 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán 4-methylbenzylchlorid (584 µl, 4,41 mmol, 1,1 ekv.). Získaná směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře 18 h. Reakční směs byla potom vlita do dělicí nálevky a promyta Et₂O (1 x) pro odstranění případného nezreagovaného chloridu. K vodné vrstvě byla přidávána koncentrovaná HCl, dokud vodná vrstva nedosáhla pH 2 až 3. Vodná vrstva byla potom extrahována Et₂O (2 x). Spojené organické extrakty

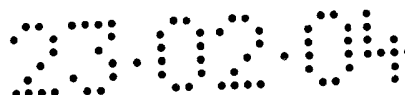
byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bílá lehká látka byla použita v příštím kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 1,29 g sloučeniny A (3,65 mmol, 91% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,21 (d, 2H, $J = 7,9$ Hz), 7,11 (d, 2H, $J = 8,3$ Hz), 5,46 (d (br), 1H, $J = 8,5$ Hz), 4,40 (s (br), 1H), 3,83 (q, 2H, $J = 11,7$ Hz), 2,31 (s, 3H), 1,48 - 1,42 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methyl-2-[(4-methylbenzyl)thio]propylkarbamát

K DMF roztoku (25 ml) obsahujícímu sloučeninu A (1,29 g, 3,65 mmol, 1,2 ekv.) byl přidán N,N-diisopropylethylamin (715 μl , 4,1 mmol, 1,35 ekv.), potom HATU (1,96 g, 5,17 mmol, 1,7 ekv.). Získaný jantarový roztok byl míchán při teplotě laboratoře 20 min. K tomuto míchanému roztoku byl přidán roztok (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátu (869 mg, 3,04 mmol, 1,0 ekv.) a N,N-diisopropylethylamin (582 μl , 3,34 mmol, 1,1 ekv.) v DMF (15 ml). Získaný roztok byl míchán při teplotě laboratoře 18 h a reakce byla ukončena nasyceným roztokem NaHCO_3 (přibližně 5 ml). Kalný roztok byl potom vlit do H_2O (přibližně 20 ml) a extrahován EtOAc (3 x 10 ml). Spojené organické extrakty byly promyty H_2O (2 x) a roztokem soli (1 x), sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaný světlehnědý olej byl čištěn bleskovou chromatografií s použitím směsi 1 : 1 hexany/EtOAc jako mobilní fáze. Bylo izolováno 1,14 g (2,54 mmol, 84% výtěžek) sloučeniny B jako bílé pěny.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,26 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 7,10 (d, 2H, $J = 7,8$ Hz), 5,48 (d, 1H, $J = 51,9$ Hz), 5,44 (d, 1H, $J = 9,5$ Hz), 5,04 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 4,37 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz), 4,25 (m, 1H), 4,04 (m, 1H), 3,81 (s, 2H), 2,72 (t, 1H, $J = 15,2$ Hz), 2,45 - 2,28 (m, 4H), 1,47 - 1,41 (m, 15H) ppm.



C. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methyl-2[(4-methylbenzyl)sulfonyl]propylkarbamát

K CHCl_3 roztoku (75 ml) obsahujícímu sloučeninu B (1,14 g, 2,54 mmol, 1,0 ekv.) byla přidána kyselina 3-chlorperoxybenzoová (3,09 g, 17,9 mmol, 10 ekv.). Získaná směs byla míchána při teplotě laboratoře 18 h. Reakce byla potom ukončena 1,0N NaOH (přibližně 15 ml) a vrstvy byly odděleny. Organická vrstva byla sušena nad MgSO_4 a zakoncentrována ve vakuu. Získaná bílá lehká pevná látka byla použita v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 1,03 g sloučeniny C (2,14 mmol, 84% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,32 (d, 2H, $J = 8,0$ Hz), 7,19 (d, 2H, $J = 7,9$ Hz), 5,51 (m, 1H), 5,48 (d, 1H, $J = 50,7$ Hz), 5,04 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 4,99 (d, 1H, $J = 9,7$ Hz), 4,32 - 3,97 (m, 4H), 2,72 (t, 1H, $J = 15,7$ Hz), 2,46 - 2,29 (m, 4H), 1,58 (s, 3H), 1,52 (s, 3H), 1,41 (s, 9H) ppm.

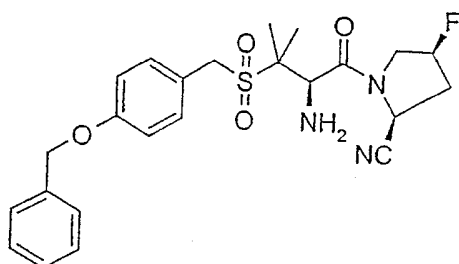
D. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(4-methylbenzyl)sulfonyl]-butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K CH_2Cl_2 roztoku (100 ml) obsahujícímu kyselinu trifluoroctovou (10 ml) byla přidána sloučenina C (1,03 g, 2,14 mmol, 1,0 ekv.). Získaný bleděžlutý roztok byl míchán při teplotě laboratoře 2 h a potom bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Získaná TFA sůl byla převedena na volnou bázi přidáním nasyceného roztoku NaHCO_3 a extrakcí vodné vrstvy (2 x) EtOAc. Spojené organické extrakty byly sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bělavá pěna byla čištěna bleskovou chromatografií s použitím směsi 5% MeOH (s 0,1% NH_3) v CH_2Cl_2 jako mobilní fáze, za poskytnutí 577 mg (1,51 mmol, 71% výtěžek) volné báze sloučeniny D jako bílé pěny. Pro vytvoření HCl soli byla volná báze převedena do Et_2O a byl přidáván aceton, dokud všechny pevné podíly nepřešly do roztoku. Po kapkách byl přidáván 2,0M HCl v etheru, dokud se již netvořila další sraženina.

Sraženina byla potom zfiltrována a několikrát promyta Et₂O. Získaná sůl byla sušena ve vysokém vakuu.

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7,38 (d, 2H, *J* = 8,1 Hz), 7,24 (d, 2H, *J* = 7,7 Hz), 5,56 (d, 1H, *J* = 50,7 Hz), 5,12 (d, 1H, *J* = 9,7 Hz), 4,74 (s, 1H), 4,64 (ABq, 2H, *J* = 19,7, 13,3 Hz), 4,12 (m, 1H), 3,94 (m, 1H), 2,70 - 2,43 (m, 2H), 2,36 (s, 3H), 1,76 (s, 3H), 1,58 (s, 3H) ppm.

Příklad 16



(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[[4-(benzyloxy)benzyl]sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

A. Kyselina (2R)-3-[[4-(benzyloxy)benzyl]thio]-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanová

K 1,0N roztoku NaOH (25 ml) obsahujícímu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkpto-3-methylbutanovou (jak bylo uvedeno výše) (500 mg, 2,01 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán 4-benzyl-oxybenzylchlorid (515 mg, 221 mmol, 1,1 ekv.). Získaná směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře 18 h. Reakční směs byla potom vlita do dělicí nálevky a promyta Et₂O (1 x) pro odstranění případného nezreagovaného chloridu. K vodné vrstvě byl přidáván koncentrovaný HCl, dokud pH nedosáhlo 2 až 3. Vodná vrstva byla potom extrahována Et₂O (2 x). Spojené organické extrakty byly sušeny

nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bílá lehká pevná látka byla použita v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 700 mg sloučeniny A (1,57 mmol, 78% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,42 - 7,31 (m, 5H), 7,24 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 6,90 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 5,46 (s (br), 1H), 5,03 (s, 2H), 4,39 (s (br), 1H), 3,81 (q, 2H, J = 11,5 Hz), 1,47 - 1,41 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-2-([4-(benzyloxy)benzyl]thio)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl}-2-methylpropylkarbamát

K DMF roztoku (20 ml) obsahujícímu sloučeninu A (700 mg, 1,57 mmol, 1,2 ekv.) byl přidán N,N-diisopropylethylamin (308 μl , 1,77 mmol, 1,35 ekv.), potom HATU (847 mg, 2,23 mmol, 1,7 ekv.). Získaný jantarový roztok byl míchán při teplotě laboratoře po dobu 20 min. K tomuto míchanému roztoku byl přidán roztok (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátu (375 mg, 1,31 mmol, 1,0 ekv.) a N,N-diisopropylethylaminu (251 μl , 1,44 mmol, 1,1 ekv.) v DMF (10 ml). Získaný roztok byl míchán při teplotě laboratoře 18 h a reakce byla ukončena nasyceným roztokem NaHCO_3 (přibližně 5 ml). Kalný roztok byl potom vlit do H_2O (přibližně 20 ml) a extrahován EtOAc (3 x 10 ml). Spojené organické extrakty byly promyty H_2O (2 x) a roztokem soli (1 x), sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaný jantarový olej byl čištěn bleskovou chromatografií s použitím směsi 1 : 1 hexany/EtOAc jako mobilní fáze. Bylo izolováno 340 mg (0,628 mmol, 48% výtěžek) sloučeniny B jako bílé pěny.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,42 - 7,27 (m, 7H), 6,91 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 5,46 (d, 1H, J = 50,9 Hz), 5,43 (d, 1H, J = 9,3 Hz), 5,05 - 5,01 (m, 3H), 4,37 (d, 1H, J = 9,0 Hz), 4,26 (m, 1H), 4,03 (m, 1H), 3,80 (s, 2H), 2,71 (t, 1H, J = 15,2 Hz), 2,36 (m, 1H), 1,47 - 1,41 (m, 15H) ppm.

C. Terc-butyl(1R)-2-{[4-(benzyloxy)benzyl]sulfonyl}-1-[(2S,4S)-2-
-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl}-2-methylpropylkarbamát

K CHCl_3 roztoku (30 ml) obsahujícímu sloučeninu B (340 mg, 0,628 mmol, 1,0 ekv.) byla přidána kyselina 3-chlorperoxybenzoová (1,08 g, 6,28 mmol, 10 ekv.). Získaná směs byla míchána při teplotě laboratoře 18 h. Reakce byla potom ukončena 1,0N NaOH (přibližně 5 ml) a vrstvy odděleny. Organická vrstva byla sušena nad MgSO_4 a zakoncentrována ve vakuu. Získaná bílá lehká pevná látka byla použita v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 280 mg sloučeniny C (0,488 mmol, 78% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,43 - 7,32 (m, 7H), 7,00 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 5,51 (s (br), 1H), 5,48 (d, 1H, J = 50,7 Hz), 5,06 - 4,97 (m, 4H), 4,34 - 3,99 (m, 4H), 2,73 (t, 1H, J = 15,2 Hz), 2,38 (m, 1H), 1,59 (s, 3H), 1,53 (s, 3H), 1,42 (s, 9H) ppm.

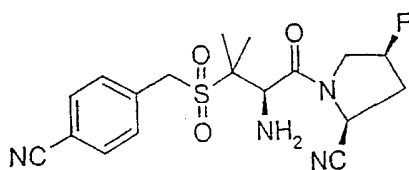
D. (2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-{[4-(benzyloxy)benzyl]sulfonyl}-3-
-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K CH_2Cl_2 roztoku (27 ml) obsahujícímu kyselinu trifluoroctovou (3 ml) byla přidána sloučenina C (280 mg, 0,488 mmol, 1,0 ekv.). Získaný bleděžlutý roztok byl míchán při teplotě laboratoře 2 h a potom bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Získaná TFA sůl byla převedena na volnou bázi přidáním nasyceného roztoku NaHCO_3 a extrakcí vodné vrstvy (2 x) EtOAc. Spojené organické extrakty byly sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bělavá pěna byla čištěna bleskovou chromatografií s použitím směsi 5% MeOH (s 0,1% NH_3) v CH_2Cl_2 jako mobilní fáze, za poskytnutí 182 mg (0,385 mmol, 79% výtěžek) volné báze sloučeniny D jako bílé pěny. Pro vytvoření HCl soli byla volná báze převedena do Et_2O a byl přidáván aceton, dokud všechny pevné podíly nepřešly do roztoku. Po kapkách byl přidáván 2,0M HCl v etheru, dokud se již netvořila další sraženina. Sraženina byla potom zfiltrována a několikrát promyta Et_2O .

Získaná sůl byla sušena ve vysokém vakuu.

^1H NMR ($\text{d}_4\text{-MeON}$) 400 MHz δ 7,44 - 7,29 (m, 7H), 7,05 (d, 2H, $J = 8,8$ Hz), 5,56 (d, 1H, $J = 50,0$ Hz), 5,11 - 5,09 (m, 3H), 4,72 (s, 1H), 4,61 (AB, q, 2H, $J = 18,1, 13,5$ Hz), 4,13 (m, 1H), 3,91 (m, 1H), 2,70 - 2,42 (m, 2H), 1,75 (s, 3H), 1,58 (s, 3H) ppm.

Příklad 17



(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(4-kyanobenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

A. Kyselina (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[(4-kyanobenzyl)-thio]-3-methylbutanová

K roztoku 1,0N NaOH (25 ml) obsahujícímu kyselinu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkpto-3-methylbutanovou (jak bylo uvedeno výše) (500 mg, 2,01 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán 4-kyanobenzylbromid (433 mg, 221 mmol, 1,1 ekv.). Získaná směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře 18 h. Reakční směs byla potom vlita do dělicí nálevky a promyta Et_2O (1 x) pro odstranění případného nezreagovaného chloridu. K vodné vrstvě byla přidávána koncentrovaná HCl, dokud vodná vrstva nedosáhla pH 2 až 3. Vodná vrstva byla potom extrahována Et_2O (2 x). Spojené organické extrakty byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bílá lehká pevná látka byla použita v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 792 mg sloučeniny A (1,72 mmol, 86% výtěžek).

B. Terc-butyl(1R)-2-[(4-kyanobenzyl)thio]-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluor-pyrrolidin-1-yl]karbonyl}-2-methylpropylkarbamát

K DMF roztoku (25 ml) obsahujícímu sloučeninu A (792 mg, 1,72 mmol, 1,2 ekv.) byl přidán N,N-diisopropylethylamin (337 μ l, 1,93 mmol, 1,35 ekv.), potom HATU (924 mg, 2,43 mmol, 1,7 ekv.). Získaný jantarový roztok byl míchán při teplotě laboratoře 20 min. K tomuto míchanému roztoku byl přidán roztok (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátu (409 mg, 1,43 mmol, 1,0 ekv.) a N,N-diisopropylethylaminu (274 μ l, 1,57 mmol, 1,1 ekv.) v DMF (10 ml). Získaný roztok byl míchán při teplotě laboratoře 18 h a reakce byla ukončena nasyceným roztokem NaHCO₃ (přibližně 5 ml). Kalný roztok byl potom vlit do H₂O (přibližně 20 ml) a extrahován EtOAc (3 x 10 ml). Spojené organické extrakty byly promyty H₂O (2 x) a roztokem soli (1 x), sušeny nad MgSO₄ a zakoncentrovány ve vakuu. Získaný světlehnědý olej byl čištěn bleskovou chromatografií s použitím směsi 1 : 1 hexany/EtOAc jako mobilní fáze. Bylo izolováno 572 mg (1,24 mmol, 87% výtěžek) sloučeniny B jako bílé pěny.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,59 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 7,50 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 5,50 (d, 1H, J = 50,5 Hz), 5,42 (d, 1H, J = 9,7 Hz), 5,03 (d, 1H, J = 9,5 Hz), 4,41 - 4,30 (m, 2H), 4,04 (m, 1H), 3,88 (s, 2H), 2,75 (t, 1H, J = 15,7 Hz), 2,39 (m, 1H), 1,46 - 1,41 (m, 15H) ppm.

C. Terc-butyl(1R)-2-[(4-kyanobenzyl)sulfonyl]-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl}-2-methylpropylkarbamát

K CHCl₃ roztoku (50 ml) obsahujícímu sloučeninu B (572 mg, 1,24 mmol, 1,0 ekv.) byla přidána kyselina 3-chlorperoxybenzoová (2,14 g, 12,4 mmol, 10 ekv.). Získaná směs byla míchána při teplotě laboratoře 18 h. Reakce byla potom ukončena 1,0N NaOH (přibližně 5 ml) a vrstvy byly odděleny. Organická vrstva byla sušena nad MgSO₄

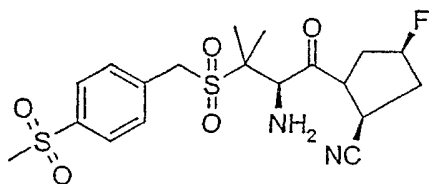
a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bílá lehká pevná látka byla použita v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 487 mg sloučeniny C (0,989 mmol, 80% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,70 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 7,57 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 5,53 (s (br), 1H), 5,51 (d, 1H, $J = 50,7$ Hz), 5,04 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 4,99 (d, 1H, $J = 9,8$ Hz), 4,43 - 4,29 (m, 3H), 4,04 (m, 1H), 2,77 (t, 1H, $J = 15,0$ Hz), 2,42 (m, 1H), 1,61 (d, 6H, $J = 5,8$ Hz), 1,44 (s, 9H) ppm.

D. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-[(4-kyanobenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K CH_2Cl_2 roztoku (54 ml) obsahujícímu kyselinu trifluoroctovou (6 ml) byla přidána sloučenina C (487 mg, 0,989 mmol, 1,0 ekv.). Získaný bleděžlutý roztok byl míchán při teplotě laboratoře 2 h a potom bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Získaná TFA sůl byla převedena na volnou bázi přidáním nasyceného roztoku NaHCO_3 a extrakcí vodné vrstvy (2 x) EtOAc. Spojené organické extrakty byly sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bělavá pěna byla čištěna bleskovou chromatografií s použitím směsi 5% MeON (s 0,1% NH_3) v CN_2Cl_2 jako mobilní fáze, za poskytnutí 285 mg (0,726 mmol, 73% výtěžek) volné báze sloučeniny D jako bílé pěny. Pro vytvoření HCl soli byla volná báze převedena do Et_2O a byl přidáván aceton, dokud všechny pevné podíly nepřešly do roztoku. Po kapkách byl přidáván 2,0M HCl v etheru, dokud se již netvořila další sraženina. Sraženina byla potom zfiltrována a několikrát promyta Et_2O . Získaná sůl byla sušena ve vysokém vakuu.

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7,72 (d, 2H, $J = 8,6$ Hz), 7,51 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 5,49 (d, 1H, $J = 50,6$ Hz), 5,02 (d, 1H, $J = 9,7$ Hz), 4,72 - 4,67 (m, 3H), 4,08 (m, 1H), 3,85 (m, 1H), 2,66 - 2,35 (m, 2H), 1,66 (s, 3H), 1,51 (s, 3H) ppm.

Příklad 18

(2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-methyl-3-{4-(methylsulfonyl)benzyl}-sulfonyl}butanoyl)-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril

A. Kyselina (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methyl-3-{4-(methylsulfonyl)benzyl}thio}butanová

K roztoku 1,0N NaOH (25 ml) obsahujícímu kyselinu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkpto-3-methylbutanovou (jak bylo uvedeno výše) (500 mg, 2,01 mmol, 1,0 ekv.) byl přidán 4-methylsulfonylbenzylchlorid (452 mg, 2,21 mmol, 1,1 ekv.). Získaná směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře 18 h. Reakční směs byla potom vlita do dělicí nálevky a promyta Et₂O (1 x) pro odstranění případného nezreagovaného chloridu. K vodné fázi byla přidávána koncentrovaná HCl, dokud pH nedosáhlo 2 až 3. Vodná vrstva byla potom extrahována Et₂O (2 x). Spojené organické extrakty byly sušeny nad MgSO₄ a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bílá lehká pevná látka byla použita v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 768 mg sloučeniny A (1,84 mmol, 92% výtěžek).

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,87 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz), 7,54 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz), 5,39 (s (br), 1H), 4,44 (s (br), 1H), 3,88 (s, 2H), 3,03 (s, 3H), 1,46 - 1,43 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-1-[[[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methyl-[[4-(methylsulfonyl)benzyl]thio]propylkarbamát

K DMF roztoku (25 ml) obsahujícímu sloučeninu A (768 mg, 1,84 mmol, 1,2 ekv.) byl přidán N,N-diisopropylethylamin (361 µl, 2,07 mmol, 1,35 ekv.), potom HATU (989 mg, 2,60 mmol, 1,7 ekv.). Získaný jantarový roztok byl míchán při teplotě laboratoře 20 min. K tomuto míchanému roztoku byl přidán roztok (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátu (438 mg, 1,53 mmol, 1,0 ekv.) a N,N-diisopropylethylaminu (293 µl, 1,68 mmol, 1,1 ekv.) v DMF (10 ml). Získaný roztok byl míchán při teplotě laboratoře 18 h a reakce byla ukončena nasyceným roztokem NaHCO₃ (přibližně 5 ml). Kalný roztok byl potom vlit do H₂O (přibližně 20 ml) a extrahován EtOAc (3 x 10 ml). Spojené organické extrakty byly promyty H₂O (2 x) a roztokem soli (1 x), sušeny nad MgSO₄ a zakoncentrovány ve vakuu. Získaný světlehnědý olej byl čištěn bleskovou chromatografií s použitím směsi 1 : 1 hexany/EtOAc jako mobilní fáze. Bylo izolováno 683 mg (1,33 mmol, 87% výtěžek) sloučeniny B jako bílé pěny.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,86 (d, 2H, *J* = 8,5 Hz), 7,58 (d, 2H, *J* = 8,3 Hz), 5,50 (d, 1H, *J* = 50,9 Hz), 5,43 (d, 1H, *J* = 9,9 Hz), 4,43 - 4,30 (m, 2H), 4,03 (m, 1H), 3,90 (s, 2H), 3,02 (s, 3H), 2,74 (t, 1H, *J* = 15,6 Hz), 2,39 (m, 1H), 1,47 - 1,41 (m, 15H) ppm.

C. Terc-butyl(1R)-1-[[[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methyl-2-[[4-(methylsulfonyl)benzyl]sulfonyl]propylkarbamát

K CHCl₃ roztoku (50 ml) obsahujícímu sloučeninu B (683 mg, 1,33 mmol, 1,0 ekv.) byla přidána kyselina 3-chlorperoxybenzoová (2,30 g, 13,3 mmol, 10 ekv.). Získaná směs byla míchána při teplotě laboratoře 18 h. Reakce byla potom ukončena 1,0N NaOH (přibližně 5 ml) a vrstvy byly odděleny. Organická vrstva byla sušena nad MgSO₄ a zakoncentrována ve vakuu. Získaná bílá lehká pevná látka byla použita v dalším kroku bez dalšího čištění. Bylo izolováno 581 mg

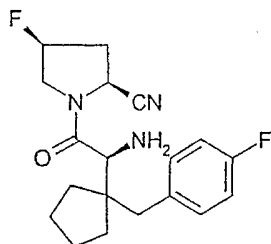
sloučeniny C (1,06 mmol, 80% výtěžek).

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,98 (d, 2H, J = 8,6 Hz), 7,66 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 5,53 (s, 1H), 5,51 (d, 1H, J = 50,5 Hz), 5,08 (d, 1H, J = 10,0 Hz), 4,99 (d, 1H, J = 9,5 Hz), 4,44 - 4,32 (m, 2H), 4,03 (m, 1H), 3,06 (s, 3H), 2,77 (t, 1H, J = 16,0 Hz), 2,41 (m, 1H), 1,63 (s, 3H), 1,60 (s, 3H), 1,43 (s, 9H) ppm.

D. (2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-methyl-3-{[4-(methylsulfonyl)benzyl]-sulfonyl}butanoyl)4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K CH_2Cl_2 roztoku (63 ml) obsahujícímu kyselinu trifluoroctovou (7 ml) byla přidána sloučenina C (581 mg, 1,06 mmol, 1,0 ekv.). Získaný bleděžlutý roztok byl míchán při teplotě laboratoře 2 h a potom bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu. Získaná TFA sůl byla převedena na volnou bázi přidáním nasyceného roztoku NaHCO_3 a extrakcí vodné vrstvy (2 x) EtOAc. Spojené organické extrakty byly sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány ve vakuu. Získaná bělavá pěna byla čištěna bleskovou chromatografií s použitím 5% MeOH (s 0,1% NH_3) v CH_2Cl_2 jako mobilní fáze, za poskytnutí 296 mg (0,664 mmol, 63% výtěžek) volné báze sloučeniny D jako bílé pěny. Pro vytvoření HCl soli byla volná báze převedena do Et_2O a byl přidáván aceton, dokud všechny pevné podíly nepřešly do roztoku. Po kapkách byl přidáván 2,0M HCl v etheru, dokud se již netvořila další sraženina. Sraženina byla potom zfiltrována a několikrát promyta Et_2O . Získaná sůl byla sušena ve vysokém vakuu.

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7,91 (d, 2H, J = 8,1 Hz), 7,63 (d, 2H, J = 82 Hz), 5,49 (d, 1H, J = 50,3 Hz), 5,02 (d, 1H, J = 9,7 Hz), 4,77 - 4,68 (m, 3H), 4,09 (m, 1H), 3,85 (m, 1H), 3,14 (s, 3H), 2,66 - 2,36 (m, 2H), 1,67 (s, 3H), 1,53 (s, 3H) ppm.

Příklad 19

(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-2-[1-(4-fluorobenzyl)cyclopentyl]ethanoyl]-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. 1-(4-Fluorobenzyl)cyklopentankarbonitril

K míchanému roztoku 4-fluorbenzylbromidu (10,0 g, 52,9 mmol) v toluenu (100 ml) byl přidán cyklopentankarbonitril (6,1 ml, 58,2 mmol). Směs byla důkladně míchána a ochlazená na 0 °C. Přídávací nálevkou byl pomalu přidán roztok 0,5M KNMDS v toluenu (159 ml, 79,35 mmol), reakční směs byla potom ohřívána na teplotu laboratoře a míchána 14 hod. Reakce byla potom ukončena 1,0M HCl přidávaný až do dosažení pH <7. Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla reextrahována EtOAc. Spojené organické vrstvy byly promyty nasyceným NaHCO₃, vodou, roztokem soli, sušeny nad MgSO₄, zfiltrány a zakoncentrovány ve vakuu. Čištění chromatografií na silikagelu (10 : 1 hexany : EtOAc) poskytlo 8,61 g (80% výtěžek) sloučeniny A jako žluté kapaliny.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,28 - 7,24 (m, 2H), 7,01 (t, J = 8,7 Hz, 2H), 2,84 (s, 2N), 2,07 - 2,01 (m, 2H), 1,89 - 1,66 (m, 6H) ppm.

B. 1-(4-Fluorobenzyl)cyklopentankarbaldehyd

Míchaný roztok sloučeniny A (8,61 g, 42,36 mmol) v toluenu (150 ml) byl ochlazen na -78 °C. Po kapkách byl stříkačkou přidán

čistý diisobutylaluminumhydrid (DIBAL, 11,3 ml, 63,54 mmol) a reakční směs byla míchána při -78 °C 2 hod. Opatrně byly přidány THF (100 ml), voda (30 ml), kyselina octová (8 ml) a octan sodný (7 g) a reakční směs byla ohřáta na teplotu laboratoře a míchána další hodinu. Po přidání Et₂O byla dvojfázová směs vakuově zfiltrována přes lože celitu, vlita do dělicí nálevky a vodná vrstva byla odtažena. Organická vrstva byla promyta nasyceným NaHCO₃, vodou, roztokem soli, sušena nad MgSO₄, zfiltrována a zakoncentrována ve vakuu. Čištění chromatografií na silikagelu (10 : 1 hexany : EtOAc) poskytlo 6,55 g (75% výtěžek) sloučeniny B jako bezbarvé kapaliny.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 9,53 (s, 1H), 7,07 (dd, *J* = 8,4, 5,5 Hz, 2H), 6,93 (t, *J* = 8,7 Hz, 2H), 2,88 (s, 2H), 1,93 - 1,87 (m, 2H), 1,67 - 1,48 (m, 6H) ppm.

C. Amino[1-(4-fluorbenzyl)cyklopentyl]acetonitril

K míchanému roztoku sloučeniny B (6,55 g, 31,76 mmol) v methanolu (30 ml) a vodě (18 ml) byl přidán NH₄OH (~30% amoniak, 4,4 ml, 33,35 mmol), KCN (2,17 g, 33,35 mmol) a NH₄Cl (1,87 g, 34,94 mmol). Kalná reakční směs byla zahřívána na 70 °C 14 hod. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs zředěna EtOAc a promyta nasyceným NaHCO₃, vodou, roztokem soli, sušena nad MgSO₄, zfiltrována a zakoncentrována ve vakuu. Blesková chromatografie na silikagelu (4 : 1 hexany : EtOAc) poskytla 5,99 g (81% výtěžek) sloučeniny C jako bezbarvého viskózního oleje.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,23 - 7,19 (m, 2H), 6,98 (t, *J* = 8,7 Hz, 2H), 3,54 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H), 2,97 (d, *J* = 13,6 Hz, 1H), 2,63 (d, *J* = 13,7 Hz, 1H), 2,08 (br s, 2H), 1,75 - 1,57 (m, 8H) ppm.

D. Hydrochlorid kyseliny aminof[1-(4-fluorbenzyl)cyklopentyl]octové

K míchanému roztoku sloučeniny C (5,99 g, 25,79 mmol) v ledové kyselině octové (20 ml) byla přidána koncentrovaná HCl (100 ml). Reakční směs byla zahřívána k mírnému varu pod zpětným chladičem (130 °C) 16 hod. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs zakoncentrována ve vakuu do sucha, za získání bílé pevné látky. Pevná látka byla promyta Et₂O na skleněné fritě s vakuovou filtrací a sušena ve vysokém vakuu za poskytnutí 6,33 g (85% výtěžek) sloučeniny D jako bílé pevné látky.

¹H NMR (CD₃OD) 400 MHz δ 7,30 (dd, *J* = 8,7, 5,4 Hz, 2H), 7,04 (t, *J* = 8,8 Hz, 2H), 3,89 (s, 1H), 2,85 - 2,76 (m, 2H), 1,79 - 1,43 (m, 8H) ppm.

E. Kyselina [(terc-butoxykarbonyl)amino][1-(4-fluorbenzyl)cyklopentyl]-octová

K míchanému roztoku sloučeniny D (6,33 g, 21,99 mmol) v 1,4-dioxanu (100 ml) byl přidán roztok 1,0M NaOH ve vodě (76 ml, 75,57 mmol), potom voda (24 ml). Reakční směs byla míchána při teplotě laboratoře několik minut, dokud se výchozí materiál úplně nerozpustil. Byl přidán pevný di-terc-butyldikarbonát (BOC₂O, 825 g, 37,78 mmol) a reakční směs byla míchána při teplotě laboratoře 14 h. Pomalu byla přidávána koncentrovaná HCl, dokud pH nedosáhlo <7, následovalo zředění EtOAc. Vodná vrstva byla oddělena a potom reextrahována dvěma díly EtOAc. Spojené organické vrstvy byly sušeny nad MgSO₄, zfiltrovány a zakoncentrovány ve vakuu za poskytnutí 7,95 g (90% výtěžek) sloučeniny E jako bílé pěny.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,20 (dd, *J* = 8,6, 5,5 Hz, 2H), 6,96 (t, *J* = 8,7 Hz, 2H), 5,00 (d, *J* = 9,1 Hz, 1H), 4,28 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 2,72 - 2,64 (m, 2H), 1,63 - 1,35 (m, 8H), 1,45 (s, 9H) ppm.

F. Terc-butyl(1S)-2-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]-1-[1-(4-fluorbenzyl)cyklopentyl]-2-oxoethylkarbamát

K míchanému roztoku sloučeniny E (1,90 g, 5,41 mmol) v DMF (54 ml) byly přidány (2S,4S)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril-4-methylbenzensulfonát (1,55 g, 5,41 mmol), HATU (2,06 g, 5,41 mmol) a diisopropylethylamin (2,83 ml, 16,23 mmol). Reakční směs byla míchána při teplotě laboratoře 16 hod. Po přidání vody (50 ml) byla reakční směs extrahována pěti podíly EtOAc. Spojené extrakty byly promyty vodou, nasyceným NH_4Cl , nasyceným NaHCO_3 , roztokem soli, sušeny nad MgSO_4 , zfiltrvány a zakoncentrovány ve vakuu. Dva diastereomery byly odděleny bleskovou chromatografií na silikagelu (2 : 1 hexany : EtOAc), za poskytnutí 586 mg (25% výtěžek požadovaného diastereomeru) sloučeniny F jako bezbarvého oleje. Sloučenina F byla polárnější (nižší R_f) z uvedených dvou diastereomerů.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,20 - 7,16 (m, 2H), 7,00 (t, J = 8,7, 2H), 5,22 (br d, J = 51,1 Hz, 1H), 5,15 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 4,93 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 4,26 (d, J = 9,7 Hz, 1H), 3,77 - 3,63 (m, 1H), 3,28 - 3,19 (m, 1H), 2,78 - 2,52 (m, 4H), 2,32 - 2,11 (m, 2H), 1,73 - 1,52 (m, 6H), 1,42 (s, 9H) ppm.

G. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-2-[1-(4-fluorbenzyl)cyklopentyl]ethanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K míchanému roztoku sloučeniny F (586 mg, 1,31 mmol) v CH_2Cl_2 (13 ml) byla přidána TFA (1,00 ml, 13,1 mmol). Reakční směs byla míchána při teplotě laboratoře 14 hod. Po zakoncentrování ve vakuu byla reakční směs znovu rozpuštěna v EtOAc a promyta nasyceným NaHCO_3 , sušena nad MgSO_4 , zfiltrována a zakoncentrována ve vakuu. Čištění bleskovou chromatografií na silikagelu (5% MeOH (s 2% NH_3) v CH_2Cl_2) poskytlo 160 mg (35% výtěžek) sloučeniny G jako bílé pevné látky.

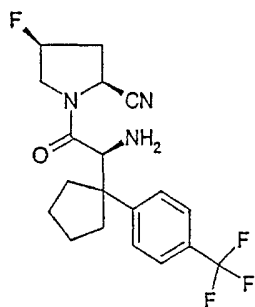
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,21 - 7,17 (m, 2H), 6,99 (t, J = 8,6 Hz, 2H), 5,24 (br d, J = 51,1 Hz, 1H), 4,93 (d, J = 9,3 Hz, 1H), 3,53 - 3,40 (m, 1H), 3,34 (s, 1H), 3,29 - 3,20 (m, 1H), 2,92 (d, J = 13,6 Hz, 1H), 2,66 (d, J = 13,7 Hz, 1H), 2,63 - 2,49 (m, 2H), 2,31 - 1,32 (m, 8H) ppm.

H. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-2-[1-(4-fluorbenzyl)cyklopentyl]ethanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K míchanému roztoku sloučeniny G (160 mg, 0,460 mmol) v Et_2O (5 ml) byl přidán roztok 2,0M HCl v Et_2O (1,0 ml). Reakční směs byla míchána při teplotě laboratoře po dobu 5 min, během kterých se vysrážela bílá pevná látka. Pevná látka byla oddělena vakuovou filtrací na skleněné fritě a sušena přes noc ve vysokém vakuu za získání 139 mg (79% výtěžek) sloučeniny H jako bílé pevné látky.

^1H NMR (CD_3OD) 400 MHz δ 7,31 - 7,27 (m, 2H), 7,13 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 5,30 (br d, J = 51,1, 1 H), 5,01 (d, J = 9,5 Hz, 1H), 4,04 (s, 1H), 3,56 - 3,43 (m, 1H), 3,20 - 3,11 (m, 1H), 2,90 (d, J = 13,9 Hz, 1H), 2,73 (d, J = 14,0 Hz, 1H), 2,60 - 2,30 (m, 2H), 2,14 - 1,37 (m, 8H) ppm.

Příklad 20



(2S,4S)-1-((2S)-2-Amino-2-{1-[4-(trifluormethyl)fenyl]cyklopentyl}-ethanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. 1-[4-(Trifluormethyl)fenyl]cyklopentankarbonitril

K míchanému roztoku 4-fluorbenztrifluoridu (5,0 g, 30,47 mmol) v toluenu (40 ml) byl přidán cyklopentankarbonitril (10,5 ml, 100,55 mmol), potom roztok 0,5M KHMDS v toluenu (92 ml, 45,71 mmol). Reakční směs byla zahřívána na 70 °C a míchána 14 hod. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakce ukončena 1M HCl, přidávanou až do dosažení pH <7. Vrstvy byly odděleny a organická vrstva byla promyta nasyceným NaHCO₃, vodou, roztokem soli, sušena nad MgSO₄, zfiltrována a zakoncentrována ve vakuu. Čištění chromatografií na silikagelu (6 : 1 hexany : EtOAc) poskytlo 7,53 g směs sloučeniny A a zbylý cyklopentankarbonitril. Protože tyto dvě sloučeniny bylo obtížné dělit chromatografií, směs byla převedena přímo do dalšího kroku.

B. 1-[4-(Trifluormethyl)fenyl]cyklopentankarbaldehyd

Míchaný roztok sloučeniny A (7,53 g, jak bylo uvedeno výše) v toluenu (100 ml) byl ochlazen na -78 °C. Pomalu byl stříkačkou přidáván roztok 1,5M diisobutylaluminumhydridu v toluenu (DIBAL, 32,0 ml, 47,21 mmol) a reakční směs byla míchána při -78 °C 2 hod. Opatrně byl přidán roztok THF (100 ml), vody (20 ml), kyseliny octové (6 ml) a octanu sodného (6,6 g) a reakční směs byla ohřáta na teplotu laboratore a míchána další hodinu. Po přidání Et₂O byla dvojfázová směs vakuově zfiltrována přes lože celitu, vlita do dělicí nálevky a vodná vrstva byla odtazena. Organická vrstva byla promyta nasyceným NaHCO₃, vodou, roztokem soli, sušena nad MgSO₄, zfiltrována a zakoncentrována ve vakuu. Čištění chromatografií na silikagelu (10 : 1 hexany : EtOAc) poskytlo 3,91 g (53% výtěžek

počítaný na dva poslední kroky) sloučeniny B jako bezbarvé kapaliny.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 9,41 (s, 1H), 7,61 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 7,38 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 2,58 - 2,52 (m, 2H), 1,93 - 1,65 (m, 6H) ppm.

C. Amino{1-[4-(trifluormethyl)fenyl]cyklopentyl}acetonitril

K míchanému roztoku sloučeniny B (3,91 g, 16,14 mmol) v methanolu (20 ml) a vodě (12 ml) byl přidán NH_4OH (~30% obsah amoniaku, 2,20 ml, 16,95 mmol), KCN (1,11 g, 16,95 mmol) a NH_4Cl (950 mg, 17,76 mmol). Kalná reakční směs byla zahřívána na 70 °C po dobu 6 hod. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs zředěna EtOAc a promyta nasyceným NaHCO_3 , vodou, roztokem soli, sušena nad MgSO_4 , zfiltrována a zakoncentrována ve vakuu. Blesková chromatografie na silikagelu (2 : 1 hexany : EtOAc) poskytla 2,16 g (50% výtěžek) sloučeniny C jako bílé pevné látky.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,63 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,54 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 3,74 (s, 1H), 2,43 - 2,36 (m, 1H), 2,32 - 2,25 (m, 1H), 2,15 - 2,08 (m, 1H), 2,01 - 1,93 (m, 1H), 1,85 - 1,72 (m, 4H), 1,54 (br s, 2H) ppm.

D. Hydrochlorid kyseliny amino{1-[4-(trifluormethyl)fenyl]cyklopentyl}-octové

K míchanému roztoku sloučeniny C (2,16 g, 8,05 mmol) v ledové kyselině octové (10 ml) byl přidán koncentrovaný HCl (50 ml). Reakční směs byla zahřívána k mírnému varu pod zpětným chladičem (130 °C) 16 hod. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs zakoncentrována ve vakuu do sucha, za poskytnutí bílé pevné látky. Pevná látka byla sušena ve vysokém vakuu za získání 2,61 g (100% výtěžek) sloučeniny D jako bílé pevné látky.

^1H NMR ($\text{d}_4\text{-MeOH}$) 400 MHz δ 7,69 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,60 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 4,20 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 2,42 - 2,34 (m, 2H), 2,27 - 2,19 (m, 1H), 2,14 - 2,07 (m, 1H), 1,86 - 1,79 (m, 2H), 1,61 - 1,51 (m, 2H) ppm.

E. Kyselina [(terc-butoxykarbonyl)amino]{1-[4-(trifluormethyl)fenyl]-cyklopentyl}octová

K míchanému roztoku sloučeniny D (2,61 g, 8,05 mmol) v 1,4-dioxanu (20 ml) a vodě (20 ml) byl přidán pevný NaOH (1,08 g, 27,06 mmol). Po několika minutách míchání při teplotě laboratoře byl přidán pevný di-terc-butyldikarbonát (BOC_2O , 3,94 g, 18,04 mmol) a reakční směs byla míchána při teplotě laboratoře 14 h. Potom byla pomalu přidávána koncentrovaná HCl, dokud pH nedosáhlo hodnoty <7 , následovalo zředění EtOAc. Vodná vrstva byla oddělena, nasycena NaCl, a potom reextrahována dvěma díly EtOAc. Spojené organické vrstvy byly sušeny nad MgSO_4 , zfiltrovány a zakoncentrovány ve vakuu, za získání 3,01 g (86% výtěžek) sloučeniny E jako bezbarvého viskózního oleje.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,55 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 7,40 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H), 4,85 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 4,55 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 2,43 - 1,59 (m, 8H), 1,42 (s, 9H) ppm.

F. Terc-butyl(1S)-2-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]-2-oxo-1-{1-[4-(trifluormethyl)fenyl]cyklopentyl}ethylkarbamát

K míchanému roztoku sloučeniny E (1,01 g, 2,61 mmol) v DMF (26 ml) byly přidány (2S,4S)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril-4-methylbenzensulfonát (747 mg, 2,61 mmol), HATU (993 mg, 2,61 mmol) a diisopropylethylamin (1,40 ml, 7,83 mmol). Reakční směs byla míchána při teplotě laboratoře 16 hod. Po přidání vody (20 ml) byla reakční směs extrahována pěti díly EtOAc. Spojené extrakty byly

promyty vodou, 1,0M NaHSO₄, nasyceným NaHCO₃, roztokem soli, sušeny nad MgSO₄, zfiltrovány a zakoncentrovány ve vakuu. Čištění chromatografií na silikagelu (1 : 1 hexany : EtOAc) poskytlo 442 mg (35% výtěžek) produktu jako směsi diastereomerů. Další chromatografie na silikagelu (2 : 1 hexany : EtOAc) oddělila diastereomery a poskytla 145 mg sloučeniny F jako bílé pěny. Sloučenina F byla polárnější (nižší R_f) z obou diastereomerů.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,63 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,56 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 5,27 (d, *J* = 9,7 Hz, 1H), 5,08 (br d, *J* = 50,9 Hz, 1H), 4,84 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 4,49 (d, *J* = 9,9 Hz, 1H), 3,63 - 3,50 (m, 1H), 2,77 (dd, *J* = 23,6, 12,0 Hz, 1H), 2,48 (t, *J* = 15,5 Hz, 1H), 2,25 - 2,20 (m, 2H), 2,10 - 2,03 (m, 2H), 1,77 - 1,71 (m, 2H), 1,52 - 1,48 (m, 2H), 1,41 (s, 9H) ppm.

G. (2S,4S)-1-((2S)-2-Amino-2-{1-[4-(trifluormethyl)fenyl]cyklopentyl}-ethanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K míchanému roztoku sloučeniny F (145 mg, 0,30 mmol) v CH₂Cl₂ (3 ml) byla přidána TFA (0,116 ml, 1,50 mmol). Reakční směs byla míchána při teplotě laboratoře 14 hod. Po zakoncentrování ve vakuu byla reakční směs znovu rozpuštěna v EtOAc a promyta nasyceným NaHCO₃, sušena nad MgSO₄, zfiltrována a zakoncentrována ve vakuu. Čištění bleskovou chromatografií na silikagelu (5% MeOH s 2% NH₃ v CH₂Cl₂) poskytlo 62 mg (54% výtěžek) sloučeniny G jako bílou pevnou látku.

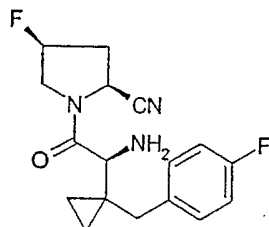
¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,62 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,54 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 5,12 (br d, *J* = 51,1 Hz, 1H), 4,86 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 3,57 (s, 1H), 3,55 - 3,42 (m, 1H), 2,97 - 2,88 (m, 1H), 2,50 (t, *J* = 15,2 Hz, 1H), 2,24 - 2,10 (m, 5H), 1,99 (br s, 2H), 1,76 - 1,71 (m, 2H), 1,54 - 1,41 (m, 2H) ppm.

H. (2S,4S)-1-((2S)-2-Amino-2-{1-[4-(trifluormethyl)fenyl]cyklopentyl}-ethanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

Diethylether (3 ml) byl přidán do baňky obsahující sloučeninu G (51 mg, 0,133 mmol). Bylo přidáno několik kapek acetonu, a roztok byl ponechán přejít do homogenního stavu. Byl přidán roztok 2,0M HCl v Et₂O (1,0 ml) a reakční směs byla míchána při teplotě laboratoře 5 min. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a získaná pevná látka byla sušena přes noc ve vysokém vakuu, za poskytnutí 55 mg (98% výtěžek) sloučeniny H, jako bílé pevné látky.

¹H NMR (D₂O) 400 MHz δ 7,62 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,58 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 5,13 (br d, *J* = 51,1 Hz, 1H), 4,86 (d, *J* = 9,5 Hz, 1H), 4,37 (s, 1H), 3,54 - 3,40 (m, 1H), 2,95 - 2,86 (m, 1H), 2,44 - 2,18 (m, 4H), 1,92 - 1,84 (m, 2H), 1,64 - 1,58 (m, 2H), 1,33 - 1,25 (m, 2H) ppm.

Příklad 21



(2S,4S)-1-((2S)-2-Amino-2-[1-(4-fluorbenzyl)cyklopropyl]ethanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. 1-(4-Fluorbenzyl)cyklopropankarbonitril

Míchaný roztok cyklopropankarbonitrilu (4,3 ml, 58,2 mmol) v toluenu (100 ml) byl ochlazen na 0 °C. Přídávací nálevkou byl pomalu přidáván 0,5M KHMDS v toluenu (159 ml, 79,35 mmol) a reakční směs byla míchána při 0 °C 30 min. Potom byl po kapkách

přidán roztok 4-fluorbenzylbromidu (10,0 g, 52,9 mmol) v toluenu (20 ml) při 0 °C. Reakční směs byla ohřáta na teplotu laboratoře a byla míchána 3 hod. Reakce byla potom ukončena přidáváním 1,0M HCl až do dosažení pH <7. Vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla reextrahována EtOAc. Spojené organické vrstvy byly promyty nasyceným NaHCO₃, vodou, roztokem soli, sušeny nad MgSO₄, zfiltrvány a zakoncentrovány ve vakuu. Čištění chromatografií na silikagelu (5% EtOAc v hexanech) poskytlo 7,76 g (84% výtěžek) sloučeniny A jako žluté kapaliny.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,25 - 7,22 (m, 2H), 7,03 (t, *J* = 8,7 Hz, 2H), 2,77 (s, 2H), 1,28 (dd, *J* = 7,1, 5,1 Hz, 2H), 0,94 (dd, *J* = 7,1, 5,1 Hz, 2H) ppm.

B. 1-(4-Fluorbenzyl)cyklopropankarbaldehyd

Míchaný roztok sloučeniny A (7,76 g, 44,29 mmol) v toluenu (150 ml) byl ochlazen na -78 °C. Stříkačkou byl po kapkách přidán čistý diisobutylaluminumhydrid (DIBAL, 11,8 ml, 66,43 mmol) a reakční směs byla míchána při -78 °C 2 hod. Opatrně byl přidán roztok THF (100 ml), vody (40 ml), kyseliny octové (8 ml) a octanu sodného (7,5 g) a reakční směs byla ohřáta na laboratorní teplotu a míchána další hodinu. Po přidání Et₂O byla dvojfázová směs vakuově zfiltrována přes lože celitu, vlita do dělicí nálevky a vodná vrstva byla odtahena. Organická vrstva byla promyta nasyceným NaHCO₃, vodou, roztokem soli, sušena nad MgSO₄, zfiltrována a zakoncentrována ve vakuu. Čištění chromatografií na silikagelu (5% EtOAc v hexanech) poskytlo 7,20 g (91% výtěžek) sloučeniny B jako bezbarvé kapaliny.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 8,71 (s, 1H), 7,16 - 7,13 (m, 2H), 6,94 (t, *J* = 8,8 Hz, 2H), 2,96 (s, 2H), 1,20 - 1,17 (m, 2H), 1,00 - 0,97 (m, 2H) ppm.

C. Amino[1-(4-fluorbenzyl)cyklopropyl]acetonitril

K míchanému roztoku sloučeniny B (7,20 g, 40,40 mmol) v methanolu (40 ml) a vodě (25 ml) byly přidány NH_4OH (~30% obsah amoniaku, 5,51 ml, 42,42 mmol), KCN (2,76 g, 42,42 mmol) a NH_4Cl (2,38 g, 44,44 mmol). Kalná reakční směs byla zahřívána na 70 °C 14 hod. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs zředěna EtOAc a promyta nasyceným NaHCO_3 , vodou, roztokem soli, sušena nad MgSO_4 , zfiltrována a zakoncentrována ve vakuu. Blesková chromatografie na silikagelu (20% EtOAc v hexanech) poskytla 2,21 g (27% výtěžek) sloučeniny C jako bezbarvého viskózního oleje.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,22 - 7,19 (m, 2H), 6,98 (t, J = 8,6 Hz, 2H), 3,62 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 3,12 (d, J = 14,3 Hz, 1H), 2,56 (d, J = 14,3 Hz, 1H), 1,93 (br s, 1H), 1,82 (br s, 1H), 0,78 - 0,76 (m, 2H), 0,67 - 0,64 (m, 1H), 0,54 - 0,51 (m, 1H) ppm.

D. Hydrochlorid kyseliny amino[1-(4-fluorbenzyl)cyklopropyl]octové

K míchanému roztoku sloučeniny C (221 g, 10,82 mmol) v ledové kyselině octové (10 ml) byla přidána koncentrovaná HCl (50 ml). Reakční směs byla zahřívána k mírnému varu pod zpětným chladičem (130 °C) 16 hod. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs zakoncentrována ve vakuu do sucha za poskytnutí bílé pevné látky. Pevná látka byla promyta Et_2O na skledněné fritě vakuovou filtrací a sušena ve vysokém vakuu za poskytnutí 2,81 g (100% výtěžek) sloučeniny D jako bílé pevné látky.

^1H NMR ($\text{d}_4\text{-MeOH}$) 400 MHz δ 7,18 (dd, J = 8,8, 5,5 Hz, 2H), 7,01 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 3,54 (s, 1H), 2,84 (d, J = 4,9 Hz, 2H), 0,89 - 0,84 (m, 1H), 0,70 - 0,59 (m, 2H), 0,51 - 0,47 (m, 1H) ppm.

E. Kyselina [(terc-butoxykarbonyl)amino][1-(4-fluorbenzyl)cyklopropyl]-
-octová

K míchanému roztoku sloučeniny D (2,81 g, 10,85 mmol) v 1,4-dioxanu (50 ml) byl přidán roztok 1,0M NaOH ve vodě (33 ml, 33,03 mmol), potom voda (17 ml). Reakční směs byla míchána při teplotě laboratoře po dobu několika minut, dokud nebyl všečen výchozí materiál úplně rozpuštěn. Byl přidán di-terc-butyldikarbonát (BOC_2O , 3,50 g, 16,52 mmol) a reakční směs byla míchána při teplotě laboratoře po dobu 14 hod. Potom byla pomalu přidávána koncentrovaná HCl, dokud nebylo dosaženo $\text{pH} < 7$ a následovalo zředění EtOAc. Vodná vrstva byla oddělena a potom reextrahována dvěma podíly EtOAc. Spojené organické vrstvy byly sušeny nad MgSO_4 , zfiltrvány a zakoncentrovány ve vakuu za poskytnutí 4,06 g (112% výtěžek) sloučeniny E jako viskózního světležlutého oleje.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,19 - 7,15 (m, 2H), 6,95 (t, $J = 8,7$ Hz, 2H), 4,98 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 3,98 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 2,85 (d, $J = 14,5$ Hz, 1H), 2,60 (d, $J = 14,2$ Hz, 1H), 1,45 (s, 9H), 0,79 - 0,72 (m, 2H), 0,51 - 0,47 (m, 2H) ppm.

F. Terc-butyl(1S)-2-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]-1-[1-(4-fluorbenzyl)cyklopropyl]-2-oxoethylkarbamát

K míchanému roztoku sloučeniny E (4,06 g, 12,56 mmol) v DMF (125 ml) byly přidány (2S,4S)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril-4-methylbenzensulfonát (3,60 g, 12,56 mmol), HATU (4,78 g, 12,56 mmol) a diisopropylethylamin (6,60 ml, 37,68 mmol). Reakční směs byla míchána při teplotě laboratoře 16 hod. Po přidání vody (125 ml) byla reakční směs extrahována čtyřmi podíly EtOAc. Spojené extrakty byly promyty nasyceným NH_4Cl , nasyceným NaHCO_3 , vodou, roztokem soli, sušeny nad MgSO_4 , zfiltrvány a zakoncentrovány ve vakuu. Čištění bleskovou chromatografií na koloně silikagelu (1 : 1 hexany : EtOAc) poskytlo 1,29 g (25% výtěžek) produktu ve formě směsi

diastereomerů. Další blesková chromatografie na silikagelu (2 : 1 hexany : EtOAc) oddělila diastereomery a poskytla 853 mg sloučeniny F jako bílé pěny. Sloučenina F byla polárnější (nižší R_f) z obou diastereomerů.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,29 (dd, $J = 8,6, 5,5$ Hz, 2H), 7,03 (t, $J = 8,7$ Hz, 2H), 5,15 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 5,14 (br d, $J = 51,1$ Hz, 1H), 4,76 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 4,42 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 3,29 - 3,16 (m, 1H), 3,15 - 3,11 (m, 1H), 3,07 - 2,98 (m, 1H), 2,52 (t, $J = 15,2$ Hz, 1H), 2,24 - 2,17 (m, 1H), 2,14 - 2,07 (m, 1H), 1,44 (s, 9H), 0,86 - 0,76 (m, 2H), 0,56 - 0,45 (m, 2H) ppm.

G. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-2-[1-(4-fluorbenzyl)cyklopropyl]ethanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril

K míchanému roztoku sloučeniny F (853 mg, 2,03 mmol) v CN_2Cl_2 (20 ml) byla přidána TFA (1,56 ml, 20,4 mmol). Reakční směs byla míchána při teplotě laboratoře 18 hod. Po zakoncentrování ve vakuu byla reakční směs znovu rozpuštěna v EtOAc a promyta nasyceným NaHCO_3 , sušena nad MgSO_4 , zfiltrována a zakoncentrována ve vakuu. Čištění bleskovou chromatografií na silikagelu (5% MeOH s 2% NH_3 v CH_2Cl_2) poskytlo 401 mg (62% výtěžek) sloučeniny G jako bílé pevné látky.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,27 - 7,24 (m, 2H), 7,00 (t, $J = 8,6$ Hz, 2H), 5,17 (br d, $J = 51,3$ Hz, 1H), 4,76 (d, $J = 9,3$ Hz, 1H), 3,48 (s, 1H), 3,32 - 3,01 (m, 3H), 2,54 (t, $J = 15,0$ Hz, 1H), 2,22 - 2,05 (m, 2H), 1,74 (br s, 2H), 0,79 - 0,71 (m, 2H), 0,53 - 0,39 (m, 2H) ppm.

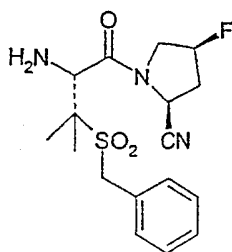
H. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-2-[1-(4-fluorbenzyl)cyklopropyl]ethanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

Diethylether (8 ml) byl přidán do baňky obsahující sloučeninu G (401 mg, 126 mmol). Byl přidán přibližně 1 ml acetonu pro převedení

roztoku do homogenního stavu. Byl přidán roztok 2,0M HCl v Et₂O (6,0 ml) a reakční směs byla míchána 5 min. Odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytlo bílou pevnou látku, která byla smísena s částí roztoku HCl/Et₂O. Pevná látka byla oddělena vakuovou filtrací na skleněné fritě, promyta několika díly Et₂O a sušena přes noc ve vysokém vakuu, za získání 376 mg (84% výtěžek) sloučeniny H jako bílé pevné látky.

¹H NMR (D₂O) 400 MHz δ 7,29 - 7,23 (m, 2H), 7,07 - 7,01 (m, 2H), 5,22 (br d, J = 50,6 Hz, 1H), 4,82 (d, J = 9,1 Hz, 1H), 4,10 (s, 1H), 3,25 - 2,92 (m, 3H), 2,28 (t, J = 16,0 Hz, 1H), 2,32 - 2,21 (m, 2H), 1,16 - 0,43 (m, 4H) ppm.

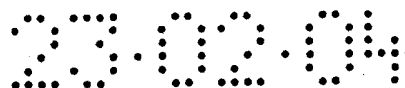
Příklad 22



(2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-(benzylsulfonyl)-3-methylbutanoyl]-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2R)-3-(benzylthio)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanová

K 1,0N roztoku KOH (50 ml) obsahujícímu kyselinu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkapt-3-methylbutanovou (1 g, 0,00401 mol) byl přidán benzylbromid (755 mg, 0,00441 mol) při teplotě laboratoře. Po 17,0 h byl reakční směs zředěna vodou a promyta diethyletherem. Organické podíly byly odlity a vodná vrstva byla ochlazena na 0 až 5 °C. Vodný roztok byl okyselen (pH 3,5)



s použitím koncentrované HCl a produkt byl extrahován do EtOAc. Organické podíly byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za získání celkově 1,1 g (81 %) sloučeniny A jako čisté olejovité pevné látky.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,32 - 7,20 (m, 5H), 5,44 (d (br), 1H, $J = 7,2$ Hz), 4,38 (d (br), 1H, $J = 8,0$ Hz), 3,80 (m, 2H), 1,45 - 1,43 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-2-(benzylthio)-1-[[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methylpropylkarbamátu

K DMF roztoku (20 ml) obsahujícímu sloučeninu A (1,1 g, 0,0032 mol) a N,N-diisopropylethylamin (1,4 g, 0,0107 mol) byl přidán HATU (1,85 g, 0,0049 mol) při teplotě laboratoře. Po 30 min byla reakční směs smíchána s (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátem (1,0 g, 0,0035 mol). Po míchání přes noc byla reakce ukončena NaHCO_3 a organické podíly extrahovány EtOAc (2 x). Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl a sušeny nad MgSO_4 . Odstranění rozpouštědla ve vakuu a čištění chromatografií na koloně (1/1 hexany/EtOAc) poskytlo 445 mg (32 %) sloučeniny B.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,36 - 7,18 (m, 5H), 5,37 (d (br), 1H), 5,45 (d (br), 1H, $J = 51,6$ Hz), 5,00 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 4,35 (d, 1H, $J = 8,8$), 4,27 - 3,92 (m, 4H), 2,67 - 2,59 (m, 1H), 2,40 - 2,23 (m, 1H), 1,46 - 1,36 (m, 15H) ppm.

C. Terc-butyl(1R)-2-(benzylsulfonyl)-1-[[(2S,4S)-2-kyano-4-fluor-pyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methylpropylkarbamát

K CH_2Cl_2 roztoku (75 ml) obsahujícímu sloučeninu B (445 mg, 0,00102 mol) byla přidána kyselina 3-chlorperoxybenzoová (57 až 86%) (1,8 g 0,0102 mol). Reakční směs byla ponechána míchat při

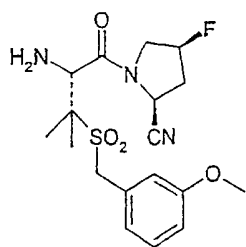
teplotě laboratoře 16,0 h, potom neutralizována 2,0N KOH. Organické podíly byly odděleny, sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí 421 mg surové sloučeniny C (88 %). Získaná světlehnědá pevná látka byla použita bez dalšího čištění.

D. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-(benzylsulfonyl)-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (45 ml) obsahujícímu sloučeninu C (421 mg, 0,00102 mol) byla přidána TFA (5 ml). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla neutralizována nasyceným roztokem NaHCO_3 . Organické podíly byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Získaná pevná látka byla čištěna chromatografií na silikagelu (99% CH_2Cl_2 /1% MeOH s 2,0M NH_3). Čistá světlehnědá pevná látka byla rozpuštěna ve směsi aceton/ether (1/1) a vysrážena s použitím 2,0N HCl v etheru. Získaná pevná látka byla zfiltrována ve vakuu a promyta etherem. Po sušení ve vysokém vakuu reakce poskytla celkově 96 mg sloučeniny D.

^1H NMR (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 7,49 - 7,35 (m, 5H), 5,47 (d (br), 1H, J = 50,8 Hz), 5,10 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 4,92 - 4,59 (m, 3H), 4,15 - 3,91 (m, 2H), 2,71 - 2,43 (m, 2H), 1,77 (s, 3H), 1,60 (s, 3H) ppm.

Příklad 23



(2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-[(3-methoxybenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[(3-methoxybenzyl)-thio]-3-methylbutanová

K 1,0N roztoku KOH (50 ml) obsahujícímu kyselinu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkapt-3-methylbutanovou (1 g, 0,00401 mol) byl přidán 3-methoxybenzylchlorid (691 mg, 0,00441 mol) při laboratorní teplotě. Po 17,0 h byla reakční směs zředěna vodou (50 ml) a promyta diethyletherem. Organické podíly byly odlity a vodná vrstva byla ochlazená na 0 až 5 °C. Vodná vrstva byla okyselená (pH 3,5) s použitím koncentrované HCl a extrahována do EtOAc. Organické podíly byly sušeny nad MgSO₄ a zakonzentrovány do sucha za získání celkově 1,35 g (91 %) sloučeniny A.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,19 (dd, 1H, *J* = 7,8 Hz), 6,90 (d, 1H, *J* = 7,2 Hz), 6,86 (s, 1H), 6,76 (dd, 1H, *J* = 8,4 Hz), 5,43 (d (br), 1H, *J* = 6,4 Hz), 4,39 (d (br), 1H, *J* = 6,8 Hz), 3,82 - 3,74 (m, 5H), 1,45 - 1,35 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-[(3-methoxybenzyl)thio]-2-methylpropylkarbamát

K DMF roztoku (25 ml) obsahujícímu sloučeninu A (1,3 g, 0,0035 mol) a N,N-diisopropylethylamin (1,36 g, 0,0106 mol) byl přidán HATU (2,0 g, 0,0053 mol) při teplotě laboratoře. Po 30 min byla reakční směs smísena s (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzen-sulfonátem (1,1 g, 0,0038 mol). Po míchání přes noc byla reakce ukončena NaHCO₃ a organické podíly extrahovány EtOAc (2 x). Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl a sušeny nad MgSO₄. Odstranění rozpouštědla ve vakuu a čištění chromatografií na koloně (1/1 hexany/EtOAc) poskytly 617 mg (38 %)

sloučeniny B.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,18 (dd, 1H, $J = 7,8$ Hz), 6,95 (s, 1H), 6,92 (d (br), 1H, $J = 2,8$), 6,74 (dd, 1H, $J = 8,2$ Hz), 5,41 (d (br), 1H, $J = 8,8$ Hz), 5,39 (d (br), 1H, $J = 5,12$), 5,00 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,35 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 4,28 - 3,78 (m, 7H), 2,71 - 2,52 (m, 1H), 2,46 - 2,27 (m, 1H), 1,62 - 1,39 (m, 15H) ppm.

C. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-[(3-methoxybenzyl)sulfonyl]-2-methylpropylkarbamát

K CH_2Cl_2 roztoku (100 ml) obsahujícímu sloučeninu B (617 mg, 0,0013 mol) byla přidána kyselina 3-chlorperoxybenzoová (57 až 86%) (2,3 g, 0,013 mol). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla neutralizována 2,0N KOH. Organické podíly byly sušeny nad MgSO_4 a koncentrovány do sucha za poskytnutí 647 mg surové pevné látky (98 %). Získaná bělavá pevná látka byla použita bez dalšího čištění.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,30 - 7,25 (m, 1H), 7,01 - 6,98 (m, 2H), 6,92 - 6,88 (m, 1H), 5,49 (d (br), 1H, $J = 8,4$ Hz), 5,39 (d (br), 1H, $J = 50,8$ Mz), 5,03 (d (br), 1H, $J = 9,2$), 4,96 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 4,32 - 3,80 (m, 4H), 3,79 (s, 3H), 2,71 - 2,54 (m, 1H), 2,46 - 2,24 (m, 1H), 1,59 - 1,39 (m, 15H) ppm.

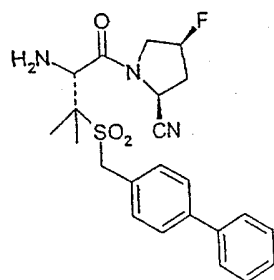
D. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-[(3-methoxybenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (45 ml) obsahujícímu sloučeninu C (647 mg, 0,0013 mol) byla přidána TFA (5 ml). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla neutralizována nasyceným roztokem NaHCO_3 . Organické podíly byly odděleny, sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Získaná pevná látka byla čištěna

s použitím chromatografie na silikagelu (99% CH₂Cl₂/1% MeOH s 2,0M NH₃). Čistá pevná látka byla rozpuštěna do směsi aceton/ether (1/1) a vysrážena s použitím 2,0N HCl v etheru. Získaná pevná látka byla zfiltrována ve vakuu a promyta etherem. Po usušení ve vysokém vakuu reakce poskytla celkově 221 mg sloučeniny D.

¹H NMR (d₄-MeOH) 400 MHz δ 7,31 (dd, 1H, *J* = 8,0 Hz), 7,18 - 7,06 (m, 2H), 6,98 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz), 5,49 (d (br), 1H, *J* = 50,8 Hz), 5,10 (d, 1H, *J* = 9,2 Hz), 4,72 - 4,58 (m, 3H), 4,15 - 3,88 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 2,69 - 2,44 (m, 2H), 1,75 (s, 3H), 1,59 (s, 3H) ppm.

Příklad 24



(2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-[(1,1'-biphenyl-4-ylmethyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2R)-3-[(1,1'-biphenyl-4-ylmethyl)thio]-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanová

K roztoku 1,0N KOH (50 ml) obsahujícímu 1,4-dioxan (10 ml), a kyselinu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkapt-3-methylbutanovou (1 g, 0,00401 mol) byl přidán 4-fenylbenzylchlorid (894 mg, 0,00441 mol) při laboratorní teplotě. Po 17,0 h byla reakční směs zředěna vodou a promyta diethyletherem. Organické podíly byly odlity a vodná vrstva byla ochlazená na 0 až 5 °C. Vodný roztok byl okyselen

(pH 3,5) použitím koncentrované HCl a produkt byl extrahován do etheru. Organické podíly byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za získání celkově 1,4 g (82 %) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,59 - 7,31 (m, 9H), 5,49 (m, 1H), 4,32 (d (br), 1H, J = 9,6 Hz), 3,88 - 3,71 (m, 2H), 1,57 - 1,40 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-2-[(1,1'-bifenyl-4-ylmethyl)thio]-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl}-2-methylpropylkarbamát

K DMF roztoku (25 ml) obsahujícímu sloučeninu A (1,4 g, 0,0034 mol) a N,N-diisopropylethylamin (1,3 g, 0,0101 mol) byl přidán HATU (1,9 g, 0,0051 mol) při teplotě laboratoře. Po 30 min byla reakční směs smísena s (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzen-sulfonátem (1,1 g, 0,0037 mol). Po míchání přes noc byla reakce ukončena NaHCO_3 a organické podíly extrahovány EtOAc (2 x). Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl a sušeny nad MgSO_4 . Odstranění rozpouštědla ve vakuu a čištění chromatografií na koloně (1/1 hexany/EtOAc) poskytlo 828 mg (48% výtěžek) mimořádně čistého produktu.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,57 - 7,30 (m, 9H), 5,47 - 5,33 (m, 2H), 5,03 (d (br), 1H, J = 9,6), 4,39 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 4,31 - 3,97 (m, 2H), 3,89 (s, 2H), 2,68 (dd, 1H, J = 15,6 Hz), 2,44 - 2,28 (m, 1H), 1,58 - 1,41 (m, 15H) ppm.

C. Terc-butyl(1R)-2-[(1,1'-bifenyl-4-ylmethyl)sulfonyl]-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl}-2-methylpropylkarbamát

K roztoku CH_2Cl_2 (100 ml) obsahujícímu sloučeninu B (828 mg, 0,0016 mol) byla přidána 3-chlorperoxybenzoová kyselina (57 až 86%) (2,8 g, 0,0162 mol). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě

laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla neutralizována 2,0N KOH. Organické podíly byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí 867 mg sloučeniny C (99% výtěžek). Získaná bílá pevná látka byla použita bez dalšího čištění.

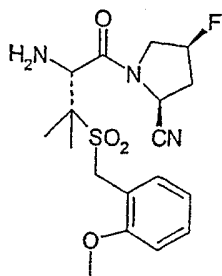
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,63 - 7,33 (m, 9H), 5,53 (d (br), 1H, J = 8,4 Hz), 5,42 (d (br), 1H, J = 50,8 Hz), 5,07 (d (br), 1H, J = 9,2), 4,99 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 4,39 - 4,00 (m, 4H), 2,70 (dd, 1H, J = 15,2 Hz), 2,47 - 2,34 (m, 1H), 1,62 - 1,40 (m, 15H) ppm.

D. (2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-((1,1'-bifenyl-4-ylmethyl)sulfonyl)-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (45 ml) obsahujícímu sloučeninu C (867 mg, 0,0016 mol) byla přidána TFA (5 ml). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla neutralizována nasyceným roztokem NaHCO_3 . Organické podíly byly odděleny, sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Získaná látka byla čištěna chromatografií na silikagelu (99% CH_2Cl_2 /1% MeOH s 2,0M NH_3). Čistá pevná látka byla rozpuštěna do směsi aceton/ether (1/1) a vysrážena s použitím 2,0N HCl v etheru. Získaná pevná látka byla zfiltrována ve vakuu a promyta etherem. Po usušení ve vysokém vakuu reakce poskytla celkově 307 mg sloučeniny D.

^1H NMR (d_4 -MeOH) 400 MHz δ 7,66 - 7,32 (m, 9H), 5,48 (d (br), 1H, J = 50,4 Hz), 5,10 (d, 1H, J = 8,0), 4,86 - 4,64 (m, 3H), 4,19 - 3,86 (m, 2H), 2,70 - 2,41 (m, 2H), 1,78 (s, 3H), 1,63 (s, 3H) ppm.

Příklad 25



(2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-[(2-methoxybenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl]-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[(2-methoxybenzyl)thio]-3-methylbutanová

K 1,0N roztoku KOH (50 ml) obsahujícímu kyselinu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkpto-3-methylbutanovou (1 g, 0,00401 mol) byl přidán 2-methoxybenzylchlorid (691mg, 0,00441 mol) při teplotě laboratoře. Po 17,0 h byla reakční směs zředěna vodou a promyta diethyletherem. Organické podíly byly odlity a vodná vrstva byla ochlazená na 0 až 5 °C. Vodný roztok byl okyselen (pH 3,5) s použitím koncentrované HCl a produkt byl extrahován do EtOAc. Organické podíly byly sušeny nad MgSO₄ a zakoncentrovány do sucha za získání celkově 1,1 g (74 %) sloučeniny A.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,25 - 7,21 (m, 2H), 6,90 - 6,85 (m, 2H), 5,63 - 5,55 (m, 1H), 4,31 (d (br), 1H, J = 9,2 Hz), 3,88 - 3,79 (m, 5H), 1,58 - 1,33 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-[(2-methoxybenzyl)thio]-2-methylpropylkarbamát

K DMF roztoku (25 ml) obsahujícímu sloučeninu A (1,0 g, 0,0027 mol) a N,N-diisopropylethylamin (1,05 g, 0,0081 mol) byl přidán HATU (1,5 g, 0,00405 mol) při teplotě laboratoře. Po 30 min byla směs smísena s (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzen-

sulfonátem (851 mg, 0,003 mol). Po míchání přes noc byla reakce ukončena NaHCO_3 a organické podíly extrahovány EtOAc (2 x). Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl a sušeny nad MgSO_4 . Odstranění rozpouštědla ve vakuu a čištění chromatografií na koloně (1/1 hexany/EtOAc) poskytlo 668 mg (53% výtěžek) sloučeniny B.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,31 (dd, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,19 (dd, 1H, $J = 8,0$ Hz), 6,92 - 6,83 (m, 2H), 5,47 - 5,31 (m, 2H), 5,03 (d (br), 1H, $J = 92$), 4,34 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 4,26 - 3,66 (m, 7H), 2,68 (dd, 1H, $J = 15,2$ Hz), 2,43 - 2,26 (m, 1H), 1,57 - 1,37 (m, 15H) ppm.

C. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-[(2-methoxybenzyl)sulfonyl]-2-methylpropylkarbamát

K CH_2Cl_2 roztoku (75 ml) obsahujícímu sloučeninu B (668 mg, 0,0014 mol) byla přidána kyselina 3-chlorperoxybenzoová (57 až 86%) (2,5 g, 0,0140 mol). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla neutralizována 2,0N KOH. Organické podíly byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí 678 mg sloučeniny C (95 %). Získaná bílá pevná látka byla použita bez dalšího čištění.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,44 (dd, 1H, $J = 7,6$ Hz), 7,34 (m, 1H), 6,99 - 6,91 (m, 2H), 5,61 - 5,57 (m, 1H), 5,40 (d (br), 1H, $J = 51,2$ Hz), 5,00 - 4,95 (m, 2H), 4,49 - 3,85 (m, 7H), 2,65 (dd, 1H, $J = 15,6$ Hz), 2,45 - 2,28 (m, 1H), 1,62 - 1,37 (m, 15H) ppm.

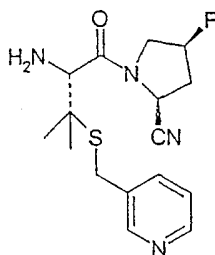
D. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-[(2-methoxybenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (45 ml) obsahujícímu sloučeninu C (678 mg, 0,00136 mol) byla přidána TFA (5 ml). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla

neutralizována nasyceným roztokem NaHCO_3 . Organické podíly byly odděleny, sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Získaná pevná látka byla čištěna chromatografií na silikagelu (99% CH_2Cl_2 /1% MeOH 2,0M NH_3). Čistá pevná látka byla rozpuštěna do směsi aceton/ether (1/1) a vysrážena s použitím 2,0N HCl v etheru. Získaná pevná látka byla zfiltrována ve vakuu a promyta etherem. Po usušení ve vysokém vakuu reakce poskytla celkově 313 mg sloučeniny D.

^1H NMR (d_4 - MeOH) 400 MHz δ 7,45 - 7,38 (m, 2H), 7,06 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 6,99 - 6,99 (dd, 1H, $J = 7,2$ Hz), 5,49 (d (br), 1H, $J = 50,8$ Hz), 5,09 (m, 1H, $J = 9,2$), 4,13 - 3,84 (m, 6H), 2,67 - 2,44 (m, 2H), 1,74 (s, 3H), 1,58 (s, 3H) ppm.

Příklad 26



(2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(pyridin-3-ylmethyl)thio]-butanoyl)-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril

A. Kyselina (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methyl-3-[(pyridin-3-ylmethyl)thio]butanová

K roztoku 1,0N KOH (50 ml) obsahujícímu kyselinu (2R)-2-[[terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkpto-3-methylbutanovou (1 g, 0,00401 mol) byl přidán 3-(brommethyl)pyridinhydrobromid (1,1 g, 0,00441 mol) při laboratorní teplotě. Po 17,0 h byla reakční směs zředěna vodou a promyta diethyletherem. Organické podíly byly odlity a vodná vrstva

byla ochlazena na 0 až 5 °C. Vodný roztok byl okyselen (pH 4,0) s použitím koncentrovaného HCl a produkt byl extrahován do EtOAc. Organické podíly byly sušeny nad Na₂SO₄ a zakoncentrovány do sucha za získání 403 mg (30 %) sloučeniny A jako čisté olejovité pevné látky.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 8,77 (s, 1H), 8,56 (d, 1H, *J* = 5,6 Hz), 7,80 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz), 7,37 (dd, 1H, *J* = 8,0 Hz), 5,47 (d (br), 1H, *J* = 9,6 Hz), 4,53 (d (br), 1H, *J* = 9,6 Hz), 3,95 (dd, 2H, *J* = 69,6 Hz), 1,60 - 1,35 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl}-
-2-methyl-2-[(pyridin-3-ylmethyl)thio]propylkarbamát

K DMF roztoku (20 ml) obsahujícímu sloučeninu A (400 mg, 0,0012 mol) a N,N-diisopropylethylamin (456 mg, 0,0035 mol) byl přidán HATU (670 mg, 0,0018 mol) při laboratorní teplotě. Po 30 min byla reakční směs smísena s (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátem (370 mg, 0,0013 mol). Po míchání přes noc byla reakce ukončena NaHCO₃ a organické podíly extrahovány EtOAc (2 x). Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl a sušeny nad Na₂SO₄. Odstranění rozpouštědla ve vakuu a čištění chromatografií na koloně (1/1 hexany/EtOAc) poskytlo 314 mg (61 %) sloučeniny B.

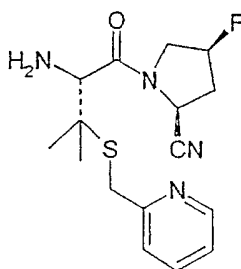
¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 8,58 [s, 1H), 8,46 (d, 1H, *J* = 4,8 Hz), 7,71 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz), 7,21 (dd, 1H, *J* = 8,0 Hz), 5,45 (d (br), 1H, *J* = 9,2 Hz), 5,43 (d (br), 1H, *J* = 51,2 Hz), 5,02 (d, 1H, *J* = 9,2 Hz), 4,41 (d, 1H, *J* = 9,6 Hz), 4,37 - 3,79 (m, 4H), 2,70 (dd, 1H, *J* = 15,6 Hz), 2,46 - 2,29 (m, 1H), 1,55 - 1,39 (m, 15N) ppm.

C. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(pyridin-3-ylmethyl)thio]-butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (22 ml) obsahujícímu sloučeninu B (314 mg, 0,720 mmol) byla přidána TFA (3 ml). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla neutralizována nasyceným roztokem NaHCO_3 . Organické podíly byly odděleny, sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Získaná pevná látka byla čištěna chromatografií na silikagelu (99% CH_2Cl_2 /1% MeOH 2,0M NH_3). Čistá pevná látka byla rozpuštěna do směsi aceton/ether (1/1) a vysrážena s použitím 2,0N HCl v etheru. Získaná pevná látka byla zfiltrována ve vakuu a promyta etherem. Po usušení ve vysokém vakuu reakce poskytla celkově 69 mg sloučeniny C.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 8,57 (s, 1H), 8,46 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz), 7,71 (d, 1H, $J = 6,4$ Hz), 7,23 (dd, 1H, $J = 8,0$ Hz), 5,44 (d (br), 1H, $J = 51,2$ Hz), 4,97 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,20 - 3,58 (m, 5H), 2,66 (dd, 1H, $J = 15,2$ Hz), 2,39 - 2,22 (m, 1H), 1,78 (s (br), 2H), 1,48 (s, 3H), 1,39 (s, 3H) ppm.

Příklad 27



(2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(pyridin-2-ylmethyl)thio]-butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methyl-3-[(pyridin-2-ylmethyl)thio]butanová

K 1,0N roztoku KOH (50 ml) obsahujícímu kyselinu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkpto-3-methylbutanovou (1 g, 0,00401 mol) byl přidán 2-(brommethyl)pyridinhydrobromid (1,1 g, 0,00441 mol) při laboratorní teplotě. Po 17,0 h byla reakční směs zředěna vodou a promyta diethyletherem. Organické podíly byly odlity a vodná vrstva byla ochlazená na 0 až 5 °C. Vodný roztok byl okyselen (pH 4,0) s použitím koncentrovaného HCl a produkt byl extrahován do EtoAc. Organické podíly byly sušeny nad Na₂SO₄ a zakoncentrovány do sucha za získání celkově 557 mg (41 %) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 8,53 (d, 1H, *J* = 4,8 Hz), 7,75 (dd, 1H, *J* = 7,6 Hz), 7,34 - 7,30 (m, 2H), 5,73 (d (br), 1H, *J* = 8,8 Hz), 4,47 (d, 1H, *J* = 8,8 Hz), 4,41 - 4,01 (m, 2H) 1,55 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl)karbonyl]-2-methyl-2-[(pyridin-2-ylmethyl)thio]propylkarbamát

K DMF roztoku (20 ml) obsahujícímu sloučeninu A (557 mg, 0,0016 mol) a N,N-diisopropylethylamin (635 mg, 0,0049 mol) byl přidán HATU (912 mg, 0,0024 mol) při teplotě laboratoře. Po 30 min byla reakční směs smísená s (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátem (504 mg, 0,00176 mol). Po míchání přes noc byla reakce ukončena NaHCO₃ a organické podíly extrahovány EtOAc (2 x). Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl a sušeny nad Na₂SO₄. Odstranění rozpouštědla ve vakuu a čištění chromatografií na koloně (1/1 hexany/EtOAc) poskytlo 466 mg (65 %) sloučeniny B.

¹H NMR (d₆-aceton) 400 MHz δ 8,46 (d, 1H, *J* = 4,4 Hz), 7,71 (dd, 1H, *J* = 7,6 Hz), 7,48 (d, 1H, *J* = 8,0 Hz), 7,21 (dd, 1H, *J* = 7,6

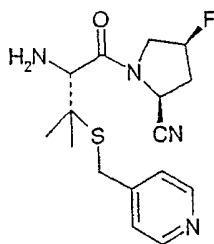
Hz), 6,25 (d (br), 1H, $J = 8,4$ Hz), 5,60 (d (br), 1H, $J = 50,8$ Hz), 5,05 (m, 1N), 4,61 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 4,43 - 3,83 (m, 4H), 2,83 - 2,52 (m, 2H), 1,50 - 1,35 (m, 15H) ppm.

C. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(pyridin-2-ylmethyl)thio]-butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (45 ml) obsahujícímu sloučeninu B (314 mg, 0,00107 mol) byla přidána TFA (5 ml). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla neutralizována nasyceným roztokem NaHCO_3 . Organické podíly byly odděleny, sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Získaná pevná látka byla čištěna s použitím chromatografie na silikagelu (99% CH_2Cl_2 /1% MeOH 2,0M NH_3). Čistá pevná látka byla rozpuštěna do směsi aceton/ether (1/1) a vysrážena s použitím 2,0N HCl v etheru. Získaná pevná látka byla zfiltrována ve vakuu a promyta etherem. Po usušení ve vysokém vakuu reakce poskytla celkově 127 mg sloučeniny C.

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 8,54 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz), 8,34 (dd, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,92 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 7,21 (dd, 1H, $J = 6,4$ Hz), 5,44 (d (br), 1H, $J = 50,4$ Hz), 5,02 (d, 1H, $J = 10$ Hz), 4,60 (m, 5H), 2,62 (dd, 1H, $J = 15,6$ Hz), 2,54 - 2,34 (m, 1H), 1,40 (s, 6H) ppm.

Příklad 28



(2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(pyridin-4-ylmethyl)thio]-butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methyl-3-[(pyridin-4-ylmethyl)thio]butanová

K 1,0N roztoku KOH (50 ml) s obsahem kyseliny (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkapt-3-methylbutanové (1 g, 0,00401 mol) byl přidán 4-(brommethyl)pyridinhydrobromid (1,1 g, 0,00441 mol) při laboratorní teplotě. Po 17,0 h byla reakční směs zředěna vodou a promyta diethyletherem. Organické podíly byly odlity a vodná vrstva byla ochlazená na 0 až 5 °C. Vodný roztok byl okyselen (pH 4,0) koncentrovanou HCl a produkt byl extrahován do EtOAc. Organické podíly byly sušeny nad Na₂SO₄ a zakoncentrovány do sucha za získání 482 mg (35 %) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 8,48 (d, 2H, J = 6,0 Hz), 7,40 (d, 2H, J = 5,6 Hz), 5,48 (d (br), 1H, J = 9,2 Hz), 4,41 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 3,82 (s, 2H) 1,52 - 1,38 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methyl-2[(pyridin-4-ylmethyl)thio]propylkarbamát

K DMF roztoku (20 ml) obsahujícímu sloučeninu A (482 mg, 0,00142 mol) a N,N-diisopropylethylamin (549 mg, 0,0042 mol) byl přidán HATU (810 mg, 0,00213 mol) při teplotě laboratoře. Po 30 min byla reakční směs smísená s (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátem (447 mg, 0,00156 mol). Po míchání přes noc byla reakce ukončena NaHCO₃ a organické podíly extrahovány EtOAc (2 x). Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl a sušeny nad Na₂SO₄. Odstranění rozpouštědla ve vakuu a čištění chromatografií na koloně (1/1 hexany/EtOAc) poskytlo 476 mg (77 %) sloučeniny B.

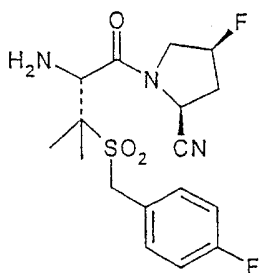
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 8,51 (d, 2H, $J = 4,4$ Hz), 7,31 (d, 2H, $J = 6,4$ Hz), 5,43 (d (br), 7H, $J = 9,6$ Hz), 5,43 (d (br), 1H, $J = 51,2$ Hz), 5,01 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,39 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,35 - 3,96 (m, 2H), 3,80 (s, 2H), 2,70 (dd, 1H, $J = 15,4$), 2,46 - 2,29 (m, 1H), 1,45 - 1,41 (m, 15H) ppm.

C. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(pyridin-4-ylmethyl)thio]-butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (45 ml) obsahujícímu sloučeninu B (476 mg, 0,00109 mol) byla přidána TFA (5 ml). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře 16,0 h, potom byla neutralizována nasyceným roztokem NaHCO_4 . Organické podíly byly odděleny, sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Získaná pevná látka byla čištěna chromatografií na silikagelu (99% CH_2Cl_2 /1% MeOH s 2,0M NH_3). Čistá pevná látka byla rozpuštěna do směsi aceton/ether (1/1) a vysrážena s použitím 2,0N HCl v etheru. Získaná pevná látka byla zfiltrována ve vakuu a promyta etherem. Po usušení ve vysokém vakuu reakce poskytla celkově 107 mg sloučeniny C.

^1H NMR ($\text{d}_4\text{-MeOH}$) 400 MHz δ 8,81 (d, 2H, $J = 4,8$ Hz), 8,08 (d, 2H, $J = 6,4$ Hz), 5,51 (d (br), 1H, $J = 51,2$ Hz), 5,10 (d, 1H, $J = 92$ Hz), 4,35 - 3,96 (m, 4H), 2,65 - 2,43 (m, 2H), 1,62 - 1,42 (m, 6H) ppm.

Příklad 29



(2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-[(4-fluorbenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[(4-fluorbenzyl)thio]-3-methylbutanová

K 1,0N roztoku KOH (50 ml) obsahujícímu kyselinu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkpto-3-methylbutanovou (1,0 g, 0,00401 mol) byl přidán 1-(brommethyl)-4-fluorbenzen (834 mg, 0,00441 mol) při teplotě laboratoře. Po 17,0 h byla reakční směs zředěna vodou a promyta etherem. Organické podíly byly odlity a vodná vrstva byla ochlazená na 0 až 5 °C. Vodný roztok byl okyselen (pH 3,5) koncentrovanou HCl a produkt byl extrahován do EtOAc. Organické podíly byly sušeny nad MgSO₄ a zakoncentrovány do sucha za získání celkově 1,2 g (86 %) sloučeniny A jako oleje.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,29 - 7,26 (m, 2H), 6,99 - 6,94 (m, 2H), 5,40 (d (br), 1H, J = 8,0 Hz), 4,40 (d (br), 1H, J = 8,0 Hz), 3,80 - 3,74 (m, 2H) 1,50 - 1,40 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-[(4-fluorbenzyl)thio]-2-methylpropylkarbamát

K DMF roztoku (25 ml) obsahujícímu sloučeninu A (1,2 g, 0,0034 mol) a N,N-diisopropylethylamin (1,3 g, 0,0107 mol) byl přidán HATU (1,9 g, 0,0051 mol) při laboratorní teplotě. Po 30 min byla reakční směs smísená s (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátem (1,1 g, 0,0037 mol). Po míchání přes noc byla reakce ukončena NaHCO₃ a organické podíly extrahovány EtOAc (2 x). Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl a sušeny nad Na₂SO₄. Odstranění rozpouštědla ve vakuu a čištění chromatografií na koloně (1/1 hexany/EtOAc) poskytlo 929 mg (61%výtěžek) sloučeniny B.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MNz δ 7,33 (dd, 2H, $J = 8,4$ Hz), 6,96 (dd, 2H, $J = 8,8$ Hz), 5,42 (d (br), 1H, $J = 9,2$ Hz), 5,43 (d (br), 1H, $J = 51,6$ Hz), 5,02 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,38 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 4,34 - 3,97 (m, 2H), 3,82 (s, 2H), 2,69 (dd, 1H, $J = 15,4$ Hz), 2,46 - 2,28 (m, 1H), 1,45 - 1,41 (m, 15H) ppm.

C. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-[(4-fluorbenzyl)sulfonyl]-2-methylpropylkarbamát

K CH_2Cl_2 roztoku (100 ml) obsahujícímu sloučeninu B (929 mg, 0,0019 mol) byla přidána kyselina 3-chlorperoxybenzoová (57 až 86%) (3,3 g, 0,0191 mol). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře 16,0 h, potom byla neutralizována 2,0N KOH. Organické podíly byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí 678 mg sloučeniny C (97% výtěžek). Získaná bělavá pevná látka byla použita bez dalšího čištění.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,40 (dd, 2H, $J = 8,8$ Hz), 7,07 (dd, 2H, $J = 8,6$ Hz), 5,52 (d (br), 1H, $J = 9,2$ Hz), 5,43 (d (br), 1H, $J = 51,2$ Hz), 5,03 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,97 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,36 - 3,74 (m, 4H), 2,70 (dd, 1H, $J = 15,2$ Hz), 2,47 - 2,28 (m, 1H), 1,72 - 1,35 (m, 15H) ppm.

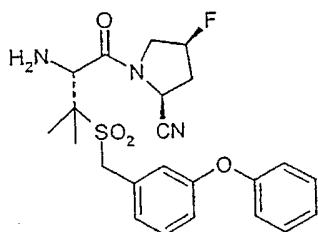
D. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-[(4-fluorbenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (45 ml) obsahujícímu sloučeninu C (678 mg, 0,00140 mol) byla přidána TFA (5 ml). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře 16,0 h, potom byla neutralizována nasyceným roztokem NaHCO_3 . Organické podíly byly odděleny, sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Získaná pevná látka byla čištěna chromatografií na silikagelu (99% CH_2Cl_2 /1% MeOH s 2,0M NH_3). Čistá pevná látka byla

rozpuštěna do směsi aceton/ether (1/1) a vysrážena s použitím 2,0N HCl v etheru. Získaná pevná látka byla zfiltrována ve vakuu a promyta etherem. Po usušení ve vysokém vakuu reakce poskytla celkově 254 mg sloučeniny D jako bílé pevné látky.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,39 (dd, 2H, $J = 8,4$ Hz), 7,08 (dd, 2H, $J = 8,6$ Hz), 5,41 (d (br), 1H, $J = 50,8$ Hz), 4,94 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,63 (d, 1H, $J = 13,2$ Hz), 4,35 - 3,55 (m, 4H), 2,70 (dd, 1H, $J = 15,4$ Hz), 2,43 - 2,26 (m, 1H), 1,80 - 1,39 (m, 8H) ppm.

Příklad 30



(2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(3-fenoxybenzyl)sulfonyl]-butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methyl-3-[(3-fenoxybenzyl)thio]butanová

K 1,0N roztoku KOH (50 ml) obsahujícímu kyselinu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkapt-3-methylbutanovou (1 g, 0,00401 mol) byl přidán 1-(chlormethyl)-3-fenoxybenzen (964 mg, 0,00441 mol) a 1,4-dioxan (15 ml) při teplotě laboratoře. Po 17,0 h byla reakční směs zředěna vodou a promyta diethyletherem. Organické podíly byly odlity a vodná vrstva byla ochlazena na 0 až 5 °C. Vodný roztok byl okyselen (pH 3,5) koncentrovanou HCl a produkt byl extrahován do etheru. Organické podíly byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí celkově 1,4 g (82 %) sloučeniny A jako bílé

pevné látky.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,34 - 6,98 (m, 8H), 6,85 (dd, 1H, J = 8,0 Hz), 5,44 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 3,80 (m, 2H), 1,50 - 1,40 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methyl-2[(3-fenoxybenzyl)thio]propylkarbamát

K DMF roztoku (20 ml) obsahujícímu sloučeninu A (1,4 g, 0,0032 mol) a N,N-diisopropylethylamin (1,3 g, 0,0100 mol) byl přidán HATU (1,8 g, 0,0048 mol) při teplotě laboratoře. Po 30 min byla reakční směs smísena s (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzen-sulfonátem (1,0 g, 0,0035 mol). Po míchání přes noc byla reakce ukončena NaHCO_3 a organické podíly extrahovány EtOAc (2 x). Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl a sušeny nad MgSO_4 . Odstranění rozpouštědla ve vakuu a čištění chromatografií na koloně (1/1 hexany/EtOAc) poskytlo 1,1 g (65 %) sloučeniny B.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,34 - 6,97 (m, 8H), 6,84 (dd, 1H, J = 8,0 Hz), 5,44 (d (br), 1H, J = 9,2 Hz), 5,39 (d (br), 1H, J = 51,2 Hz), 5,01 (d, 1H, J = 9,6 Hz), 4,36 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 4,29 - 3,90 (m, 2H), 3,80 (s, 2H), 2,66 (dd, 1H, J = 15,4 Hz), 2,43 - 2,26 (m, 1H), 1,52 - 1,38 (m, 15H) ppm.

C. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methyl-2-[(3-fenoxybenzyl)sulfonyl]propylkarbamát

K CH_2Cl_2 roztoku (50 ml) obsahujícímu sloučeninu B (600 mg, 0,0011 mol) byla přidána kyselina 3-chlorperoxybenzoová (57 až 86%) (2,0 g, 0,011 mol). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla neutralizována 2,0N KOH. Organické podíly byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha

za poskytnutí 594 mg sloučeniny C (93% výtěžek). Získaná bělavá pevná látka byla použita bez dalšího čištění.

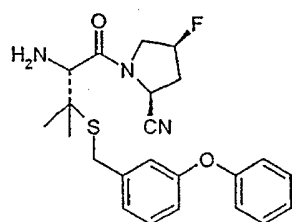
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,34 - 7,00 (m, 9H), 5,40 (d (br), 1H, J = 51,2 Hz), 5,27 (d (br), 1H, J = 8,8 Hz), 4,93 (d, 1H, J = 9,6 Hz), 4,62 (d, 1H, J = 13,2 Hz), 4,46 - 3,55 (m, 4H), 2,69 (dd, 1H, J = 15,4 Hz), 2,42 - 2,25 (m, 1H), 1,62 - 1,43 (m, 15H) ppm.

D. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(3-fenoxybenzyl)sulfonyl]-butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (45 ml) obsahujícímu sloučeninu C (678 mg, 0,00106 mol) byla přidána TFA (5 ml). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla neutralizována nasyceným roztokem NaHCO_3 . Organické podíly byly odděleny, sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Získaná pevná látka byla čištěna chromatografií na silikagelu (99% CH_2Cl_2 /1% MeOH s 2,0M NH_3). Čistá pevná látka byla rozpuštěna do směsi aceton/ether (1/1) a vysrážena s použitím 2,0N HCl v etheru. Získaná pevná látka byla zfiltrována ve vakuu a promyta etherem. Po usušení ve vysokém vakuu reakce poskytla celkově 268 mg sloučeniny D jako bílé pevné látky.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 7,42 - 6,99 (m, 9H), 5,54 (d (br), 1H, J = 51,2 Hz), 5,04 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 4,70 (m, 2H), 4,46 (m, 1H), 4,16 - 3,79 (m, 2H), 2,55 - 2,30 (m, 2H), 1,55 (s, 3H), 1,47 (s, 3H) ppm.

Příklad 31

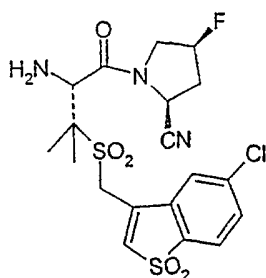


(2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(3-fenoxybenzyl)thio]butanoyl)-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (45 ml) obsahujícímu terc-butyl(1R)-1-[[[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methyl-2-[(3-fenoxybenzyl)thio]propylkarbamát (500 mg, 0,0010 mol) byla přidána TFA (5 ml). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla neutralizována nasyceným roztokem NaHCO_3 . Organické podíly byly odděleny, sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Získaná pevná látka byla čištěna chromatografií na silikagelu (99% CH_2Cl_2 /1% MeOH s 2,0M NH_3). Čistá pevná látka byla rozpuštěna do směsi aceton/ether (1/1) a vysrážena s použitím 2,0N HCl v etheru. Získaná pevná látka byla zfiltrována ve vakuu a promyta etherem. Po sušení ve vysokém vakuu reakce poskytla celkově 132 mg v názvu uvedené sloučeniny.

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7,17 - 6,71 (m, 9H), 5,38 (d (br), 1H, J = 50,4 Hz), 5,00 (d, 1H, J = 9,6 Hz), 4,16 - 3,60 (m, 4H), 2,62 - 2,30 (m, 2H), 1,38 - 1,29 (s, 6H) ppm.

Příklad 32



(2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-[[5-chlor-1,1-dioxido-1-benzothien-3-yl]-
-methylsulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril
hydrochlorid

A. Kyselina (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[[5-chlor-1-
-benzothien-3-yl)methyl]thio]-3-methylbutanová

K 1,0N roztoku KOH (50 ml) obsahujícímu kyselinu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkapt-3-methylbutanovou (7 g, 0,00401 mol) byly přidány 3-(brommethyl)-5-chlor-1-benzothiofen (1,2 g, 0,00441 mol) a 1,4-dioxan (10 ml) při teplotě laboratoře. Po 17,0 h byla reakční směs zředěna vodou a promyta diethyletherem. Organické podíly byly odlity a vodná vrstva byla ochlazená na 0 až 5 °C. Vodný roztok byl okyselen (pH 3,5) s použitím koncentrovaného HCl a produkt byl extrahován do etheru. Organické podíly byly sušeny nad MgSO₄ a zakoncentrovány do sucha za získání celkově 1,0 g (59 %) sloučeniny A jako světlehnědé pevné látky.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,84 (s, 1H), 7,72 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,39 (s, 1H), 7,30 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 5,44 (m, 1H), 4,45 (m, 1H, J = 7,6 Hz), 4,07 - 4,00 (m, 2H), 1,55 - 1,40 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-2-[[5-chlor-1-benzothien-3-yl)methyl]thio]-1-
-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methylpropyl-
karbamát

K DMF roztoku (20 ml) obsahujícímu sloučeninu A (1,0 g, 0,0023 mol) a N,N-diisopropylethylamin (902 mg, 0,007 mol) byl přidán HATU (1,3 g, 0,00345 mol) při teplotě laboratoře. Po 30 min byla reakční směs smísená s (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátem (725 mg, 0,0025 mol). Po míchání přes noc byla reakce ukončena NaHCO₃ a organické podíly extrahovány EtOAc

(2 x). Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl a sušeny nad MgSO_4 . Odstranění rozpouštědla ve vakuu a čištění chromatografií na silikagelu (1/1 hexany/EtOAc) poskytlo 738 mg (60 %) sloučeniny B.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,91 (s, 1H), 7,72 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 7,47 (s, 1H), 7,30 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 5,49 - 5,35 (m, 2H), 5,04 (d, 1H, J = 9,6 Hz), 4,41 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 4,35 - 3,98 (m, 4H), 2,69 (dd, 1H, J = 15,2 Hz), 2,46 - 2,29 (m, 1H), 1,47 - 1,40 (m, 15H) ppm.

C. Terc-butyl(1R)-2-[[[(5-chlor-1,1-dioxido-1-benzothien-3-yl)methyl]-sulfonyl]-1-[[[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methylpropylkarbamát

K CH_2Cl_2 roztoku (100 ml) obsahujícímu sloučeninu B (738 mg, 0,0014 mol) byla přidána kyselina 3-chlorperoxybenzoová (57 až 86%) (4,8 g, 0,028 mol). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla neutralizována 2,0N KOH. Organické podíly byly sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí 803 mg sloučeniny C (97% výtěžek). Získaná bělavá pevná látka byla použita bez dalšího čištění.

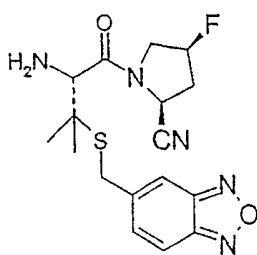
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 8,05 (s, 1H), 7,96 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,48 (m, 3H), 5,45 (d (br), 1H J = 10 Hz), 5,44 (d (br), 1H, J = 50,8 Hz), 5,02 (d, 1H, J = 10 Hz), 4,95 (d, 1H, J = 9,6 Hz), 4,77 - 3,96 (m, 4H), 2,70 (dd, 1H, J = 14,8 Hz), 2,46 - 2,30 (m, 1H), 1,70 - 1,37 (m, 15H) ppm.

D. (2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-(((5-chlor-1,1-dioxido-1-benzothien-3-yl)-methyl)sulfonyl)-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (45 ml) obsahujícímu sloučeninu C (500 mg, 0,0010 mol) byla přidána TFA (5 ml). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře 16,0 h, potom byla neutralizována nasyceným roztokem NaHCO_3 . Organické podíly byly odděleny, sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Získaná látka byla čištěna chromatografií na silikagelu (99% CH_2Cl_2 /1% MeOH s 2,0M NH_3). Čistá pevná látka byla rozpuštěna do směsi aceton/ether (1/1) a vysrážena s použitím 2,0N HCl v etheru. Získaná pevná látka byla zfiltrována ve vakuu a promyta etherem. Po usušení ve vysokém vakuu reakce poskytla celkově 132 mg sloučeniny D.

^1H NMR (D_2O) 400 MHz δ 7,99 (s, 1H), 7,81 - 7,56 (m, 3H), 5,44 (d (br), 1H, $J = 50,4$ Hz), 5,01 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,19 - 3,80 (m, 4H), 2,66 - 2,22 (m, 2H), 1,58 (s, 3H), 1,43 (s, 3H) ppm.

Příklad 33



(2S,4S)-1-((2R)-2-Amino-3-[(2,1,3-benzoxadiazol-5-ylmethyl)thio]-3-methylbutanoyl)-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2R)-3-[(2,1,3-benzoxadiazol-5-ylmethyl)thio]-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methylbutanová

K 1,0N roztoku KOH (50 ml) obsahujícímu kyselinu (2R)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-merkpto-3-methylbutanovou (1 g, 0,00401 mol) byly přidány 5-(brommethyl)-2,1,3-benzoxadiazol (940 mg, 0,00441 mol) a 1,4-dioxan (5 ml) při teplotě laboratoře. Po 17,0 h byla reakční směs zředěna vodou a promyta diethyletherem. Organické podíly byly odlity a vodná vrstva byla ochlazená na 0 až 5 °C. Vodný roztok byl okyselen (pH 4,0) koncentrovanou HCl a produkt byl extrahován do EtOAc. Organické podíly byly sušeny nad Na₂SO₄ a zakonzentrovány do sucha za získání celkově 622 mg (41 %) sloučeniny A jako hnědé pevné látky.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,76 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 7,72 (s, 1H), 7,44 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 5,40 (d (br), 1H, J = 8,0 Hz), 4,46 (d (br), 1H, J = 8,4 Hz), 3,89 (s, 2H) 1,47 - 1,40 (m, 15H) ppm.

B. Terc-butyl(1R)-2-[(2,1,3-benzoxadiazol-5-ylmethyl)thio]-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl}-2-methylpropylkarbamát

K DMF roztoku (20 ml) obsahujícímu sloučeninu A (622 mg, 0,00163 mol) a N,N-diisopropylethylamin (632 mg, 0,0049 mol) byl přidán HATU (930 mg, 0,00244 mol) při teplotě laboratoře. Po 30 min byla reakční směs smísená s (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonátem (514 mg, 0,00180 mol). Po míchání přes noc byla reakce ukončena NaHCO₃ a organické podíly extrahovány EtOAc (2 x). Organické podíly byly promyty nasyceným roztokem NaCl a sušeny nad Na₂SO₄. Odstranění rozpouštědla ve vakuu a čištění chromatografií na koloně (1/1 hexany/EtOAc) poskytlo 444 mg (45 % výtěžek) sloučeniny B.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,78 (s, 1H), 7,76 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 7,48 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 5,43 (d (br), 1H, J = 9,6 Hz), 5,45 (d

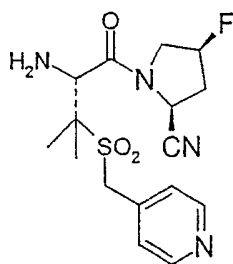
(br), 1H, $J = 50,8$ Hz), 5,02 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,44 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,39 - 3,89 (m, 4H), 2,72 (dd, 1H, $J = 15,2$), 2,48 - 2,32 (m, 1H), 1,60 - 1,40 (m, 15H) ppm.

C. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-[(2,1,3-benzoxadiazol-5-ylmethyl)thio]-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (45 ml) obsahujícímu sloučeninu B (444 mg, 0,770 mmol) byla přidána TFA (5 ml). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h, potom byla neutralizována nasyceným roztokem NaHCO_3 . Organické podíly byly odděleny, sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Získaná pevná látka byla čištěna chromatografií na silikagelu (99% CH_2Cl_2 /1% MeOH s 2,0M NH_3). Čistá pevná látka byla rozpuštěna do směsi aceton/ether (1/1) a vysrážena s použitím 2,0N HCl v etheru. Získaná pevná látka byla zfiltrována ve vakuu a promyta etherem. Po usušení ve vysokém vakuu reakce poskytla celkově 105 mg sloučeniny C.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 8,02 - 7,99 (m, 2H), 7,63 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 5,55 (d (br), 1H, $J = 51,2$ Hz), 5,07 (d, 1H, $J = 9,2$ Hz), 4,22 - 3,98 (m, 5H), 2,58 - 2,32 (m, 2H), 1,48 (s, 3H), 1,40 (s, 3H) ppm.

Příklad 34

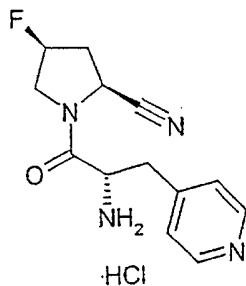


(2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-methyl-3-[(pyridin-4-ylmethyl)sulfonyl]-butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (90 ml) obsahujícímu terc-butyl(1R)-1-[[[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methyl-2-[(pyridin-4-ylmethyl)thio]propylkarbamát (500 mg, 0,0011 mol) byla přidána TFA (10 ml). Reakční směs byla ponechána míchat při teplotě laboratoře po dobu 16,0 h a potom byla přidána kyselina 3-chlorperoxybenzoová (2,0 g, 0,0114 mol). Reakční směs byla míchána 4,0 h, potom byla neutralizována 2,0N NaOH. Organické podíly byly odděleny, sušeny nad Na_2SO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Získaná pevná látka byla čištěna chromatografií na silikagelu (99% CH_2Cl_2 /1% MeOH s 2,0M NH_3). Čistá látka byla rozpuštěna do směsi aceton/ether (1/1) a vysrážena s použitím 2,0N HCl v etheru. Získaná pevná látka byla zfiltrována ve vakuu a promyta etherem. Po usušení ve vysokém vakuu reakce poskytla celkově 22 mg sloučeniny uvedené v názvu.

^1H NMR ($\text{d}_4\text{-CDCl}_3$) 400 MHz δ 8,64 (d, 2H, $J = 5,6$ Hz), 7,37 (d, 2H, $J = 5,6$ Hz), 5,42 (d (br), 1H, $J = 51,2$ Hz), 4,94 (d, 1H, $J = 9,6$ Hz), 4,77 (d, 1H, $J = 13,2$ Hz), 4,39 - 3,75 (m, 4H), 2,71 (dd, 1H, $J = 15,6$ Hz), 2,43 - 2,29 (m, 1H), 2,06 - 1,86 (s (br), 2H), 1,62 (s, 3H), 1,46 (s, 3H) ppm.

Příklad 35



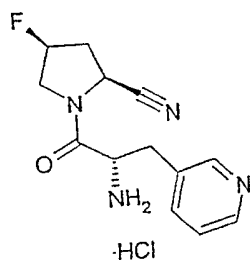
(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-pyridin-4-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-
-karbonitril hydrochlorid

A. (2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-pyridin-4-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-
2-karbonitril hydrochlorid

K suchému DMF (25 ml) byla přidána kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-pyridin-4-ylpropanová (705 mg, 2,65 mmol), HATU (1,0 g, 2,65 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (0,46 ml, 2,65 mmol). Po míchání při teplotě laboratoře 30 min byly přidány (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát (581 mg, 1,99 mmol) a další N,N-diisopropylethylamin (0,35 ml, 1,99 mmol). Tento roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře 12 hod. Potom byl přidán nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (100 ml) a směs byla extrahována ethylacetátem (2 x 100 ml) a organické podíly byly promyty nasyceným NaCl (100 ml) a sušena nad MgSO₄ a zakoncentrována do sucha, za poskytnutí surové pevné látky. Pevná látka byla čištěna chromatografií na koloně (silikagel, hexany/EtOAc 4 : 1), za poskytnutí pevné látky, která byla míchána v roztoku dioxanu obsahujícím HCl (4,0M, 20 ml) 2 h, a potom byl přidán diethylether (100 ml). Vysrážená pevná látka byla oddělena filtrací a sušena ve vysokém vakuu za získání 388 mg (1,3 mmol, 65 % výtěžek) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 8,92 (s (br), 3H), 8,84 (d, 2H, J = 6,2 Hz), 7,96 (d, 2H, J = 6,2 Hz), 5,45 (d, 1H, J = 51 Hz), 5,00 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 4,47 (m (br), 1H), 4,05 - 3,78 (m, 2H), 3,41 - 3,36 (m, 2H), 2,42 - 2,25 (m, 2H) ppm.

Příklad 36

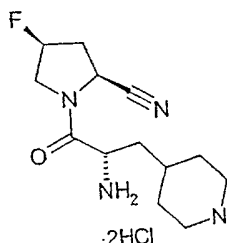


(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-pyridin-3-ylpropanoyl]-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-pyridin-3-ylpropanoyl]-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K suchému DMF (25 ml) byla přidána kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-pyridin-3-ylpropanová (534 mg, 2,0 mmol), HATU (0,76 g, 2,0 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (0,35 ml, 2,0 mmol). Po míchání při teplotě laboratoře po dobu 30 min byly přidány (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát (438 mg, 1,5 mmol) a další N,N-diisopropylethylamin (0,26 ml, 1,5 mmol). Tento roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře celkem 12 h a potom byl přidán nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (150 ml). Směs byla extrahována ethylacetátem (3 x 100 ml) a organické podíly byly promyty nasyceným NaCl (100 ml), sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za poskytnutí surové pevné látky. Pevná látka byla čištěna chromatografií (silikagel, hexany/EtOAc 4 : 1) za získání pevné látky, která byla míchána v roztoku dioxan-HCl (4,0M, 25 ml) 2 h a potom byl přidán diethylether (200 ml). Vysrážená pevná látka byla oddělena filtrací a sušena ve vysokém vakuu za získání 266 mg (0,89 mmol, 59% výtěžek) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 8,88 (s, 1H), 5,51 (d, 1H, J = 51 Hz), 5,01 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 4,45 - 4,38 (m(br), 1H), 4,00 - 3,86 (m, 2H), 3,38 - 3,27 (m, 2H), 2,42 - 2,30 (m, 3H) ppm.

Příklad 37

(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-piperidin-4-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-
-karbonitril dihydrochlorid

A. Acetátová sůl kyseliny (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-
-piperidin-4-ylpropanové

Ke kyselině octové (ledová, 50 ml) byl přidán roztok kyseliny (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-pyridin-4-ylpropanové (0,69 g, 2,58 mmol), bylo přidáno 10% Pd/C (50 % hmotn./hmotn., 0,35 g) a směs byla hydrogenována při 60 psi (414 kPa) v atmosféře vodíku. Roztok byl zfiltrován přes celit a zakoncentrován za poskytnutí bílé pevné látky. Ta byla sušena ve vysokém vakuu za získání 822 mg (2,48 mmol, 96% výtěžek) sloučeniny A jako acetátové soli.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 10,5 (s (br), 1H), 6,21 - 6,19 (m (br), 1H), 3,69 - 3,62 (m, 1H), 3,19 - 3,06 (m, 2H), 2,75 - 2,65 (m, 2H), 1,92 (s, 3H), 1,80 - 1,45 (m, 6H), 1,35 (s, 9H), 1,21 - 1,05 (m, 1H) ppm.

B. Kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[1-(terc-butoxy-
karbonyl)piperidin-4-yl]propanová

K CH_2Cl_2 roztoku (150 ml) acetátové soli kyseliny (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-piperidin-4-ylpropanové (1,0 g, 3,00 mmol)

byl přidán triethylamin (1,52 g, 15 mmol) a di-terc-butyldikarbonát (786 mg, 3,6 mmol) a směs byla míchána 12 h. Potom byly přidány H₂O (50 ml) a CH₂Cl₂ (300 ml), směs byla ōkyselena na pH 4 1,0M HCl. Oddělení ethylacetátové vrstvy, sušení nad MgSO₄ a zfiltrování rozpoušředla ve vakuu poskytly řirý olej. Olej byl sušen ve vysokém vakuu za získání 1,06 g (2,86 mmol, 95% výtěřek) sloučeniny B jako bílé pevné látky.

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 12,4 (s (br), 1H), 7,08 (d, 1H, *J* = 8,3 Hz), 3,98 - 3,81 (m (br), 3H), 2,78 - 2,59 (m (br), 2H), 1,68 - 1,42 (m, 6H), 1,39 (s, 16H), 1,02 - 0,89 (m, 2H) ppm.

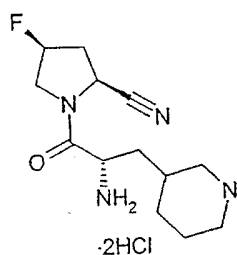
C. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-piperidin-4-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K suchému DMF (25 ml) byla přidána kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[1-(terc-butoxykarbonyl)piperidin-4-yl]-propanová (0,85 g, 2,28 mmol), HATU (0,87 g, 2,28 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (0,40 ml, 2,28 mmol). Po míchání při teplotě laboratoře 30 min byly přidány (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenszensulfonát (500 mg, 1,71 mmol) a další N,N-diisopropylethylamin (0,30 ml, 1,71 mmol). Tento roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře 12 h a potom byl přidán nasycený roztok hydrogenuhliřitanu sodného (100 ml). Směs byla extrahována ethylacetátem (2 x 100 ml) a organické podíly byly promyty nasyceným NaCl (50 ml), a sušeny nad MgSO₄. Odpaření ve vakuu poskytlo surovou pevnou látku, která byla řištěna chromatografií (silikagel, hexany/EtOAc 4 : 1), za poskytnutí pevné látky, která byla míchána v roztoku dioxan-HCl (4,0M, 20 ml) 2 h a byl přidán další diethylether (100 ml). Získaná sraženina byla oddělena filtrací a sušena ve vysokém vakuu, za získání 432 mg (1,26 mmol, 74% výtěřek) sloučeniny C jako bílé pevné látky.

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 9,0 - 8,83 (s (br), 2H), 8,80 -

8,60 (s (br), 3H), 5,52 (d, 1H, $J = 51$ Hz), 5,06 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 4,07 - 4,01 (m (br), 1H), 3,94 - 3,81 (m, 2H), 3,23 - 3,20 (m, 2H), 2,87 (s, 1H), 2,74 - 2,66 (m, 3H), 2,46 - 2,37 (m, 2H), 1,95 - 1,91 (m, 1H), 1,77 - 1,58 (m, 3H), 1,42 - 1,31 (m, 1H) ppm.

Příklad 38



(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-piperidin-3-ylpropanoyl]-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril dihydrochlorid

A. Kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-piperidin-3-ylpropanová

K roztoku kyseliny (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-pyridin-3-ylpropanové (0,8 g, 3,0 mmol) v kyselině octové (ledová, 50 ml) bylo přidáno 10% Pd/C (50 % hmotn./hmotn., 0,40 g) a směs byla hydrogenována při 60 psi (414 kPa) v atmosféře vodíku. Roztok byl zfiltrován přes celit, zakoncentrován a potom sušen ve vysokém vakuu za získání 946 mg (2,85 mmol, 95% výtěžek) sloučeniny A jako acetátové soli.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 10,2 (s (br), 1H), 6,15 - 6,05 (m, 1H), 3,69 - 2,64 (m, 1H), 3,21 - 3,07 (m, 2H), 2,67 - 2,61 (m, 1H), 2,39 - 2,31 (m (br), 1H), 1,95 (s, 3H), 1,91 - 1,41 (m, 6H), 1,91 (s, 9H), 1,08 - 1,01 (m, 1H) ppm.

B. Kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[1-(terc-butoxykarbonyl)piperidin-3-yl]propanová

K CH_2Cl_2 roztoku (150 ml) obsahujícímu sloučeninu A (1,0 g, 3,00 mmol) byl přidán triethylamin (1,52 g, 15 mmol) a di-terc-butyldikarbonát (786 mg, 3,6 mmol), a směs byla míchána 12 h. Reakce byla potom ukončena H_2O (50 ml) a byl přidán CH_2Cl_2 (300 ml). Organická vrstva byla oddělena a vodná vrstva byla okyselena na pH 4 1,0M HCl, potom byla extrahována EtOAc. Spojené organické vrstvy byly sušeny nad MgSO_4 a rozpouštědlo bylo odpařeno ve vakuu za získání čirého oleje. Olej byl potom sušen ve vysokém vakuu za získání 1,07 g (2,87 mmol, 95% výtěžek) sloučeniny B jako bílé pevné látky.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 12,15 (s (br), 1H), 7,17 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 3,95 - 3,87 (m (br), 3H), 2,61 - 2,45 (m (br), 2H), 1,73 - 1,40 (m, 6H), 1,35 (s, 16H), 1,2 - 0,89 (m, 2H) ppm.

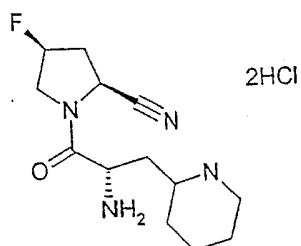
C. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-piperidin-3-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril dihydrochlorid

K suchému DMF (25 ml) byly přidány sloučenina B (0,85 g, 2,28 mmol), HATU (0,87 g, 2,28 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (0,40 ml, 2,28 mmol). Po míchání při teplotě laboratoře 30 min byly přidány (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát (500 mg, 1,71 mmol) a další N,N-diisopropylethylamin (0,30 ml, 1,71 mmol). Tento roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře celkově 12 h a byl přidán nasycený hydrogenuhličitan sodný (100 ml). Směs byla extrahována ethylacetátem (2 x 100 ml) a organické podíly byly promyty nasyceným NaCl (50 ml) a sušeny nad MgSO_4 . Odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytlo surovou pevnou látku. Pevná látka byla čištěna chromatografií (silikagel, hexany/EtOAc 4 : 1) za získání pevné látky, která byla míchána v roztoku dioxan-HCl (4,0M, 20 ml) po dobu 2 h a potom byl přidán diethylether (100 ml).

Získaná sraženina byla oddělena filtrací a sušena ve vysokém vakuu za získání 419 mg (1,23 mmol, 72% výtěžek) sloučeniny C jako bílé pevné látky.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 9,0 - 8,83 (s (br), 2H), 8,60 - 8,50 (s (br), 3H), 5,52 (d, 1H, J = 51 Hz), 5,02 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 4,13 - 4,08 (m (br), 1H), 3,99 - 3,87 (m, 2H), 3,37 - 3,31 (m, 2H), 3,05 - 3,01 (m, 1H), 2,87 (m, 2H), 2,46 - 2,37 (m, 2H), 1,95 - 1,91 (m, 5H), 1,22 - 1,11 (m, 1H) ppm.

Příklad 39



(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-piperidin-2-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-yl-karbonitril dihydrochlorid

A. Kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-piperidin-2-ylpropanová

K roztoku kyseliny (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-pyridin-2-ylpropanové (1,6 g, 6,0 mmol) v kyselině octové (ledová, 50 ml) bylo přidáno 10% Pd/C (50 % hmotn./hmotn., 0,80 g) a směs byla hydrogenována při 60 psi (414 kPa) v atmosféře vodíku. Roztok byl zfiltrován přes celit a zakoncentrován a potom sušen ve vysokém vakuu za získání 951 mg (2,85 mmol, 95% výtěžek) sloučeniny A jako acetátové soli.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 10,15 (s (br), 1H), 6,21 - 6,19

(m, 1 H), 3,69 - 2,64 (m, 1H), 3,61 - 3,56 (m, 2H), 3,27 - 3,12 (m, 2H), 2,72 - 2,65 (m, 1H), 1,89 (s, 3H), 1,81 - 1,63 (m, 5H), 1,52 - 2,42 (m, 1H), 1,91 (s, 9H) ppm.

B. Kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[1-(terc-butoxykarbonyl)piperidin-2-yl]propanová

K CH_2Cl_2 (150 ml) roztoku sloučeniny A (1,5 g, 4,50 mmol) byl přidán triethylamin (2,27 g, 23 mmol) a di-terc-butyldikarbonát (1,18 g, 5,4 mmol). Po míchání 12 h byly přidány H_2O (50 ml) a CH_2Cl_2 (300 ml), směs byla okyselena na pH 3 1,0M HCl. Oddělení organické vrstvy, sušení nad MgSO_4 a odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytlo čirý olej. Olej byl sušen ve vysokém vakuu za získání 1,68 g (4,45 mmol, 95% výtěžek) sloučeniny B jako bílé pevné látky.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 12,2 (s (br), 1H), 7,15 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 4,25 - 3,99 (m (br), 3H), 3,89 - 3,78 (m (br), 2H), 2,68 - 2,58 (m, 1H) 1,79 - 1,40 (m, 5H), 1,35 (s, 16H), 1,2 - 1,14 (m, 2H) ppm.

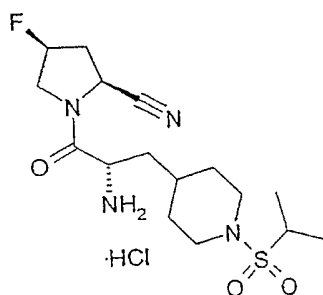
C. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-piperidin-2-yl]propanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril dihydrochlorid

K suchému DMF (25 ml) byly přidány sloučenina B (850 mg, 2,28 mmol), HATU (869 mg, 2,28 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (0,40 ml, 2,28 mmol). Po míchání při teplotě laboratoře po dobu 30 min byly přidány (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát (500 mg, 1,71 mmol) a další N,N-diisopropylethylamin (0,30 ml, 1,71 mmol). Tento roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře 12 h a potom byl přidán nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (110 ml). Směs byla extrahována ethylacetátem (2 x 100 ml) a organické podíly byly promyty nasyceným NaCl (50 ml) a sušeny nad MgSO_4 . Odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytlo surovou pevnou látku. Pevná látka byla čištěna chromatografií (silikagel, hexany/EtOAc

4 : 1) za poskytnutí pevné látky, která byla míchána v roztoku dioxan-HCl (4,0M, 20 ml) 2 h a potom byl přidán diethylether (100 ml). Získaná sraženina byla oddělena filtrací a sušena ve vysokém vakuu za získání 365 mg (1,07 mmol, 63% výtěžek) sloučeniny C jako bílé pevné látky.

^1H NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) 400 MHz δ 9,32 - 9,10 (s (br), 2H), 8,79 - 8,53 (s (br), 3H), 5,51 (d, 1H, $J = 51$ Hz), 5,04 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 4,25 - 4,21 (m (br), 1H), 4,19 - 3,88 (m, 2H), 3,58 - 3,46 (m, 1H), 3,42 - 3,32 (m, 2H), 2,85 (s, 1H), 2,71 - 2,63 (m, 2H), 2,27 - 2,14 (m, 1H), 2,05 - 1,97 (m, 1H), 1,81 - 1,40 (m, 5H) ppm.

Příklad 40



(2S,4S)-1-(2S)-2-Amino-3-[1-(isopropylsulfonyl)piperidin-4-yl]-propanoyl}-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[1-(isopropylsulfonyl)piperidin-4-yl]propanová

K CH_3CN roztoku (150 ml) sloučeniny A z příkladu 12 (1,0 g, 3,00 mmol) byl přidán triethylamin (1,52 g, 15 mmol) a isopropylsulfonylchlorid (513 mg, 3,6 mmol). Po míchání 6 h byl acetonitril odstraněn ve vakuu a byly přidány H_2O (50 ml) a ethylacetát (300 ml). Oddělení ethylacetátové vrstvy, sušení nad MgSO_4 a

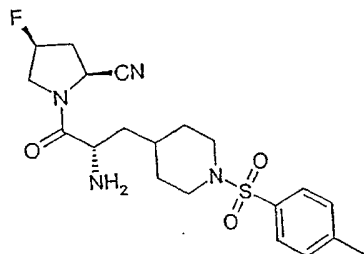
odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytlo pevnou látku, která byla promyta etherem a sušena ve vysokém vakuu za získání 860 mg (2,26 mmol, 75% výtěžek) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

^1H NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) 400 MHz δ 12,4 (s (br), 1H), 7,15 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 4,37 - 4,29 (m, 1H), 3,99 - 3,95 (m (br), 1H), 3,85 - 3,80 (m, 1H), 3,62 - 3,58 (m, 1H), 2,97 - 2,92 (m, 1H), 2,42 - 2,37 (m, 1H), 1,91 - 1,89 (m, 1H) 1,87 - 1,46 (m, 7H), 1,37 (s, 9H), 1,19 - 0,89 (d, 4H) ppm.

B. (2S,4S)-1-{(2S)-2-Amino-3-[1-(isopropylsulfonyl)piperidin-4-yl]-propanoyl}-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K suchému DMF (25 ml) byly přidány sloučenina A (1,75 g, 4,62 mmol), HATU (1,76 g, 4,62 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (0,80 ml, 4,62 mmol). Po míchání při teplotě laboratoře 30 min byly přidány (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát (1,0 g, 3,47 mmol) a další N,N-diisopropylethylamin (0,60 ml, 3,47 mmol). Tento roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře 12 h a potom byl přidán nasycený hydrogenuhličitan sodný (110 ml). Směs byla extrahována ethylacetátem (2 x 100 ml) a organické podíly byly promyty nasyceným NaCl (50 ml) a sušeny nad MgSO_4 . Odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytlo surovou pevnou látku. Pevná látka byla čištěna chromatografií (silikagel, hexany/EtOAc 4 : 1) za získání pevné látky, která byla míchána v roztoku dioxan-HCl (4,0M, 20 ml) 2 h a potom byl přidán diethylether (100 ml). Sraženina byla oddělena filtrací a sušena ve vysokém vakuu za získání 969 mg (2,35 mmol, 68% výtěžek) sloučeniny B jako bílé pevné látky.

^1H NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) 400 MHz δ 8,51 - 8,44 (s (br), 3H), 5,15 (d, 1H, J = 51 Hz), 5,06 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 4,04 - 4,01 (s (br), 1H), 3,96 - 3,84 (m, 2H), 3,72 - 3,61 (m, 2H), 3,51 - 3,37 (m (br), 2H), 3,35 - 3,27 (m, 1H), 2,79 - 2,76 (m, 2H), 1,82 - 1,69 (m, 5H), 1,17 (m, 8H) ppm.

Příklad 41

(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-[1-(4-methylphenylsulfonyl)piperidin-4-yl]-propanoyl]-4-fluoropyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[1-(4-methylphenylsulfonyl)piperidin-4-yl]propanová

K CH_3CN roztoku (150 ml) sloučeniny A z příkladu 12 (1,0 g, 3,00 mmol) byl přidán triethylamin (1,52 g, 15 mmol) a toluensulfonylchlorid (686 mg, 3,6 mmol). Po míchání 6 h byl acetonitril odstraněn ve vakuu a byly přidány H_2O (50 ml) a ethylacetát (300 ml). Oddělení ethylacetátové vrstvy následované sušením nad MgSO_4 a odstraněním rozpouštědla ve vakuu poskytlo pevnou látku, která byla promyta etherem a sušena ve vysokém vakuu za získání 1,09 g (2,56 mmol, 85% výtěžek) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

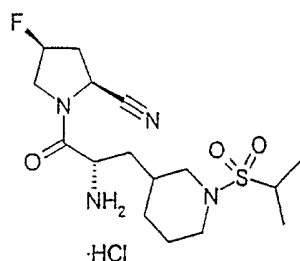
^1H NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) 400 MHz δ 12,4 (s (br), 1H), 7,61 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz), 7,42 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz), 7,13 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 4,27 - 4,21 (m, 1H), 3,98 - 3,95 (m, 1H), 3,58 - 3,52 (m, 1H), 2,98 - 2,91 (m, 1H), 2,42 (s, 3H), 2,21 - 2,20 (m, 1H), 1,81 - 1,50 (m, 6H), 1,39 (s, 9H), 1,21 - 1,08 (m, 1H) ppm.

B. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-[1-(4-methylphenylsulfonyl)piperidin-4-yl]-propanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K suchému DMF (25 ml) byly přidány sloučenina A (2,13 g, 5,0 mmol), HATU (1,90 g, 5,00 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (0,87 ml, 5,0 mmol). Po míchání při teplotě laboratoře 30 min byly přidány (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát (1,1 g, 3,75 mmol) a další N,N-diisopropylethylamin (0,65 ml, 3,75 mmol). Tento roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře 12 h a potom byl přidán nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (110 ml). Směs byla extrahována ethylacetátem (2 x 100 ml) a organické podíly byly promyty nasyceným NaCl (50 ml) a sušeny nad MgSO₄. Odstranění rozpouštědla ve vysokém vakuu poskytlo surovou pevnou látku, která byla čištěna chromatografií (silikagel, hexany/EtOAc 4 : 1) za poskytnutí pevné látky, která byla míchána v roztoku dioxan-HCl (4,0M, 20 ml) 2 h a potom byl přidán diethylether (100 ml). Získaná sraženina byla oddělena filtrací a sušena ve vysokém vakuu za získání 1,10 g (2,4 mmol, 64% výtěžek) sloučeniny B jako bílé pevné látky.

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 8,21 - 9,05 (s (br), 3H), 7,60 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 7,43 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 3,91 - 3,88 (m, 2H), 3,07 - 2,99 (m, 1H), 2,43 (s, 3H), 2,09 - 2,03 (m, 1H), 1,94 - 1,29 (m, 8H), 1,12 - 1,02 (m, 1H) ppm.

Příklad 42



(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-[1-(isopropylsulfonyl)piperidin-3-yl]-propanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[1-(isopropylsulfonyl)piperidin-3-yl]propanová

K CH_3CN roztoku (150 ml) sloučeniny A z příkladu 13 (1,0 g, 3,00 mmol) byl přidán triethylamin (1,52 g, 15 mmol) a isopropylsulfonylchlorid (513 mg, 3,6 mmol). Po míchání 6 h byl acetonitril odstraněn ve vakuu a potom byly přidány H_2O (50 ml) a ethylacetát (300 ml). Oddělení ethylacetátové vrstvy, usušení nad MgSO_4 a odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytlo pevnou látku, která byla promyta etherem a sušena ve vysokém vakuu za získání 926 mg (2,43 mmol, 81% výtěžek) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 122 (s (br), 1H), 7,18 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 3,94 - 3,89 (m, 1H), 3,55 - 3,49 (m (br), 2H), 3,35 - 3,30 (m, 2H), 2,89 - 2,85 (m, 1H), 2,62 - 2,57 (m, 1H), 1,91 - 1,42 (m, 5H), 1,39 (s, 9H), 1,19 (d, 6H) ppm.

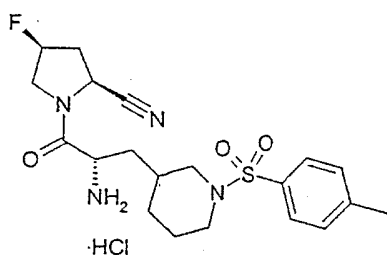
B. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-[1-(isopropylsulfonyl)piperidin-3-yl]-propanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K suchému DMF (25 ml) byly přidány sloučenina A (1,75 g, 4,62 mmol), HATU (1,76 g, 4,62 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (0,80 ml, 4,62 mmol). Po míchání při teplotě laboratoře 30 min byly přidány (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát (1,0 g, 3,47 mmol) a další N,N-diisopropylethylamin (0,60 ml, 3,47 mmol). Tento roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře 12 h a potom byl přidán nasycený hydrogenuhličitán sodný (110 ml). Směs byla extrahována ethylacetátem (2 x 100 ml) a organické podíly byly promyty nasyceným NaCl (50 ml) a sušena nad MgSO_4 . Odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytlo surovou pevnou látku.

Tato látka byla čištěna chromatografií (silikagel, hexany/EtOAc 4 : 1) za poskytnutí pevné látky, která byla míchána v roztoku dioxan-HCl (4,0 M, 20 ml) 2 h a potom byl přidán diethylether (100 ml). Získaná sraženina byla oddělena filtrací a sušena ve vysokém vakuu za získání 1,01 g (2,46 mmol, 71% výtěžek) sloučeniny B jako bílé pevné látky.

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 8,42 - 8,39 (s (br), 3H), 5,51 (d, 1H, $J = 51$ Hz), 5,06 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 4,07 - 4,01 (s (br), 1H), 3,98 - 3,84 (m, 2H), 3,52 - 3,49 (m, 1H), 3,41 - 3,27 (m (br), 4H), 3,09 - 3,02 (m, 1H), 2,98 - 2,80 (m, 1H), 2,65 - 2,61 (m, 1H), 1,77 - 1,63 (m, 6H), 1,18 (m, 8H) ppm.

Příklad 43



(2S,4S)-1-((2S)-2-Amino-3-[1-(4-methylfenylsulfonyl)piperidin-3-yl]-propanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. Kyselina (2S)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-[1-(4-methylfenylsulfonyl)piperidin-3-yl]propanová

K CH_3CN roztoku (150 ml) sloučeniny A z příkladu 13 (1,0 g, 3,00 mmol) byly přidány triethylamin (1,52 g, 15 mmol) a toluen-sulfonylchlorid (686 mg, 9,6 mmol). Po míchání 6 h byl acetonitril odstraněn ve vakuu a potom byly přidány H_2O (50 ml) a ethylacetát (300 ml). Oddělení ethylacetátové vrstvy, sušení nad MgSO_4 a odstranění rozpouštědla ve vakuu poskytlo pevnou látku, která byla promyta etherem a sušena ve vysokém vakuu za získání 946 mg

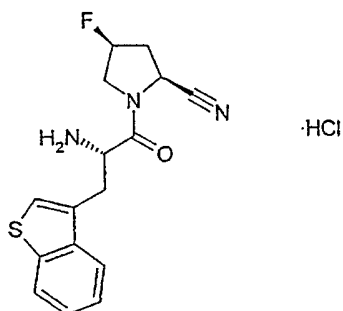
(2,22 mmol, 74% výtěžek) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

^1H NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) 400 MHz δ 12,4 (s (br), 1H), 7,61 (d, 2H, J = 8,2 Hz), 7,41 (d, 2H, J = 8,2 Hz), 7,15 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 3,98 - 3,91 (m, 1H), 3,45 - 3,41 (m, 2H), 2,42 (s, 3H), 2,21 - 2,20 (m, 1H), 2,05 - 1,95 (m, 1H), 1,87 - 1,45 (m, 6H), 1,42 (s, 9H), 1,21 - 1,08 (m, 1H) ppm.

B. (2S,4S)-1-((2S)-2-Amino-3-[1-(4-methylfenylsulfonyl)piperidin-3-yl]-propanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K suchému DMF (25 ml) byly přidány sloučenina A (2,13 g, 5,0 mmol), HATU (1,90 g, 5,00 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (0,87 ml, 5,0 mmol). Po míchání při teplotě laboratoře 30 min byly přidány (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát (1,1 g, 3,75 mmol) a další N,N-diisopropylethylamin (0,65 ml, 3,75 mmol). Tento roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře celkově 12 h a potom byl přidán nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (110 ml). Směs byla extrahována ethylacetátem (2 x 100 ml) a organické podíly byly promyty nasyceným NaCl (50 ml), sušeny nad MgSO_4 a zakoncentrovány do sucha za získání surové pevné látky. Pevná látka byla čištěna chromatografií (silikagel, hexany/EtOAc 4 : 1) za poskytnutí pevné látky, která byla míchána v roztoku dioxan-HCl (4,0M, 20 ml) 2 h a potom byl přidán diethylether (100 ml). Získaná sraženina byla oddělena filtrací a sušena ve vysokém vakuu za získání 1,17 g (2,55 mmol, 51% výtěžek) sloučeniny B jako bílé pevné látky.

^1H NMR ($\text{d}_6\text{-DMSO}$) 400 MHz δ 8,50 - 8,43 (s (br), 3H), 7,61 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 7,43 (d, 2H, J = 7,9 Hz), 5,51 (d, 1H, J = 51 Hz), 5,07 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 4,07 - 4,01 (br m, 1H), 3,91 - 3,83 (m, 1H), 3,48 - 3,40 (m, 2H), 3,17 - 3,05 (m, 2H), 2,57 - 2,51 (m, 1H), 2,38 (s, 3H), 1,84 - 1,23 (m, 8H), 1,07 - 1,05 (m, 1H) ppm.

Příklad 44

(2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-(1-benzothien-3-yl)propanoyl]-4-fluor-pyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

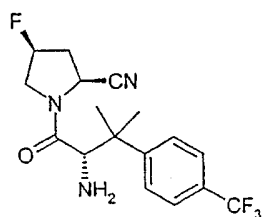
A. (2S,4S)-1-[(2S)-2-Amino-3-(1-benzothien-3-yl)propanoyl]-4-fluor-pyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K suchému DMF (25 ml) byly přidány (2S)-3-(1-benzothien-3-yl)-2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]propanová (1,92 g, 6,0 mmol), HATU (2,28 g, 6,0 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (1,05 ml, 6,0 mmol). Po míchání při teplotě laboratoře 30 min byly přidány (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát (1,31 g, 4,5 mmol) a další N,N-diisopropylethylamin (0,78 ml, 4,5 mmol). Tento roztok byl ponechán míchat při teplotě laboratoře 12 h a potom byl přidán nasycený roztok hydrogenuhličitanu sodného (110 ml). Směs byla extrahována ethylacetátem (2 x 100 ml) a organické podíly byly promyty nasyceným NaCl (50 ml), sušeny nad MgSO₄ a zakoncentrovány do sucha za získání surové pevné látky. Pevná látka byla čištěna chromatografií (silikagel, hexany/EtOAc 4 : 1) za poskytnutí pevné látky, která byla míchána v roztoku dioxan-HCl (4,0M, 20 ml) 2 h a potom byl přidán diethylether (100 ml). Sraženina byla oddělena filtrací a sušena ve vysokém vakuu za získání 1,0 g (2,84 mmol, 63% výtěžek) sloučeniny A jako bílé pevné látky.

¹H NMR (d₆-DMSO) 400 MHz δ 8,70 - 8,61 (s (br), 3H), 8,05 -

8,00 (m, 2H), 7,45 - 7,36 (m, 3H), 5,21 (d, 1H, $J = 51$ Hz), 5,01 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 4,23 - 4,20 (m, 1H), 3,71 (ddd, 1H, $J = 41,1, 12,3, 3,2$ Hz), 3,55 - 3,51 (m, 1H), 3,30 - 3,24 (m, 1H), 2,73 (q, 1H, $J = 12,1$ Hz), 2,39 - 2,14 (m, 2H) ppm.

Příklad 45



(2S,4S)-1-((2S)-2-Amino-3-methyl-3-[4-(trifluormethyl)fenyl]butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

A. 2-Methyl-2-[4-(trifluormethyl)fenyl]propanal

K toluenovému roztoku (90 ml) obsahujícímu 2-methyl-2-[4-(trifluormethyl)fenyl]propannitril (viz *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 712, Caron, S. a další, pro přípravu této sloučeniny) (5,54 g, 26,0 mmol) ochlazenému na -78 °C bylo přidáno 26,0 ml 1,5M toluenového roztoku DIBAL (39,0 mmol). Získaný roztok byl míchán při -78 °C 2,5 h, potom byla reakce ukončena vodným roztokem THF (105 ml/20 ml) obsahujícím octan sodný (6,6 g) a kyselinu octovou (6,6 ml). Po 5 min byla chladná lázeň odstraněna a míchání pokračovalo 20 min při teplotě laboratoře, a potom byly přidány celit a Et_2O . Po míchání dalších 30 min byl heterogenní roztok zfiltrován přes lože celitu. Celit byl důkladně propláchnut Et_2O a potom byla vodná vrstva oddělena. Organické podíly byly promyty H_2O , sušeny (MgSO_4) a rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu. Zbýlý olej byl čištěn chromatografií na koloně (5% EtOAc /hexany) za získání 4,22 g (19,5 mmol, 75%

výtěžek) sloučeniny A jako čirého oleje.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 9,52 (s, 1H), 7,63 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz), 7,39 (d, 2H, $J = 8,2$ Hz), 1,49 (s, 3H) ppm.

B. 2-Amino-3-methyl-3-[4-(trifluormethyl)fenyl]butannitril

K MeOH roztoku (10 ml) obsahujícímu sloučeninu A (1,87 g, 8,66 mmol) byly přidány 1,2 ml 30% NH_4OH , H_2O (6 ml) a kyanid draselný (592 mg, 9,09 mmol). K tomuto roztoku byl přidán chlorid amonný (510 mg, 9,53 mmol) při teplotě laboratoře. Po 1 h byl roztok zahříván na 70 °C po dobu 6 h. Po ochlazení byla reakční směs zředěna EtOAc a potom promyta nasyceným roztokem NaHCO_3 a H_2O . Po usušení nad MgSO_4 bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a zbytek čištěn chromatografií na koloně (EtOAc/hexany (3 : 2)) za získání 1,52 g (6,27 mmol, 72% výtěžek) sloučeniny B.

^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,63 (d, 2H, $J = 8,4$ Hz), 7,55 (d, 2H, $J = 8,5$ Hz), 3,80 [t, 1H, $J = 7,9$ Hz], 1,56 (s, 3H), 1,53 (s, 3H), 1,40 (d (br), 2H, $J = 6,9$ Hz) ppm.

C. Hydrochlorid kyseliny 2-amino-3-methyl-3-[4-(trifluormethyl)fenyl]-butanové

Do baňky obsahující sloučeninu B (2,96 g, 12,2 mmol) bylo přidáno 10 ml kyseliny octové, a potom 60 ml koncentrované HCl. Roztok byl potom zahříván pod zpětným chladičem přes noc a po ochlazení byla většina rozpouštědla odstraněna ve vakuu. Získaná bílá pevná látka byla smísena s roztokem Et₂/hexany (2 : 1) a oddělena vakuovou filtrací. Po evakuování na vysoké vakuum bylo získáno 3,13 g (10,5 mmol, 86% výtěžek) sloučeniny C jako bílé pevné látky.

^1H NMR ($\text{d}_4\text{-MeOH}$) 400 MHz δ 7,69 - 7,68 (m, 4H), 4,33 (s, 1H), 1,57 (s, 3H), 1,53 (s, 3H) ppm.

D. Kyselina 2-[(terc-butoxykarbonyl)amino]-3-methyl-3-[4-(trifluoromethyl)fenyl]butanová

K dioxanovému roztoku (30 ml)/H₂O (7 ml) obsahujícímu sloučeninu C (3,05 g, 102 mmol) bylo přidáno 12,8 ml 2,0M roztoku NaOH (25,6 mmol), potom di-t-butyldikarbonát (3,13 g, 14,4 mmol) při teplotě laboratoře. Roztok byl míchán přes noc a potom byl vlit do nasyceného roztoku NaHCO₃ a promyt Et₂O. Vrstva Et₂O byla promyta nasyceným roztokem NaHCO₃ a potom byly vodné vrstvy spojeny. Po okyselení 1,0M HCl byly organické podíly extrahovány EtOAc (2 x). Po usušení nad MgSO₄ bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu za získání 3,58 g (9,92 mmol, 97% výtěžek) sloučeniny D jako bílé pevné látky.

¹H NMR (CDCl₃) 400 MHz δ 7,57 (d, 2H, J = 8,2 Hz), 7,49 (d, 2H, J = 8,3 Hz), 4,99 (d (br), 1H, J = 9,2 Hz), 4,63 (d (br), 1H, J = 9,3 Hz), 1,45 (s, 3H), 1,44 (s, 3H), 1,36 (s, 9H) ppm.

E. Terc-butyl(1S)-1-[[[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-methyl-2-{4-(trifluormethyl)fenyl}propylkarbamát

K DMF roztoku (45 ml) obsahujícímu sloučeninu D (2,0 g, 5,54 mmol) byl přidán N,N-diisopropylethylamin (788 mg, 6,09 mmol), potom HATU (2,21 g, 5,82 mmol) při teplotě laboratoře. Získaný roztok byl míchán 30 min, potom byl přidán roztok DMF (27 ml) obsahující (2S,4S)-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril-4-methylbenzensulfonát (1,66 g, 5,82 mmol) a N,N-diisopropylethylamin (752 mg, 5,82 mmol). Po míchání přes noc byl roztok zředěn EtOAc a promyt H₂O (3 x), nasyceným roztokem NaHCO₃ a 1,0M HCl. Po usušení nad MgSO₄ bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a zbylý tmavý olej byl čištěn chromatografií na koloně (hexany/EtOAc/CH₂Cl₂ (5 : 4 : 1)). Byl získán materiál s nízkým R_f (610 mg, 1,37 mmol), kterým byl jediný stereoisomer zjištěný ¹H NMR a LC plus 335 mg materiálu s vysokým

R_f , který obsahoval požadovaný produkt, ale byl kontaminován další sloučeninou. Testováním *in vitro* se ukázalo, že materiál s nízkým R_f je (S)-diastereomer.

Diastereomer s nízkým R_f :

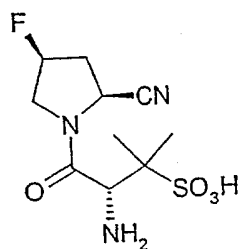
^1H NMR (CDCl_3) 400 MHz δ 7,65 - 7,60 (m, 2H), 7,59 - 7,55 (m, 2H), 5,29 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 5,06 (dt, 1H, $J = 51,1, 3,3$ Hz), 4,85 (d, 1H, $J = 9,4$ Hz), 4,34 (d, 1H, $J = 9,9$ Hz), 3,55 (ddd, 1H, $J = 3,4, 12,1, 36,2$ Hz), 2,70 (dd, 1H, $J = 12,3, 17,8$ Hz), 2,48 (t, 1H, $J = 15,4$ Hz), 2,15 (m, 1H), 1,53 (s, 3H), 1,51 (s, 3H), 1,40 (s, 9H) ppm.

F. (2S,4S)-1-((2S)-2-Amino-3-methyl-3-[4-(trifluormethyl)fenyl]-butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K CH_2Cl_2 roztoku (10 ml) obsahujícímu sloučeninu E (643 mg, 1,44 mmol, isomer s nízkým R_f) byla přidána TFA (1,65 g, 14,4 mmol) při teplotě laboratoře. Po 1 h bylo přidáno dalších 5 ekv. TFA a po celkově 2 h bylo rozpouštědlo odstraněno ve vakuu a zbylý olej rozpuštěn v 5 ml dioxanu. K roztoku bylo přidáno 10 ml 4,0M dioxanového roztoku HCl. Rozpouštědlo bylo odstraněno ve vakuu a potom byl přidán CH_2Cl_2 a Et_2O . Postup byl opakován 3 x, dokud se tvořila pevná látka. Pevná látka byla oddělena vakuovou filtrací za získání 406 mg (1,03 mmol, 72% výtěžek) sloučeniny F.

^1H NMR ($\text{d}_4\text{-MeOH}$) 400 MHz δ 7,74 - 7,66 (m, 4H), 5,13 (d (br), 1H, $J = 51,3$ Hz), 4,97 (d, 1H, $J = 9,3$ Hz), 4,25 (s, 1H), 3,52 (m, 1H), 2,74 (dd, 1H, $J = 22,0, 11,9$ Hz), 2,47 - 2,22 (m, 2H), 1,67 (s, 3H), 1,60 (s, 3H) ppm.

Příklad 46



Kyselina (3R)-3-amino-4-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]-2-methyl-4-oxobutan-2-sulfonová

A. Kyselina (4R)-2,2,5,5-tetramethyl-1,3-thiazolidin-4-karboxylová

K suspenzi L-penicilaminu (0,300 g, 2,01 mmol) v methanolu (2 ml) byl přidán aceton (4 ml, 54,5 mmol). Roztok se vyčeřil a byl míchán přibližně 3 hod, po kterých se znovu zakalil. Roztok byl zakoncentrován za poskytnutí 0,377 g sloučeniny A jako bílé pevné látky (99% výtěžek).

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 3,74 (s, 1H), 2,48 (m, 2H), 1,54 (m, 6H), 1,43 (s, 3H), 1,18 (s, 3H) ppm.

B. (2S,4S)-4-Fluor-1-[(4R)-2,2,5,5-tetramethyl-1,3-thiazolidin-4-yl]-karbonyl-pyrrolidin-2-karbonitril

Roztok sloučeniny A (0,256 g, 1,35 mmol), (2S,4S)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitriltosylátu (0,387 g, 1,35 mmol), 1-hydroxybenzotriazolhydrátu (0,182 g, 1,35 mmol) a N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu (0,279 g, 1,35 mmol) a N,N'-diisopropylethylaminu (0,280 ml, 1,63 mmol) v tetrahydrofuranu (13 ml) byl míchán přibližně 48 hod a potom zakoncentrován. Zbytek byl vložen do ethylacetátu a zfiltrován. Filtrát byl promyt vodným NaHCO_3 a roztokem soli. Organická vrstva byla sušena nad MgSO_4 a zakoncentrována. Surová směs byla čištěna chromatografií na silikagelu (5% MeOH/95% CHCl_3) za poskytnutí 0,171 g sloučeniny B jako bílé pevné látky (44% výtěžek).

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 5,48 (d, J = 50 Hz, 1H), 5,02 (m, 1H), 4,05 - 3,85 (m, 3H), 3,48 (m, 1H), 2,42 (m, 1H), 1,54 (m, 5H), 1,47 (s, 3H), 1,22 (s, 3H) ppm.

C. (2S,4S)-1-[(2R)-2-Amino-3-merkaptobutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid

K roztoku sloučeniny B (0,143 g, 0,501 mmol) v 50% obj./obj. voda/methanol (20 ml) byla přidána 1,0N HCl (0,550 ml, 0,550 mmol). Roztok byl míchán při přibližně 500 mbar (50 kPa) při přibližně 35 °C přibližně 1 h. Roztok byl zakoncentrován, vložen do tetrahydrofuranu, sušen nad MgSO_4 a znovu zakoncentrován, za poskytnutí 0,163 g sloučeniny C jako bělavé pevné látky (100% výtěžek).

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 8,61 (s, 1H), 5,54 (d, J = 52 Hz, 1H), 5,05 (d, J = 9 Hz, 1H), 4,28 - 3,89 (m, 4H), 2,47 (m, překrytí DMSO, 1H), 1,74 (m, 3H), 1,43 (m, 6H), 1,33 (s, 3H) ppm.

D. Terc-butyl(1R)-1-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]karbonyl]-2-merkaptobutanoyl-2-methylpropylkarbamát

K roztoku sloučeniny C (0,141 g, 0,501 mmol) a N,N-diisopropylethylaminu (0,090 ml, 0,526 mmol) v dichlormethanu (3 ml) byl přidán di(terc-butyl)dikarbonát (0,120 g, 0,551 mmol), potom další N,N-diisopropylethylamin (0,100 ml, 0,584 mmol). Roztok byl míchán přibližně 2 h a potom byl zakoncentrován. Surový materiál byl čištěn chromatografií na silikagelu (2% MeOH/98% CHCl_3) za poskytnutí 0,088 g sloučeniny D jako oleje, který krystalizoval na pevnou bílou látku (51% výtěžek).

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 6,99 (d, J = 9 Hz, 1H), 5,53 (d, J = 51 Hz, 1H), 4,97 (d, J = 7 Hz, 1H), 4,37 - 3,74 (m, 3H), 2,95 (s, 1H), 2,40 (m, 1H), 1,35 (m, 15H) ppm.

E. Kyselina (3R)-3-amino-4-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]-2-methyl-4-oxobutan-2-sulfonová

K roztoku sloučeniny D (4,412 g, 12,8 mmol) v methanolu (18 ml) byl přidán 30% vodný peroxid vodíku (5,9 ml). Roztok byl míchán přibližně 30 h, zakoncentrován, lyofilizován a sušen nad P_2O_5 při přibližně 40 °C po dobu alespoň 12 h. Surová směs byla vložena do roztoku 20% methanol/80% chloroform/kyselina octová a vysrážela se pevná látka. Suspenze byla zfiltrována za poskytnutí 0,607 g sloučeniny E jako růžové pevné látky (16% výtěžek).

^1H NMR (d_6 -DMSO) 400 MHz δ 8,12 (s, 3H), 5,50 (d, J = 50 Hz, 1H), 5,07 (d, J = 9 Hz, 1H), 4,27 - 3,30 (m, 6H), 2,30 (m, překrytí DMSO, 1H), 1,26 (s, 3H), 1,15 (s, 3H) ppm.

Biologické údaje

Materiály

H-Ala-Pro-pNA.HCl byl získán od firmy BACHEM Bioscience Inc. (produkt no. L-1115). Byl připraven 500 mM zásobní roztok s dimethylsulfoxidem, který byl skladován při -20 °C. Gly-Pro-AMC byl získán od firmy Enzyme System Products (produkt no. AMC-39) a uchováván při -20 °C ve formě 10 mM zásobního roztoku v dimethylsulfoxidu. Testované sloučeniny byly rozpuštěny na koncentraci 10 mM v dimethylsulfoxidu a takto získaný roztok byl používán jako zásobní roztok pro titrační analýzy DPP-IV. Čištěný lidský DPP-IV byl připraven firmou Athens Research and Technology, Inc. Materiál byl izolován z lidských prostatomů použitím metody autorů DeMeester a další, J. Immunol. Methods 189, 99 - 105 (1996).

Test aktivity DPP-IV

Dvojnásobná sériová ředění testovaných sloučenin ve 100% dimethylsulfoxidu byla prováděna v 96-jamkových polystyrenových destičkách s plochým dnem (Costar, #9017). Pro výpočet procenta inhibice byla jako kontrolní hodnota používána průměrná enzymatická aktivita změřená pro jamky obsahující dimethylsulfoxid, ale neobsahující testovanou sloučeninu. DPP-IV (20 ng/ml) byla smíchána v mikrotitračních destičkách s testovanými sloučeninami, substrátem a testovacím pufrém za získání roztoku s koncentracemi 100 μ M H-Ala-Pro-pNA.HCl v 25 mM Tris, pH 7,5, 10 mM KCl, 140 mM NaCl. Intaktní peptid obsahuje p-nitrofenylanilid, který hydrolýzou DPP-IV uvolňuje absorbující p-nitrofenylanilin. Absorbance byla monitorována ve 20 min intervalech při vlnové délce 387 nm s použitím odečítacího zařízení pro destičky Molecular Devices SpectraMax 250 absorbency plate reader. Enzymatická aktivita byla určena odhadem nejlepšího lineárního proložení získaných dat. Hodnoty pro enzymatickou aktivitu byly získány přímo z lineárního proložení provedeného softwarem na odečítacím zařízení pro destičky.

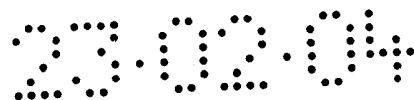
Analýza dat

Enzymatická aktivita byla určena odhadem nejlepšího lineárního proložení dat. Úprava dat byla provedena programem Microsoft Excel RoboSage.

Hodnoty IC_{50} byly zjišťovány následujícím způsobem: enzymatická aktivita byla vynesena proti koncentraci testované sloučeniny, včetně $[I] = 0$, a hodnota IC_{50} byla určena proložením údajů použitím rovnice 2

$$\text{rychlost} = V_{\max} / (1 + ([I]/IC_{50})) \quad (2)$$

kde



$V_{\max}$ je odhad nejlepšího proložení maximální enzymatické aktivity.

Určení hodnot K_i : hodnoty K_i byly vypočteny z hodnot IC_{50} použitím rovnice 3 za předpokladu kompetitivního modelu.

$$K_i = IC_{50} * [1 - \frac{S}{(S + K_m)}] \quad (3)$$

Pro každý příklad byly zdánlivé hodnoty $pK_i > 5,0$.

Test aktivity DPP-II

Přípravná destička obsahovala 5,3 μ l testované sloučeniny ve dvojnásobných sériových ředěních připravených na destičce. Do každé jamky přípravné destičky bylo přidáno 209 μ l pufru (100 mM octan sodný pH 5,5) s obsahem substrátu (H-Lys-Ala-pNA.HCl; produkt no. L-2085; BACHEM Bioscience, Inc.) a obsah destičky byl promíchán. Reakce byla zahájena přenesením 180 μ l roztoku substrátu/testované sloučeniny do testovací destičky obsahující 20 μ l enzymu. Konečné koncentrace v testovací destičce byly 100 nM enzymu a 1000 mM substrátu ve 100 mM NaOAc, pH 5,5, 2,5% DMSO v konečném objemu 200 μ l. Absorbance byla monitorována každých 20 min po dobu 5 hod při 387 nm s použitím odečítacího zařízení pro destičky Molecular Devices SpectraMax 250 absorbance plate reader.

Analýza dat

Enzymatická aktivita byla určena odhadem nejlepšího lineárního proložení dat. Zpracování dat bylo prováděno v programu Microsoft Excel RoboSage.

Určení hodnot IC_{50} bylo prováděno následujícím způsobem: enzymatická aktivita byla vynesena proti koncentraci testované sloučeniny včetně bodu $[I] = 0$, a hodnota IC_{50} byla určena proložením dat rovnicí 2

$$\text{rychlost} = V_{\max} / (1 + ([I]/IC_{50})) \quad (2)$$

kde

$V_{\max}$ je nejlepší odhad proložení maximální enzymatické aktivity.

Určení hodnot K_i : hodnoty K_i byly vypočteny z hodnot IC_{50} použitím rovnice 3 za předpokladu kompetitivního modelu.

$$K_i = IC_{50} * [1 - \frac{S}{(S + K_m)}] \quad (3)$$

Některé sloučeniny podle předkládaného vynálezu měly aktivitu pro DPP-II, například hodnoty $pK_i > 6,0$, zatímco jiné sloučeniny měly selektivní účinek na DPP-IV diskutovaný výše.

Studie in vivo

Samci myši CD1 shodného věku a hmotnosti byly umístěny jednotlivě při teplotě 22 °C a 50% relativní vlhkosti s 12 h cyklem světlo/tma. Zvířatům byla podávána orální sondou v množství 10 ml/kg vehikulum (0,5% methylcelulóza (HPMC) s 0,1% Tween 80) nebo testovaná sloučenina ve vehikulu s koncentrací 1 mg/kg. Zvířata byla anestetizována isofluoranem a v určených časech (0 až 6 h) byly odebrány vzorky krve. Aktivita DPP-IV v plasmě byla měřena použitím fluorogenního substrátu Gly-Pro-AMC (50 μ M) podle specifikací výrobce (Enzyme System Products, Livermore CA). Substrát byl

smísen s 50 mM Tris, pH 7,8 a 20% plasmy. Vzorky byly inkubovány 20 min při 30 °C a fluorescence byla měřena na přístroji cytofluor spektrofluoremeter s filtry nastavenými na 360 nm excitace a 460 nm emise.

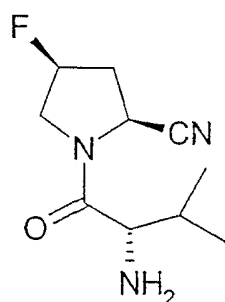
Srovnávací příklady

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu mají řadu výhodných vlastností. Aniž by si autoři přáli být omezeni teorií, předpokládá se, že výhodné vlastnosti sloučenin podle předkládaného vynálezu jsou způsobeny neočekávaným prospěšným vlivem dosaženým manipulací s rozložením substituentů u sloučenin vzorce (I). Výsledky srovnávacího testování ukazují několik překvapujících a neočekávaných výhodných vlastností. Srovnávací testy konkrétněji ukazují, že sloučeniny podle předkládaného vynálezu mají:

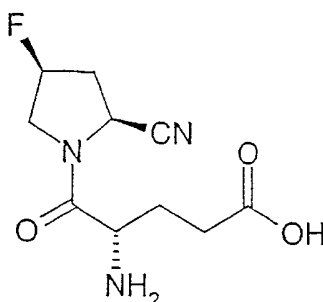
(i) zvýšenou účinnost, jak je charakterizována inhibicí aktivity DPP-IV, měřenou v plasmě; (ii) zvýšenou selektivitu; (iii) prodlouženou dobu účinku; a/nebo (iv) zlepšený bezpečnostní profil.

Srovnávací příklady

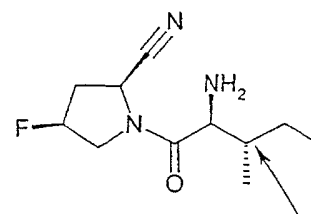
Srovnávací příklad 1



Srovnávací příklad 2

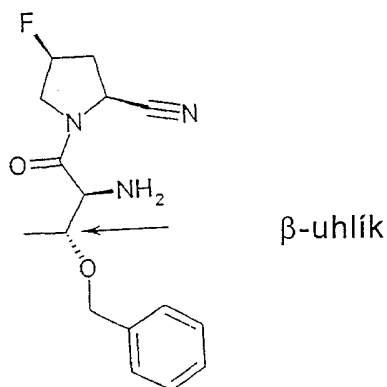


Srovnávací příklad 3

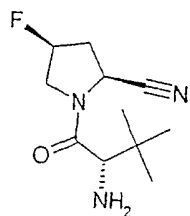


β-uhlík

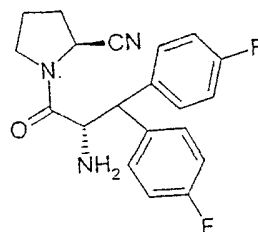
Srovnávací příklad 4



Srovnávací příklad 5



Srovnávací příklad 6



Srovnávací experiment I - Účinnost/doba působení

Co se týče inhibice dipeptidylpeptidáz, zvláště DPP-IV, bylo překvapivě zjištěno, že sloučeniny s vysokou afinitou k enzymu (tj. účinné sloučeniny) nemají nutně dobu účinku požadovanou pro dosažení léčebné účinnosti. Trvání účinku, jak se zde popisuje, zahrnuje schopnost sloučeniny zachovat si účinnost, zvláště terapeutickou účinnost, po delší dobu. Sloučenina s výhodnou dobou účinku poskytuje terapeutickou účinnost při podávání jednou denně. Režim s podáváním jednou denně, jak je ve farmacii všeobecně přijímáno, může být výhodný proti režimům s podáváním několikrát denně z důvodů ochoty pacienta spolupracovat a jeho pohodlí. Výhodné sloučeniny by měly tedy mít nejen dostatečnou účinnost, ale měly by také mít požadovanou délku působení.

Jak je však odborníkům v oboru známo, neexistuje korelace mezi účinností a délkou působení. Jinými slovy, i když sloučenina má vysokou afinitu pro enzym DPP-IV, tato sloučenina nemusí být nutně vhodnou dobu působení pro možné výhodné použití pro dávkování jedenkrát denně. Následující část ilustruje skutečnost, že není korelace mezi účinností a délkou působení. Následující údaje ilustrují vynález, ale neměly by být interpretovány jako omezující rozsah vynálezu.

Samci krys CD shodného věku a hmotnosti byli umístěni jednotlivě při teplotě 22 °C a 50% relativní vlhkosti s 12 h cyklem světlo/tma. Zvířatům byly orální sondou podávány vehikulum (10 mM kyselina octová) nebo 1 mg/kg testované sloučeniny ve vehikulu. Po 6 h podávání byly krysy anestezovány isofluoranem a byly jim odebírány vzorky krve ze srdce. Aktivita DPP-IV v séru byla měřena použitím fluorogenního substrátu Gly-Pro-AMC (50 mM) podle specifikace výrobce (Enzyme System Products, Livermore CA). Substrát byl smísen s 50 mM Tris, pH 7,8, v plasmě (20% finální koncentrace obj./obj.) a vzorky byly inkubovány po dobu 5 až 20 min při 30 °C. Aktivita DPP-IV byla určována měřením fluorescence použitím přístroje cytofluor spektrofluoremeter s filtry nastavenými na 360 nm excitace a 460 nm emise. Průměrné hodnoty a standardní odchylky pro každou skupinu (n = 3) byly vypočteny použitím Studentova t-testu a porovnány s krysami, kterým bylo podáno vehikulum, čímž bylo zjištěno procento inhibice, jak je ukázáno v tabulce I.

Tabulka I

	IC ₅₀ (nM) lidská DPP-IV	Procento inhibice DPP-IV v čase 6 h u krys
Srovnávací příklad 1	1,3	32 ± 3
Srovnávací příklad 2	3	32 ± 3
Srovnávací příklad 4	5,6	2,8 ± 0,1
Srovnávací příklad 5	3	71 ± 13
Příklad 2	22	68 ± 4
Příklad 9	9	64 ± 12

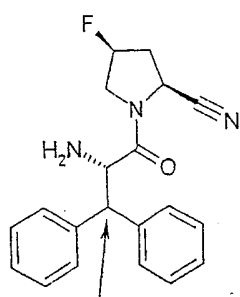
Jak je z tabulky zřejmé, sloučeniny ze srovnávacích příkladů 1, 2 a 4 mají vysokou účinnost, přičemž každá sloučenina má hodnotu IC₅₀ < 5,6 nM. Sloučeniny ilustrující předkládaný vynález, příklad 2 a příklad 9, mají odpovídající účinnost, tedy hodnoty IC₅₀ 22 a 72. Když byly srovnávací příklady 1, 2 a 4 testovány na délku působení, ve všech případech byla zjištěna nedostatečná délka působení. I když mají sloučeniny podle předkládaného vynálezu nižší účinnost, jejich délka působení je výhodná pro terapeutický profil jako celek.

Srovnávací příklad 5 byl zařazen, aby bylo možno dále ukázat, že není možno předpovídat vztah mezi účinností a délkou působení. Srovnávací příklad 5 konkrétněji ilustruje jednu sloučeninu, která má jak vysokou vazebnou afinitu, tak i délku působení. Vztah účinnosti a délky působení tedy nemůže být charakterizován přísně jako buď paralelní nebo inverzní vztah. Tento vztah spíše nelze předpovědět. Nedostatečná korelace mezi účinností a délkou působení způsobuje, že nelze předvídat tyto parametry u inhibitorů dipeptidylpeptidáz, konkrétně DPP-IV. Tento je dosud nebyl pozorován. Jak je ukázáno výše, samostatná data týkající se vazby mohou nebo nemusí být dostatečná pro zjištění terapeutické použitelnosti těchto sloučenin. Navíc k jiným zde diskutovaným vlastnostem mají sloučeniny podle

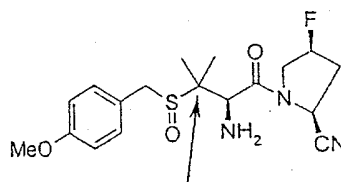
předkládaného vynálezu v požadované míře jak účinnost, tak i dobu působení.

Srovnávací experiment II β -substituce a cyklizace

Jak se zde popisuje, sloučeniny podle předkládaného vynálezu mají alespoň dvě identické β -substituce, tedy skupiny R^1 a R^2 jsou stejné. Sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou tedy di- β -substituované, jak je ukázáno na příkladech 1, popř. 10:



β -uhlík (příklad 1)



β -uhlík (příklad 10)

Jestliže se tedy jako příklad použije sloučenina z příkladu 10, je zde popsáno jedno výhodné provedení, kde skupiny R^1 a R^2 jsou vždy alkyl, výhodněji C_1 - C_6 alkyl, výhodněji methyl. Další výhodné provedení je ilustrováno příkladem 1, totiž sloučeninou, kde R^1 a R^2 jsou vždy aryl, výhodněji fenyl, a jak je ukázáno v příkladu 2, výhodněji fenyl substituovaný atomem halogenu, s výhodou fluoru. Di- β -substituované sloučeniny, jako jsou sloučeniny podle předkládaného vynálezu, obecně nemají sklon k cyklizaci s nitrilovou účinnou skupinou za vytvoření cyklického amidinu, a jsou proto stabilní.

Na druhé straně, mono- β -substituované sloučeniny, například sloučeniny ze srovnávacích příkladů 3 a 4 uvedených výše, ve kterých β -uhlík nemá dva identické substituenty, mají sklon k cyklizaci, a proto

mají relativně krátké poločasy stability měřené jako $t_{1/2}$.

Zvýšenou selektivitu také obecně mají sloučeniny s geminálním uspořádáním substituce na β -uhlíku („gem-substitution pattern“).

Studie stability sloučenin DPP-IV

Při typickém uspořádání se 0,2 - 0,5 mg sloučeniny rozpustí v 1 ml fyziologického roztoku s fosfátovým pufrém (PBS) v nádobce na vzorky pro HPLC a umístí se do autosampleru s termostatickým řízením teploty na 37 °C. Získá se chromatogram HPLC v počátečním čase a dále se získají chromatogramy HPLC v časech 24, 48, 72 atd. hodin.

Použitá metoda HPLC

Kolona: Phenomenex Luna C18(2), 3 μ , 100 x 4,6 mm,
termostatována na 40 °C

Mobilní fáze A: 95 : 5 : 0,2% voda : acetonitril : trifluoroctová kyselina

Mobilní fáze B: 5 : 95 : 0,2% voda : acetonitril : trifluoroctová kyselina

Průtok: 1 ml/min

Gradient: 0 - 100 % B v průběhu 15 min

Vlnová délka UV detekce: 215 nm

Plocha pod vrcholem léčivé látky se porovná s počáteční plochou každého chromatogramu a výsledky se vynesou jako procenta zbývajících látky vzhledem k počátečnímu času (t_0).

Porovnání poločasů ($t_{1/2}$) cyklizační/degradační reakce u sloučenin ukazuje zvýšenou stabilitu pro di- β -substituované sloučeniny, jako jsou sloučeniny z příkladů 2 a 9. Zvýšený poločas $t_{1/2}$ je přímo úměrný zvýšené stabilitě sloučeniny.

Tabulka 2

Sloučenina	$t_{1/2}$ při 37 °C
Příklad 9	1733 h
Příklad 2	266 h
Srovnávací příklad 4	33,5 h
Srovnávací příklad 3	23 h (vypočteno)* 47 h při 23 °C

*Pozn.: Pro srovnávací příklad 3 nebylo použito výše popsané nastavení teploty autosampleru, ale autosampler byl ponechán při laboratorní teplotě. Typicky způsobí zvýšení o 10 °C zdvojnásobení rychlosti reakce, takže dojde ke dvojnásobnému snížení $t_{1/2}$. Jak bude odborníkům v oboru zřejmé, touto úvahou vypočtený $t_{1/2}$ pro srovnávací příklad 3 by byl 1/2 (nebo méně) hodnoty změřené při teplotě laboratoře (23 °C).

Navíc k účinnosti a délce působení mají tedy sloučeniny podle předkládaného vynálezu také požadovanou stabilitu.

Srovnávací experiment III - Bezpečnostní profil

Pro splnění zákonných požadavků na bezpečnost se běžně používá jako druh odlišný od hlodavce pes. Pro zjištění bezpečnosti sloučenin podle předkládaného vynálezu byl použit pes bígl z důvodů obecných znalostí patologických stavů a reakcí na širokou řadu léčiv u tohoto kmene. Psi (Marshall Farms Inc., North Rose, NY, USA) stáří od 9 do 12 měsíců (5 až 12 kg) dostávali orální sondou 10 ml/kg/den vehikula (10 mM kyselina octová, pH 3,3) testované sloučeniny ve vehikulu. Po každé dávce následoval výplach přibližně 10 ml vody, jednou denně, 24 až 48 h mezi každou následující dávkou. Jestliže nebyla pozorována omezující gastrointestinální toxicita, dávka byla

trojnásobně zvýšena, ne dříve než přibližně 24 h po předcházející dávce. Omezující gastrointestinální toxicita zahrnoval průjem, řídkou nebo mukózní stolicí, krev ve stolici a odlupování střevního epitelu. Klinická pozorování byla prováděna alespoň třikrát denně v průběhu ošetřování (jednou před podáním dávky, přibližně 1 h po podání a jednou v souvislosti s viabilitou pm). Aktivita DPP-IV v séru byla měřena pomocí fluorogenního substrátu Gly-Pro-AMC (50 mM) podle specifikací výrobce (Enzyme System Products, Livermore CA). Substrát byl smísen s 50 mM Tris, pH 7,8, v séru (20% konečná koncentrace obj./obj.) a vzorky byly inkubovány po dobu 5 až 20 min při 30 °C. Aktivita DPP-IV byla zjišťována měřením fluorescence použitím přístroje cytofluor spectrofluoremeter s filtry nastavenými na 360 nm excitací a 460 nm emisí.

Sloučenina ilustrovaná výše jako srovnávací příklad 5 obsahuje relativně malou část P2 při zjištění pomocí molekulové hmotnosti. Popisovanou studií se zvyšováním dávky byly tedy testovány sloučeniny ze srovnávacího příkladu 5 a sloučeniny podle předkládaného vynálezu, které se zde popisují jako sloučeniny s velkou částí P2, tedy sloučeniny z příkladů 2 a 9.

Na základě studií se zvyšováním dávky u psů bylo zjištěno, že 0,3 mg/kg sloučeniny ze srovnávacího příkladu 5 způsobuje řídkou/mukoidní stolicí se stopami krve, zatímco 1 mg/kg sloučeniny podle předkládaného vynálezu z příkladu 9 nezpůsobil žádné vedlejší nepříznivé účinky. Po zvýšení dávky na 3 mg/kg však sloučenina z příkladu 9 způsobila řídkou/mukoidní stolicí se stopami krve.

Dvanáct hodin po orálním podání 0,2 mg/kg sloučeniny z příkladu 5 byla dosažena inhibice DPP-IV 2 %. Překvapivě bylo zjištěno, že 0,2 mg/kg sloučeniny z příkladu 9 inhibovalo DPP-IV o 76 %, což ukazuje, že sloučenina z příkladu 9 má významný inhibiční účinek na aktivitu DPP-IV v séru.

U dalších sloučenin podle předkládaného vynálezu nemělo

podobně 10 mg/kg sloučeniny z příkladu 2 žádné nepříznivé účinky z hlediska gastrointestinální toxicity, přičemž 0,5 mg/kg sloučeniny z příkladu 2 inhibovalo DPP-IV po 12 hodinách po orálním podávání o 45 %.

Na základě popsanych studií se zvyšováním dávky u psů jsou výhodné sloučeniny podle předkládaného vynálezu ilustrované sloučeninami z příkladů 2 a 9, které mají část P2 s větší molekulovou hmotností.

Srovnávací experiment IV - Fluorované sloučeniny proti nefluorovaným

Při testování sloučenin podle předkládaného vynálezu in vivo v časových intervalech od 0 do 10 h byla ukázána u fluorovaných sloučenin podle předkládaného vynálezu významně zvýšená inhibice DPP-IV ve srovnání s jejich nefluorovanými protějšky. Sloučeniny podle předkládaného vynálezu tedy mají neočekávanou účinnost, která dosud nebyla předpokládána. Například sloučenina z příkladu 2 a její nefluorovaná verze, sloučenina ze srovnávacího příkladu 6, byly porovnávány pro zjištění prospěšného vlivu substituentu 4-fluor. Překvapivě bylo zjištěno, že substituent 4-fluor dramaticky prodlužuje trvání komplexu enzym-inhibitor a poskytuje také významné zvýšení účinnosti. Tyto výhodné vlastnosti dosud nebyly zjištěny.

Tabulka 3

	IC ₅₀ (nM) lidská DPP-IV	% inhibice DPP-IV v 6 h u krys
Příklad 2	22	68 ± 4
Srovnávací příklad 6	151	15 ± 1

Všechny prováděné testy byly prováděny v souladu s principy

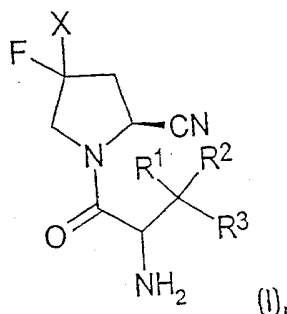
zacházejí s laboratorními zvířaty (publikace NIH No. 85 - 23, revize 1985) a politikou používání zvířat firmy GlaxoSmithKline.

Ačkoli byla podrobně ilustrována a popsána některá konkrétní provedení předkládaného vynálezu, vynález není na tato provedení omezen. Uvedený popis výhodných provedení se poskytuje pouze jako příklad a neměl by být považován za jakkoli omezující vynález. Odborníkům v oboru budou zřejmé různé modifikace, přičemž všechny modifikace, které se neodchylují od myšlenky vynálezu, jsou považovány za zahrnuté do rámce přiložených nároků.

Zastupuje:

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Sloučenina vzorce (I):



včetně jejich solí, solvátů a farmaceuticky funkčních derivátů,
ve které

X je F nebo H;

R¹ a R² jsou každá buď

(i) H;

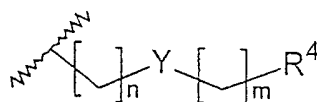
(ii) alkyl;

(iii) popřípadě substituovaný aryl nebo heteroaryl; nebo

(iv) jsou spojeny za vytvoření 3 až 14-členného kruhového
systému, popřípadě obsahujícího jeden nebo více
heteroatomů, a popřípadě obsahujícího jeden nebo více
stupňů nenasycenosti;

jestliže R¹ a R² mají význam (iii), potom R³ je H nebo alkyl;

jestliže R¹ a R² mají význam (i), (ii) nebo (iv), potom R³ je



kde n je 0 až 5;

m je 0 až 12;

Y je $S(O)_p$, O, alkylen, alkenylen, alkinylen nebo vazba;

p je 0 až 2;

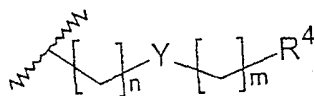
R^4 je R^5 , jestliže Y je S, O, alkylen, alkenylen, alkinylen, nebo vazba, kde R^5 je popřípadě substituovaný alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, cykloalkyl, heteroaryl nebo heterocyklyl;

R^4 je R^6 , jestliže Y je $S(O)$ nebo $S(O)_2$, kde R^6 je popřípadě substituovaný alkyl, aryl, cykloalkyl, heteroaryl, amino, alkylamino, arylamino, heteroarylamino, cykloalkylamino nebo hydroxy.

2. Sloučenina podle nároku 1, kde případný substituent je jedna nebo více skupin alkyl, alkoxy, aryloxy, halogen, haloalkyl, kyano, alkylsulfonyl nebo aryl.
3. Sloučenina podle nároku 2, kde případný substituent je jedna nebo více skupin C_1-C_6 alkyl, C_1-C_6 alkoxy, fenoxi, benzoxy, fluor, chlor, C_1-C_6 haloalkyl, kyano, C_1-C_6 alkylsulfonyl, fenyl nebo benzyl.
4. Sloučenina podle nároku 1, kde R^1 a R^2 jsou každá aryl, a R^3 je H.
5. Sloučenina podle nároku 4, kde každá ze skupin aryl je fenyl.
6. Sloučenina podle nároku 5, kde každá ze skupin fenyl je substituovaná atomem halogenu.

7. Sloučenina podle nároku 6, kde každý z atomů halogenu je fluor.

8. Sloučenina podle nároku 1, kde R^1 a R^2 jsou každá alkyl a R^3 je



9. Sloučenina podle nároku 8, kde každá skupina alkyl je C_1 - C_6 alkyl.

10. Sloučenina podle nároku 9, kde každá skupina alkyl je methyl.

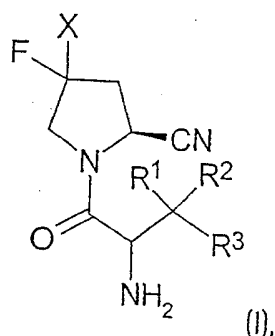
11. Sloučenina podle nároku 10, kde n je 0, m je 1 a Y je $S(O)_p$.

12. Sloučenina podle nároku 11, kde p je 0, R^4 je R^5 a R^5 je popřípadě substituovaný aryl.

13. Sloučenina podle nároku 12, kde R^5 je fenyl substituovaný skupinou alkoxy.

14. Sloučenina podle nároku 13, kde skupina alkoxy je methoxy.

15. Sloučenina podle nároku 11, kde p je 1 nebo 2, R^4 je R^6 , a R^5 je popřípadě substituovaný aryl.
16. Sloučenina podle nároku 15, kde R^6 je fenyl substituovaný skupinou alkoxy.
17. Sloučenina podle nároku 16, kde skupina alkoxy je methoxy.
18. Sloučenina podle nároku 17, kde p je 1.
19. Sloučenina podle nároku 17, kde p je 2.
20. Sloučenina podle nároku 1, kde zobrazená skupina NH_2 je v konfiguraci cis vzhledem k zobrazené nitrilové účinné skupině.
21. Sloučenina podle nároku 1, zobrazená skupina NH_2 je v konfiguraci trans vzhledem k zobrazené nitrilové účinné skupině.
22. Sloučenina podle nároku 1, kde A je H.
23. Sloučenina podle nároku 1, kde zobrazená skupina F je v konfiguraci cis vzhledem k zobrazené nitrilové skupině.
24. Sloučenina vzorce (I):



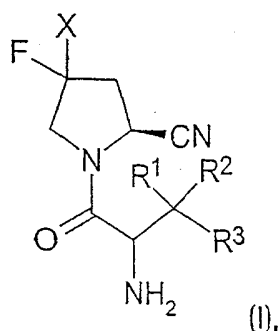
včetně solí, solvátů a farmaceuticky funkčních derivátů, kde

X je F nebo H;

R^1 a R^2 jsou každá popřípadě substituovaný aryl nebo heteroaryl; a

R^3 je H nebo alkyl.

25. Sloučenina vzorce (I):



včetně solí, solvátů a farmaceuticky funkčních derivátů, kde

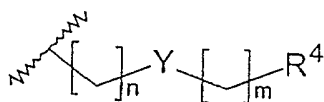
X je F nebo H;

R^1 a R^2 jsou každá buď

(iii) alkyl; nebo

(iv) jsou spojeny za vytvoření 3 až 14-členného kruhového systému popřípadě obsahujícího jeden nebo více heteroatomů, a popřípadě obsahujícího jeden nebo více stupňů nenasycenosti;

R^3 je



kde n je 0 až 5;

m je 0 až 12;

Y je $S(O)_p$, O, alkylen, alkenylen nebo alkinylen;

p je 0 až 2;

R^4 je R^5 , jestliže Y je S, O, alkylen, alkenylen nebo alkinylen, kde R^5 je popřípadě substituovaný alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, cykloalkyl, heteroaryl nebo heterocyklyl;

R^4 je R^6 , jestliže Y je $S(O)$ nebo $S(O)_2$, kde R^6 je popřípadě substituovaný alkyl, aryl, cykloalkyl, heteroaryl, amino, alkylamino, arylamino, heteroarylamino, cykloalkylamino nebo hydroxy.

26. Sloučenina podle nároku 25, kde p je 1 nebo 2.

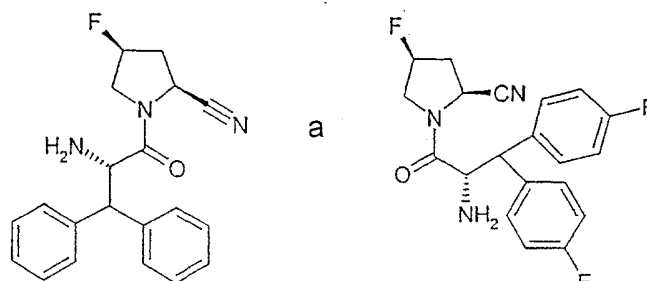
27. Sloučenina podle nároku 26, kde p je 2.

28. Sloučenina podle nároku 25, kde R^1 a R^2 jsou každá alkyl.

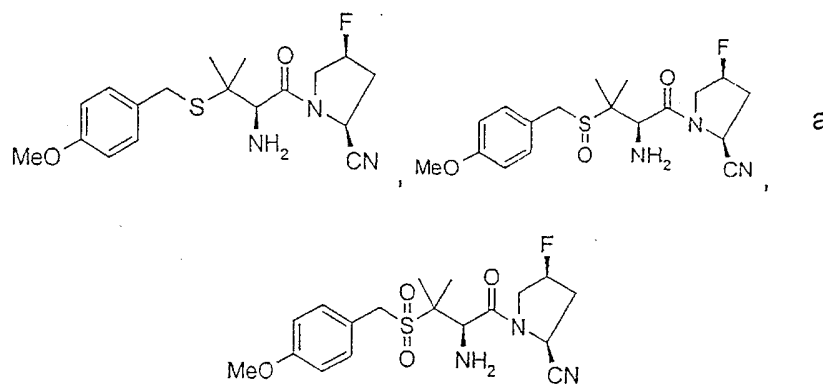
29. Sloučenina podle nároku 28, kde R^1 a R^2 jsou každá C_1 - C_6 alkyl.

30. Sloučenina podle nároku 29, kde R^1 a R^2 jsou každá methyl.

31. Sloučenina zvolená z:



32. Sloučenina zvolená z:



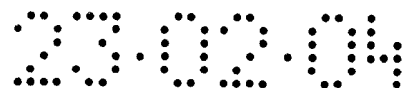
33. Sloučenina zvolená ze skupiny:

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3,3-difenypropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3,5-bis(4-fluorfenyl)propanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-5-(4-fluorfenyl)-3,3-dimethylpentanoyl]-4-fluor-2-pyrrolidinkarbonitril hydrochlorid;

(2S,4R)-1-[(2S)-2-amino-4-(4-fluorfenyl)-3,3-dimethylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;



(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(4-methoxybenzyl)thio]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(3-fenylpropyl)thio]-butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(2-fenylethyl)thio]butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-{[3-(4-fluorfenyl)propyl]thio}-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(4-methoxybenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(4-methoxybenzyl)sulfinyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-{[4-(trifluormethyl)benzyl]-thio}-butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-2-(1-vinylcyklopentyl)ethanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-5-(4-methoxyfenyl)-3,3-dimethylpentanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(3-fenylpropyl)sulfonyl]-butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(4-methylbenzyl)sulfonyl]-butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-{[4-(benzyloxy)benzyl]sulfonyl}-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(4-kyanobenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-{[4-(methylsulfonyl)benzyl]-sulfonyl}butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril;

- (2S,4S)-1-((2S)-2-amino-2-[1-(4-fluorbenzyl)cyklopentyl]-ethanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2S)-2-amino-2-[1-[4-(trifluormethyl)fenyl]cyklopentyl]-ethanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2S)-2-amino-2-[1-(4-fluorbenzyl)cyklopropyl]-ethanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-[(2R)-2-amino-3-(benzylsulfonyl)-3-methylbutanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(3-methoxybenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(1,1'-bifenyl-4-ylmethyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(2-methoxybenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(pyridin-3-ylmethyl)thio]-butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(pyridin-2-ylmethyl)thio]-butanoyl)-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(pyridin-4-ylmethyl)thio]-butanoyl)-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(4-fluorbenzyl)sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(3-fenoksybenzyl)sulfonyl]-butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;
- (2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(3-fenoksybenzyl)thio]-butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[[5-chlor-1,1-dioxido-1-benzothien-3-yl)-methyl]sulfonyl]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-[(2,1,3-benzoxadiazol-5-ylmethyl)-thio]-3-methylbutanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2R)-2-amino-3-methyl-3-[(pyridin-4-ylmethyl)-sulfonyl]-butanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-pyridin-4-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-pyridin-3-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-piperidin-4-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril dihydrochlorid;

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-piperidin-3-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril dihydrochlorid;

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-piperidin-2-ylpropanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril dihydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2S)-2-amino-3-[1-(isopropylsulfonyl)piperidin-4-yl]-propanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2S)-2-amino-3-[1-(4-methylfenylsulfonyl)piperidin-4-yl]-propanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2S)-2-amino-3-[1-(isopropylsulfonyl)piperidin-3-yl]-propanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-((2S)-2-amino-3-[1-(4-methylfenylsulfonyl)piperidin-3-yl]-propanoyl)-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-(1-benzothien-3-yl)propanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid;

(2S,4S)-1-[(2S)-2-amino-3-methyl-3-[4-(trifluormethyl)fenyl]-
-butanoyl]-4-fluorpyrrolidin-2-karbonitril hydrochlorid; a

(3R)-3-amino-4-[(2S,4S)-2-kyano-4-fluorpyrrolidin-1-yl]-2-
-methyl-4-oxobutan-2-sulfonová kyselina.

34. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m ,
ž e obsahuje sloučeninu podle nároků 1 až 33.
35. Farmaceutický prostředek podle nároku 34,
v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e dále obsahuje
farmaceuticky přijatelný nosič.
36. Způsob inhibice proteázy štěpící za prolinem/alaninem,
v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e zahrnuje podávání
sloučeniny podle nároků 1 až 33.
37. Způsob podle nároku 36, v y z n a č u j í c í s e t í m ,
ž e proteáza štěpící za prolinem/alaninem je serinová
proteáza.
38. Způsob podle nároku 37, v y z n a č u j í c í s e t í m ,
ž e serinová proteáza je dipeptidylpeptidáza.
39. Způsob podle nároku 38, v y z n a č u j í c í s e t í m ,
ž e dipeptidylpeptidáza je DPP-II.
40. Způsob podle nároku 38, v y z n a č u j í c í s e t í m ,
ž e dipeptidylpeptidáza je DPP-IV.

41. Způsob léčení nebo prevence metabolických poruch, gastrointestinálních poruch, virových onemocnění, zánětlivých onemocnění, diabetu, obezity, hyperlipidemie, poruch kůže nebo slizničních membrán, lupénky, onemocnění střev, zácpy, autoimunitních onemocnění, encefalomyelitidy, onemocnění podmíněných komplementem, glomerulonefritidy, lipodystrofie, poškození tkání, psychosomatických, depresivních a neuropsychiatrických poruch, infekce HIV, alergií, zánětu, artritidy, odmítnutí transplantátu, vysokého krevního tlaku, městnavého selhání srdce, tumorů a potratů indukovaných stresem, v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e zahrnuje podávání sloučeniny podle nároků 1 až 33.
42. Způsob podle nároku 41, v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e sloučenina podle nároků 1 až 33 se podává pro léčení nebo prevenci diabetu.
43. Použití sloučeniny podle nároků 1 až 33 při výrobě farmaceutického prostředku pro inhibici proteázy štěpící za prolinem/alaninem.
44. Použití podle nároku 43, kde proteáza štěpící za prolinem/alaninem je serinová proteáza.
45. Použití podle nároku 44, kde serinová proteáza je dipeptidylpeptidáza.
46. Použití podle nároku 45, kde dipeptidylpeptidáza je DPP-II.

47. Použití podle nároku 45, kde dipeptidylpeptidáza je DPP-IV.
48. Použití sloučeniny podle nároků 1 až 33 při výrobě farmaceutického prostředku pro léčení nebo prevenci metabolických poruch, gastrointestinálních poruch, virových onemocnění, zánětlivých onemocnění, diabetu, obezity, hyperlipidemie, poruch kůže nebo slizničních membrán, lupénky, onemocnění střev, zácpy, autoimunitních onemocnění, encefalomyelitidy, onemocnění podmíněných komplementem, glomerulonefritidy, lipodystrofie, poškození tkání, psychosomatických, depresivních a neuropsychiatrických poruch, infekce HIV, alergií, zánětu, artritidy, odmítnutí transplantátu, vysokého krevního tlaku, městnavého selhání srdce, tumorů a potratů indukovaných stresem.
49. Sloučenina podle nároků 1 až 33 pro použití jako účinná léčivá látka.
50. Sloučenina podle nároků 1 až 33 pro použití při výrobě farmaceutického prostředku pro inhibici serinové proteázy.
51. Sloučenina podle nároků 1 až 33 pro použití pro použití při výrobě farmaceutického prostředku pro léčení nebo prevenci metabolických poruch, gastrointestinálních poruch, virových onemocnění, zánětlivých onemocnění, diabetu, obezity, hyperlipidemie, poruch kůže nebo slizničních membrán, lupénky, onemocnění střev, zácpy, autoimunitních onemocnění, encefalomyelitidy, onemocnění podmíněných komplementem, glomerulonefritidy, lipodystrofie, poškození

tkání, psychosomatických, depresivních a neuropsychiatrických poruch, infekce HIV, alergií, zánětu, artritidy, odmítnutí transplantátu, vysokého krevního tlaku, městnavého selhání srdce, tumorů a potratů indukovaných stresem.

Zastupuje: