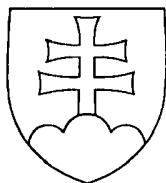


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA VYNÁLEZU

- (22) Dátum podania: 05.06.97
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 9602263-7
(32) Dátum priority: 07.06.96
(33) Krajina priority: SE
(40) Dátum zverejnenia: 06.08.99
(86) Číslo PCT: PCT/SE97/00989, 05.06.97

(21) Číslo dokumentu:

1653-98

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.⁶:

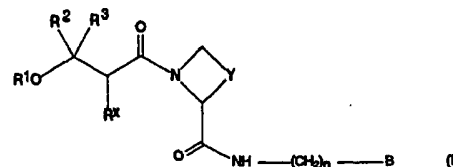
C 07K 5/06,
A 61K 38/05,
C 07K 38/55

(71) Prihlasovateľ: ASTRA AKTIEBOLAG, Södertälje, SE;

(72) Pôvodca vynálezu: Gustafsson David, Kullavik, SE;
Nyström Jan-Erik, Lindome, SE;

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Deriváty aminokyselín a ich použitie ako inhibítory trombínu**

(57) Anotácia:
Zlúčeniny všeobecného vzorca (I), v ktorom R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , Y, n a B majú významy uvedené v patentových nárokoch, ich farmaceuticky prijateľné soli ako inhibítory proteáz podobných trypsínu, najmä trombínu, spôsob ich výroby, farmaceutické kompozície s ich obsahom a ich použitie na výrobu liečiva na liečenie stavov, pri ktorých sa vyžaduje inhibícia trombínu, napríklad trombóza, alebo na výrobu antikoagulačného činidla.



Deriváty aminokyselín a ich použitie ako inhibítory trombínu

Oblasť techniky

Tento vynález sa týka nových farmaceuticky využiteľných zlúčenín, predovšetkým konkurenčných inhibítorov serínových proteáz podobných trypsínu, najmä trombínu, ich použitia ako medikamentov, farmaceutických kompozícií, ktoré ich obsahujú a syntetických spôsobov ich prípravy.

Doterajší stav techniky

Koagulácia krvi je kľúčovým procesom, ktorý sa týka jednak hemostázy (napríklad prevencie straty krvi z poškodených ciev) ako aj trombózy (napríklad tvorby krvných zrazenín v krvných cievach, ktoré vedie k upchatiu ciev).

Koagulácia je následkom komplexnej série enzymatických reakcií. Jedným z elementárnych krokov v tejto sérii reakcií je konverzia proenzýmu protrombínu na aktívny enzým trombín.

Je známe, že trombín hrá kľúčovú úlohu pri koagulácii. Aktivuje krvné doštičky, čo vedie ku zhlukovaniu krvných doštičiek, konvertuje fibrinogén na monoméry fibrínu, ktoré spontánne polymerizujú na polyméry fibrínu a aktivuje faktor XIII, ktorý naopak zosieťuje polyméry na vzniku nerozpustného fibrínu. Okrem toho trombín aktivuje faktor V a faktor VIII, čo vedie k vytvoreniu "pozitívnej spätnej väzby" trombínu z protrombínu.

Inhibíciou zhlukovania krvných doštičiek a tvorbou a zosieťovaním trombínu by sa teda dalo očakávať, že účinné inhibítory trombínu by mali vykazovať antitrombotickú aktivitu. Navyše, dalo by sa očakávať zvýšenie antitrombotickej aktivity pri účinnej inhibícii mechanizmu pozitívnej spätnej väzby.

Raný vývoj inhibítorov trombínu s nízkou molekulovou hmotnosťou opísal Claesson v Blood Coagul. Fibrinol. (1994) 5, 411.

Blombäck a kol. (J. Clin. Lab. Invest. 24, suppl. 59, (1969)) opísali inhibítory trombínu na báze aminokyselinového sledu situovaného okolo štiepnej strany fibri-

nogénu A α reťazca. Pre uvedené aminokyselinové sledy, títo autori navrhli tripeptidylový sled Phe-Val-Arg (P9-P2-P1, ďalej uvádzané ako P3-P2-P1 sled), ktorý by mohol byť najúčinnnejším inhibítorom.

Inhibítory trombínu na báze dipeptidylových derivátov s α,ω -aminoguanidínom v P1-polohe sú známe z amerického patentu US 4,346,078 a medzinárodnej patentovej prihlášky WO 93/11152. Podobne boli tiež opísané štruktúrne príbuzné dipeptidylové deriváty. Napríklad medzinárodná patentová prihláška WO 94/29336 uvádza zlúčeniny napríklad s aminometylbenzamidínmi, cyklickými aminoalkylamidínmi a cyklickými aminoalkylguanidínmi v P1-polohe, európska patentová prihláška 0 648 780 opisuje zlúčeniny napríklad s cyklickými aminoalkylguanidínmi v P1-polohe.

Inhibítory trombínu na báze peptidylových derivátov, ktoré obsahujú tiež aminoalkylguanidíny (napríklad buď 3- alebo 4-aminometyl-1-amidinopiperidín) v polohe P1 sú známe z európskej patentovej prihlášky 0 468 231, 0 559 046 a 0 641 779.

Inhibítory trombínu na báze tripeptidylových derivátov s argininaldehydom v P1-polohe boli po prvý raz zverejnené v európskej patentovej prihláške 0 185 390.

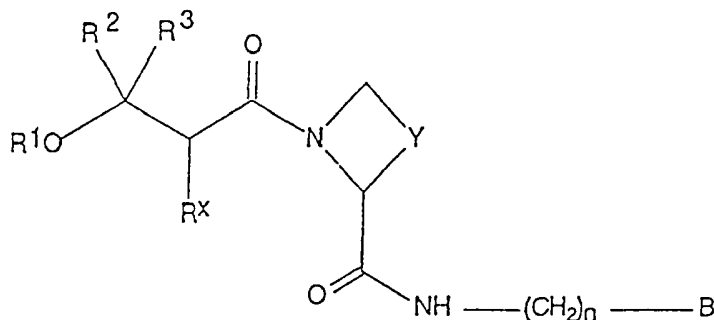
Pred nedávnom boli opísané peptidylové deriváty na báze arginín aldehydu, modifikované v P3-polohe. Napríklad medzinárodná patentová prihláška WO 93/18060 opisuje hydroxykyseliny, európska patentová prihláška 0 526 877 deaminokyseliny a európska patentová prihláška 0 542 525 O-metylmandľovú kyselinu v P3-polohe.

Inhibítory serín proteáz (napríklad trombín) na báze elektrofilných ketónov v P1-polohe sú taktiež známe. Napríklad európska patentová prihláška 0 195 212 opisuje peptidyl- α -keto estery a amidy, európska patentová prihláška 0 362 002 fluóralkylamidketóny, európska patentová prihláška 0 364 344 α,β,δ -triketo zlúčeniny a európska patentová prihláška 0 530 167 α -alkoxyketónové deriváty arginínu v P1-polohe.

Pred nedávnom boli v európskej patentovej prihláške O 669 317 a v medzinárodných patentových prihláškach WO 95/35309, WO 95/23609 a WO 94/29336 zverejnené inhibitory trombínu na báze peptidylových derivátov

Avšak pretrváva tu potreba účinného inhibítora serín proteáz podobného trypsinu, ako je trombín. Sú predovšetkým potrebné zlúčeniny, ktoré sú jednak orálne biovyužiteľné a tiež selektívnejšie pri inhibícii trombínu ako iné serín proteázy. Dalo by sa očakávať, že zlúčeniny, ktoré vykazujú konkurenčnú inhibičnú aktivitu voči trombínu budú špecificky využiteľné ako antikoagulanty a teda použiteľné pri pri terapeuticknej liečbe trombózy a príbuzných ochorení.

Vynález sa týka zlúčenín všeobecného vzorca I



R¹ predstavuje H, C(O)R¹¹, SiR¹²R¹³R¹⁴ alebo C₁₋₆alkyl, pričom posledne uvedená skupina môže byť substituovaná alebo zakončená jedným alebo viacerými substituentami vybranými zo OR¹⁵ alebo (CH₂)_qR¹⁶,

R^{12} , R^{13} a R^{14} nezávisle od seba predstavujú H, fenyl alebo C_{1-6} alkyl,

R^{16} predstavljuje C_{1-4} alkyl fenyl, OH, $C(O)OR^{17}$ alebo $C(O)N(H)R^{18}$,

R^{18} znamená H, C_{1-4} alkyl alebo $CH_2C(O)OR^{19}$,

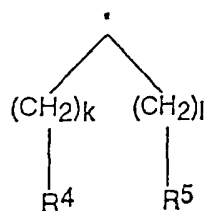
R^{15} a R^{17} nezávisle od seba znamenajú H, C_{1-6} alkyl alebo C_{7-9} alkylfenyl,

R^{11} a R^{19} nezávisle od seba predstavujú H alebo C_{1-4} alkyl a

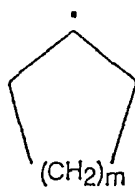
q znamená 0, 1 alebo 2,

R^2 a R^3 nezávisle od seba znamenajú H, C_{1-4} alkyl, cyklohexyl alebo fenyl,

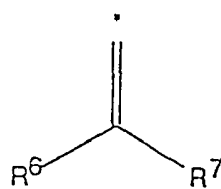
R^x predstavuje štruktúrny fragment vzorca IIa, IIb alebo IIc,



IIa



IIb



IIc

v ktorom

k, l a m nezávisle od seba znamenajú 0, 1, 2, 3 alebo 4

R^4 a R^5 nezávisle od seba predstavujú H, $Si(Me)_3$, 1- alebo 2-naftyl, polycyklickú uhl'ovodíkovú skupinu, $CHR^{41}R^{42}$ alebo C_{1-4} alkyl (pričom posledne menovaná skupina je prípadne substituovaná jedným alebo viacerými atómami fluóru) alebo C_{3-8} cykloalkyl, fenyl, metyléndioxyfenyl, benzodioxanyl, benzofuranyl, dihydrobenzofuranyl, benzotiazolyl, benzoxazolyl, benzimidazolyl, kumaranyl, kumarinyl alebo dihydrokumarinyl (pričom posledných dvanásť skupín je prípadne substituovaných jedným alebo viacerými zvyškami vybranými zo skupiny ako je C_{1-4} alkyl, (ktorý môže byť prípadne substituovaný jedným alebo viacerými substituentami zvolenými z halogénu), C_{1-4} alkoxy, halogén, hydroxyskupina, kyanoskupina, nitroskupina, SO_2NH_2 , $C(O)OH$ alebo $N(H)R^{43}$),

R^{41} a R^{42} nezávisle od seba predstavujú cyklohexyl alebo fenyl,

R^6 a R^7 nezávisle od seba predstavujú H, C_{1-4} alkyl, C_{3-8} cykloalkyl, fenyľ (pričom posledne uvedená skupina je prípadne substituovaná jedným alebo viacerými zvyškami vybranými zo skupiny ako je C_{1-4} alkyl, (ktorý môže byť prípadne substituovaný jedným alebo viacerými substituentami zvolenými z halogénu), C_{1-4} alkoxy, halogén, hydroxyskupina, kyanoskupina, nitroskupina, SO_2NH_2 , $C(O)OH$ alebo $N(H)R^{44}$), alebo spolu s atómom uhlíka na ktorý sú viazané tvoria C_{3-8} cykloalkylový kruh,

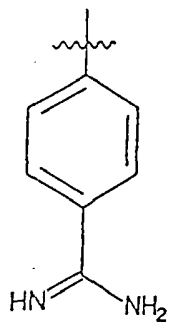
R^{43} a R^{44} , predstavujú nezávisle od seba H alebo $C(O)R^{45}$, a

R^{45} znamená H, C_{1-4} alkyl alebo C_{1-4} alkoxy,

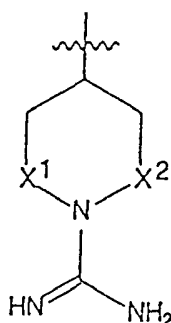
Y predstavuje CH_2 , $(CH_2)_2$, $CH=CH$, $(CH_2)_3$, $CH_2CH=CH$ alebo $CH=CHCH_2$, pričom posledne tri menované skupiny sú prípadne substituované skupinou C_{1-4} alkyl, metylén, oxo alebo hydroxy,

n znamená 0, 1, 2, 3 alebo 4 a

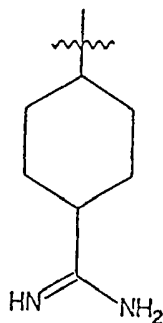
B predstavuje štruktúrny fragment vzorca IVa, IVb alebo IVc



IVa



IVb



IVc

v ktorom

X^1 a X^2 nezávisle od seba predstavujú jednoduchú väzbu alebo CH_2 ,

alebo ich farmaceuticky prijateľné soli.

Zlúčeniny vzorca I môžu vykazovať tautomériu. Všetky tautomérické formy a ich zmesi sú zahrnuté do rozsahu vynálezu.

Zlúčeniny vzorca I môžu tiež obsahovať jednu alebo viac asymetrických atómov uhlíka a môžu teda vykazovať optickú stereoizomériu a/alebo diastereoizomériu. Všetky diastereoizomérické formy sa môžu oddeliť s použitím bežných metód, napríklad chromatografie alebo frakčnej kryštalizácie. Rozličné stereoizoméry sa môžu izolovať rozdelením racemickej alebo inej zmesi zlúčenín s použitím konvenčných metód, napríklad frakčnej kryštalizácie alebo HPLC. Alternatívne sa požadované optické izoméry môžu pripraviť reakciou vhodných opticky aktívnych východiskových materiálov pri podmienkach, ktoré nespôsobujú racemizáciu alebo epimerizáciu, alebo derivatizáciou, napríklad s homochirálnou kyselinou, a následnou separáciou diastereoizomérnych derivátov konvenčnými prostriedkami (napríklad HPLC, chromatografia na oxide kremičitom). Všetky stereoizoméry sú zahrnuté do rozsahu vynálezu.

Alkyllové skupiny, ktoré môžu znamenať R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^{11} , R^{12} , R^{13} , R^{14} , R^{15} , R^{16} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , a R^{45} , a v ktorých môžu byť substituované R^4 , R^5 , a Y, alkoxylové skupiny, ktoré môže znamenať R^{45} , a ktorými môžu byť substituované R^4 , a R^5 , cykloalkyllové skupiny, ktoré môžu znamenať R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^{41} , a R^{42} , a alkylfenylové skupiny, ktoré môžu znamenať R^{15} a R^{17} , môžu byť lineárne alebo rozvetvené a môžu byť nasýtené alebo nenasýtené.

Halogénové skupiny, ktorými môžu byť substituované R^4 , R^5 , R^6 a R^7 a ktorými môžu byť substituované substituenty na R^4 , R^5 , R^6 a R^7 , zahrňujú fluór, chlór a bróm.

Bodky pripojené k atómom uhlíka vo fragmentoch vzorca IIa, IIb a IIc znamenajú bod pripojenia fragmentov ku zlúčenine vzorca I.

Vlnkové čiary na atóme uhlíka vo fragmentoch vzorcov IVa, IVb a IVc znamenajú polohu väzby vo fragmente.

Zoznam skratiek je uvedený na konci tohto opisu.

Vynález sa ďalej týka zlúčeniny vzorca I, ako je definovaná vyššie, za predpokladu, že:

- (a) ak R^x predstavuje štruktúrny fragment vzorca IIa, potom R^4 a/alebo R^5 (podľa potreby) neznamená/neznamenajú:
 - (i) fenyl substituovaný C_{1-6} alkylom, ktorý je substituovaný halogénom,
 - (ii) metyléndioxyfenyl, benzodioxanyl, benzofuranyl, dihydrobenzofuranyl, benzotiazolyl, benzoxazolyl, benzimidazolyl, kumaranonyl, kumarinyl alebo dihydrokumarinyl,
- (b) ak R^x predstavuje štruktúrny fragment vzorca IIc, potom R^6 a/alebo R^7 (podľa potreby) predstavuje/predstavujú nesubstituovaný fenyl.

Vynález sa ďalej týka zlúčeniny vzorca I, ako je definovaná vyššie, pričom

- (a) ak R^x predstavuje štruktúrny fragment vzorca IIa, potom R^4 a/alebo R^5 (podľa potreby) predstavuje/predstavujú:
 - (i) fenyl substituovaný C_{1-6} alkylom, ktorý je substituovaný halogénom,
 - (ii) metyléndioxyfenyl, benzodioxanyl, benzofuranyl, dihydrobenzofuranyl, benzotiazolyl, benzoxazolyl, benzimidazolyl, kumaranonyl, kumarinyl alebo dihydrokumarinyl,
- (b) ak R^x predstavuje štruktúrny fragment vzorca IIc, potom R^6 a/alebo R^7 (podľa potreby) predstavuje/predstavujú substituovaný fenyl.

Ak n znamená 2 a B predstavuje štruktúrny fragment vzorca IVb, výhodnými zlúčeninami vzorca I sú také zlúčeniny, v ktorých X^1 a X^2 obidva nepredstavujú CH_2 .

Výhodnými zlúčeninami vzorca I sú zlúčeniny, v ktorých:

R^1 predstavuje prípadne substituovaný C_{1-6} alkyl alebo predovšetkým atóm vodíka,

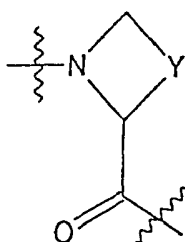
R^x znamená štruktúrny fragment vzorca IIa,

Y predstavuje CH_2 alebo $(CH_2)_2$,

n znamená 1,

B predstavuje štruktúrny fragment vzorca IVa.

Zlúčeniny vzorca I, v ktorom fragment

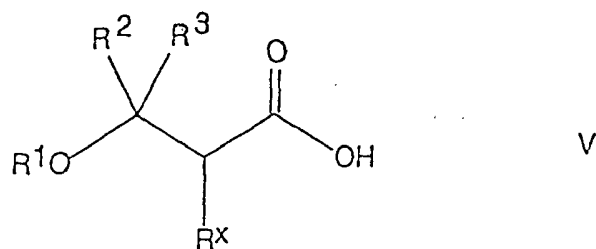


je v S-konfigurácii sú výhodné. Vlnité na atóme dusíka a uhlíka vo vyššie uvedenom fragmente znamenajú polohu väzby fragmentu.

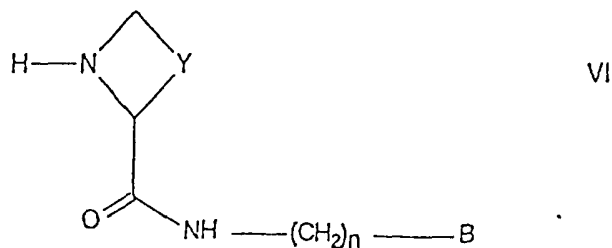
Príprava

Vynález sa taktiež týka spôsobu prípravy zlúčenín vzorca I, ktorý zahŕňa

(a) kondenzáciu zlúčeniny vzorca V,

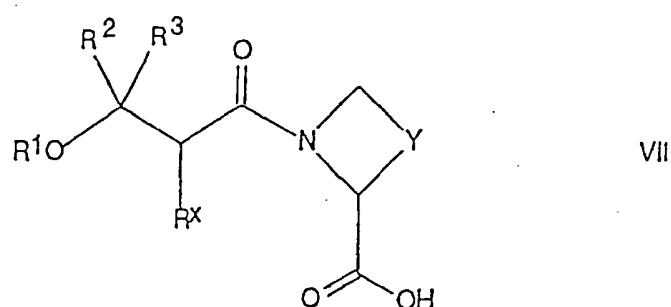


kde R^1 , R^2 , R^3 a R^x sú definované vyššie, so zlúčeninou vzorca VI,

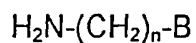


kde Y, n a B sú definované vyššie, alebo

(b) kondenzáciu zlúčeniny vzorca VII,



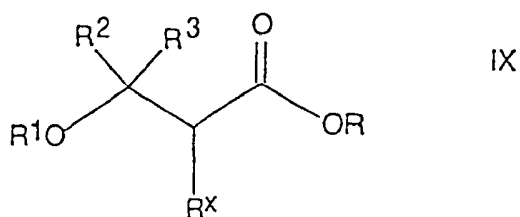
kde R^1 , R^2 , R^3 , R^x a Y sú definované vyššie, so zlúčeninou vzorca VIII,



kde n a B sú definované vyššie,

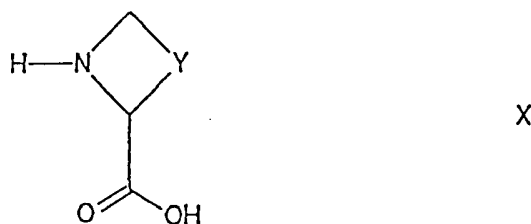
napríklad v prítomnosti kondenzačného systému (napríklad oxalylchloridu v DMF, EDC, DCC, HBTU alebo TBTU), vhodnej zásady (napríklad pyridínu, DMAP, TEA alebo DIPEA) a vhodného organického rozpúšťadla (napríklad dichlórmetánu, acetonitrilu alebo DMF).

Zlúčeniny vzorca V sú komerčne dostupné, sú dobre známe z literatúry alebo sa dajú pripraviť bežne známymi spôsobmi. Zlúčenina vzorca V sa môže napríklad pripraviť hydrolýzou zlúčeniny vzorca IX,



kde R znamená C_{1-6} alkyl alebo C_{1-6} alkylfenyl a R^1 , R^2 a R^x , sú definované vyššie, napríklad pri laboratórnej teplote v prítomnosti vhodnej zásady (napríklad hydroxiidu lítneho) a vhodného rozpúšťadla (napríklad THF a/alebo vody).

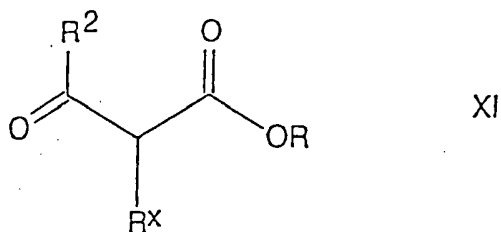
Zlúčeniny vzorca VI sa môžu pripraviť reakciou zlúčeniny vzorca X



kde Y je definované vyššie, so zlúčeninou vzorca VIII, ktorá je definovaná vyššie, napríklad podmienkach, ktoré sú opísané vyššie pre syntézu zlúčeniny vzorca I.

Zlúčeniny vzorca VIII sa dajú ľahko pripraviť s použitím známych spôsobov. Zlúčenina vzorca VII sa napríklad môže pripraviť reakciou zlúčeniny vzorca V, definovanej vyššie, so zlúčeninou vzorca X, definovanou vyššie, napríklad pri podmienkach, ktoré sú opísané vyššie pre syntézu zlúčeniny vzorca I.

Zlúčeniny vzorca IX, v ktorom a R^1 , a R^3 obidva predstavujú atóm vodíka, sa môžu pripraviť redukciou zlúčeniny vzorca XI,



v ktorom a R, R^x , a R^2 sú definované vyššie, napríklad pri nižšej teplote (napríklad medzi -70°C a -5°C) v prítomnosti vhodného redukčného činidla (napríklad bórhyd-

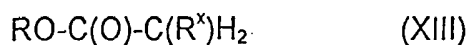
ridu sodného) a vhodného organického rozpúšťadla (napríklad MeOH alebo EtOH).

Zlúčeniny vzorca IX, v ktorom R^1 znamená atóm vodíka a R^3 predstavuje C_{1-4} alkyl, cyklohexyl alebo fenyl, sa môžu pripraviť reakciou zlúčeniny vzorca XI, definovanej vyššie, s organokovovým činidlom vzorca XII



v ktorom R^{3a} predstavuje C_{1-4} alkyl, cyklohexyl alebo fenyl, M znamená Li^+ alebo $MgHal$ a Hal predstavuje Cl, Br alebo J, pri podmienkach, ktoré sú dobre známe odborníkom v odbore, v prítomnosti vhodného organického rozpúšťadla (napríklad THF).

Zlúčeniny vzorca IX, v ktorom R^1 predstavuje atóm vodíka sa môžu tiež pripraviť reakciou zlúčeniny vzorca XIII

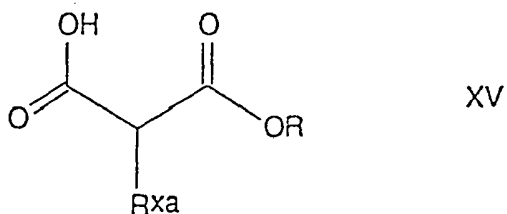


v ktorom R a R^x sú definované vyššie, so zlúčeninou vzorca XIV,



v ktorom R^2 a R^3 sú definované vyššie, pri podmienkach, ktoré sú dobre známe odborníkom v odbore.

Zlúčeniny vzorca IX, v ktorom R^1 , R^2 a R^3 všetky znamenajú atóm vodíka, R^x predstavuje štruktúrny fragment vzorca IIa, ako je definovaný vyššie, v ktorom ani k ani l neznamená 0, sa môžu pripraviť redukciou zlúčeniny vzorca XV,



kde R^{xa} predstavuje štruktúrny fragment vzorca IIa, definovaný vyššie, v ktorom ani k ani l nepredstavujú 0 a R má vyššie definovaný význam, v prítomnosti vhodného redukčného činidla (napríklad boránu) v prítomnosti vhodného organického rozpúšťadla (napríklad THF).

Zlúčeniny vzorca XI sú buď známe alebo sa môžu pripraviť analogicky podľa spôsobov opísaných v J. Org. Chem. 54, 3831 (1989).

Zlúčeniny vzorca XV sú dobre známe z literatúry alebo sa môžu pripraviť s použitím známych spôsobov, napríklad reakciou vhodného derivátu kyseliny malónovej s alkylačným činidlom vzorca XVI,



v ktorom L znamená odstupujúcu skupinu (napríklad halogén (Cl, Br, J) alebo tozyl) a R^{xa} má vyššie uvedený význam, napríklad v prítomnosti vhodnej zásady (napríklad hydridu sodného alebo etoxidu sodného) a vhodného organického rozpúšťadla.

Zlúčeniny vzorca VIII, X, XII, XIV a XVI sú komerčne dostupné, sú známe z literatúry alebo sa dajú pripraviť známymi spôsobmi.

Substituenty na *inter alia* fenylových skupinách v zlúčeninách vzorcov I, V, VII, IX, XI, XIII, XV a XVI sa môžu navzájom meniť s použitím štandardných postupov.

Zlúčeniny vzorca I sa môžu izolovať reakčných zmesí s použitím bežne známych postupov.

Odborníkom v odbore bude zrejmé, že vo vyššie opísaných spôsoboch môžu byť potrebné chrániť funkčné skupiny medziproduktov pomocou chrániacich skupín.

Funkčné skupiny, pri ktorých sa predpokladá, že bude potrebné ich chránenie, zahŕňujú hydroxy, amino a karboxylovú kyselinu. Vhodnými chrániacimi skupinami pre hydroxylovú skupinu sú trialkylsilylová alebo diarylalkylsilylová skupina (napríklad terc.butyldimetylsilyl, terc.butyldifenylsilyl alebo trimetylsilyl) a tetrahyd-

ropyranly. Vhodnými chrániacimi skupinami pre karboxylovú kyselinu sú C_{1-6} alkyl alebo benzylestery. Vhodnými chrániacimi skupinami pre amino, amidino a guanidinoskupiny sú terc.butyloxykarbonyl alebo benzyloxykarbonyl. Dusíkaté amidino a guanidinoskupiny môžu byť monochránené alebo dichránené.

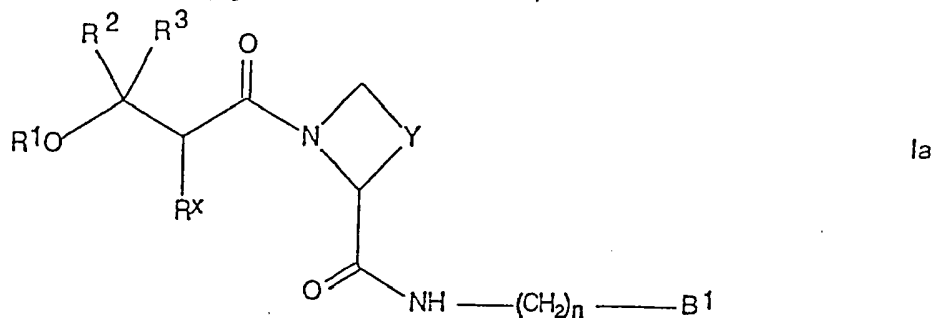
Chránenie a deprotekcia funkčných skupín sa môže uskutočňovať pred alebo po kondenzácii.

Zlúčeniny vzorca I sa môžu pripraviť predovšetkým spôsobmi, ktoré zahrňujú kondenzáciu N-acylovanej aminokyseliny alebo N-chránenej aminokyseliny. Ak sa použije N-chránená aminokyselina, acylová skupina sa môže adovať po kondenzácii a deprotekcia atómu dusíka sa potom môže uskutočniť s použitím štandardných postupov opísaných nižšie.

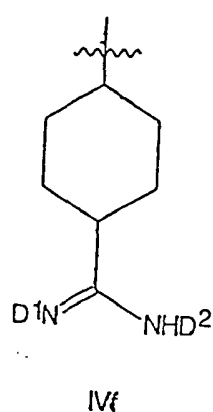
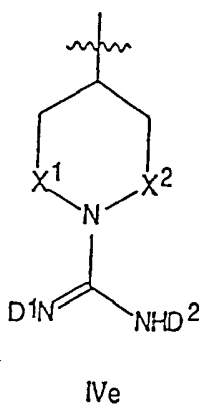
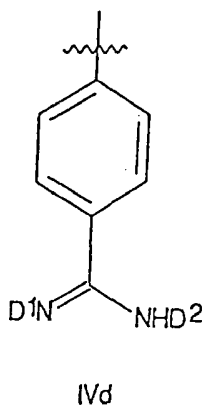
Chrániace skupiny sa môžu odstrániť použitím spôsobov, ktoré sú dobre známe odborníkov v odbore a sú opísané nižšie.

Niektoré chránené deriváty zlúčenín vzorca I, ktoré sa môžu vytvoriť pred konečným stupňom deprotekcie za vzniku zlúčenín vzorca I, sú nové.

Vynález sa ďalej týka zlúčenín vzorca Ia,



kde B¹ predstavuje štruktúrny fragment vzorca IVd, IVe alebo IVf



v ktorom D^1 a D^2 nezávisle od seba predstavujú H, OH, OR^a , $OC(O)R^b$, $OC(O)R^c$, $OC(O)R^d$, $C(O)R^e$, a R^a , R^b , R^c , R^d a R^e nezávisle od seba predstavujú fenylyl, benzyl, $(CH_2)_2OC(O)CH_3$ alebo C_{1-6} alkyl, pričom posledne uvedená skupina je prípadne prerušená atómom kyslíka, a R^1 , R^2 , R^3 , R^x , Y, n, X^1 a X^2 sú definované vyššie, alebo ich farmaceuticky prijateľná soľ, za predpokladu, že D^1 a D^2 obidva nepredstavujú atóm vodíka.

Alkylové skupiny, ktoré môžu predstavovať R^a , R^b , R^c , R^d a R^e , môžu byť lineárne alebo rozvetvené a môžu byť nasýtené alebo nenasýtené.

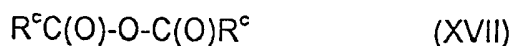
Vlnkové čiary na atóme uhlíka vo fragmentoch vzorcov IVd, IVe alebo IVf znamenajú polohu väzby fragmentu.

Výhodnými zlúčeninami vzorca Ia sú také zlúčeniny, v ktorých D^1 znamená atóm vodíka a D^2 predstavuje OH, OCH_3 , $OC(O)R^b$ alebo $OC(O)R^d$, pričom R^b a R^d majú vyššie uvedený význam.

Výhodné zlúčeniny vzorca Ia zahrňujú zlúčeniny z príkladov 8, 9, 10, 13, 14, 15, 40 a (R,S)-Ph-C(Me)(CH₂OMe)-C(O)-Pro-Pab(Z).

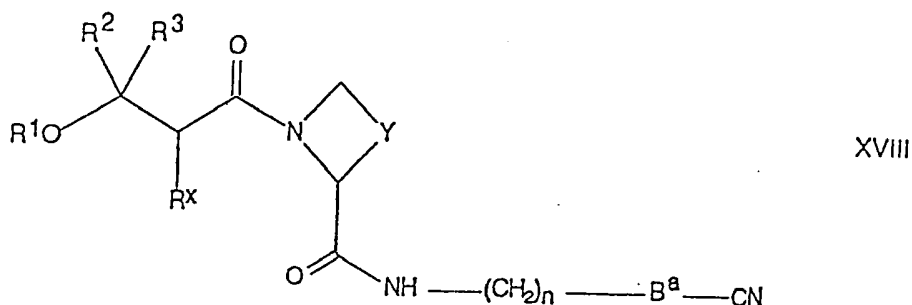
Zlúčeniny vzorca Ia sa môžu tiež pripraviť priamo zo zlúčenín vzorca I podľa spôsobov, ktoré sú dobre známe odborníkom v odbore. Napríklad zlúčeniny vzorca Ia, v ktorých D^1 alebo D^2 znamenajú OH, sa môžu pripraviť reakciou zodpovedajúcej zlúčeniny vzorca Ia, v ktorej D^1 alebo D^2 (podľa potreby) predstavujú $COOR^d$ a R^d má vyššie uvedený význam, s hydroxylamínom (alebo s jeho hydrohalogénovou soľou), napríklad pri teplote 40°C v prítomnosti vhodnej zásady (napríklad TEA) a vhodného organického rozpúšťadla (napríklad THF).

Zlúčeniny vzorca Ia sa môžu alternatívne pripraviť pomocou iných chránených derivátov vzorca Ia, spôsobmi, ktoré sú dobre známe odborníkom v odbore. Zlúčeniny vzorca Ia, v ktorých D^1 alebo D^2 predstavujú $OC(O)OR^c$, pričom R^c je definované vyššie, sa môžu pripraviť reakciou zodpovedajúcej zlúčeniny Ia, v ktorej D^1 alebo D^2 (podľa potreby) predstavujú OH so zlúčeninou vzorca XVII,



kde R^c má vyššie uvedený význam, napríklad pri laboratórnej teplote v prítomnosti vhodnej zásady (napríklad TEA, pyridínu alebo DMAP) a vhodného organického rozpúšťadla.

Zlúčeniny vzorca Ia, v ktorých B^1 predstavuje štruktúrny fragment vzorca IVd alebo vzorca IVf, D^1 znamená H a D^2 predstavuje OH alebo OR^a , kde R^a má vyššie uvedený význam, sa môžu alternatívne pripraviť reakciou zlúčeniny vzorca XVIII,



kde B^a predstavuje fenyl-1,4-én alebo cyklohexyl-1,4-én a R^1 , R^2 , R^3 , R^x , Y a n majú vyššie uvedený význam, so zlúčeninou vzorca XIX,



kde R^{a1} predstavuje H alebo R^a , pričom R^a je definované vyššie, napríklad pri teplote medzi 40 a 60°C, v prítomnosti vhodnej zásady (napríklad TEA) a vhodného rozpúšťadla (napríklad THF, CH_3CN , DMF alebo DMSO).

Zlúčeniny vzorca XVIII sa môžu pripraviť použitím peptidových kondenzačných spôsobov, napríklad analogicky podľa spôsobu opísaného vyššie pre zlúčeniny vzorca I. Zlúčeniny vzorca XVIII a XIX sú komerčne dostupné, sú dobre známe v literatúre alebo sa dajú pripraviť pomocou známych spôsobov.

Použitie ochranných skupín je komplexne opísané v "Protective Groups in Organic Chemistry", Ed. J.W.F. McOmie, Plenum Press (1973) a "Protective Groups

in Organic Synthesis", 2nd Edition, T.W. Green & P.G.M. Wutz, Wiley-Interscience (1991).

Odborníci v odbore si budú vedomí toho, že hoci chránené deriváty zlúčeniny vzorca I (napríklad zlúčeniny vzorca Ia) samotné nemusia vykazovať farmakologickú účinnosť, môžu sa podávať parenterálne alebo orálne a následne sa metabolizovať v tele, za vzniku zlúčenín podľa vynálezu, ktoré sú farmakologicky účinné. Takéto deriváty sa môže teda označovať ako "prekurzory". Všetky prekursory zlúčeniny vzorca I sú zahrnuté do rozsahu vynálezu.

Chránené deriváty zlúčenín vzorca I, ktoré sú predovšetkým využiteľné ako prekursory zahrňujú zlúčeniny vzorca Ia.

Zlúčeniny vzorca I, ich farmaceuticky prijateľné soli, tautoméry a stereoizoméry ako aj ich prekursory (vrátane zlúčenín vzorca Ia, ktoré sú prekursorami zlúčenín vzorca I), sa v ďalšom označujú ako "zlúčeniny podľa vynálezu".

Medicínske a farmaceutické použitie

Zlúčeniny podľa vynálezu sú využiteľné pretože vykazujú farmakologickú účinnosť. Ďalej sa označujú ako farmaceutické prostriedky.

Vynález sa ďalej týka zlúčenín podľa vynálezu na použitie ako farmaceutické prostriedky.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú predovšetkým účinné inhibítory trombínu buď samotné alebo, v prípade prekursorov po podaní, ako je napríklad uvedené v nižšie opísaných testoch.

Očakáva sa teda, že zlúčeniny podľa vynálezu budú využiteľné v takých podmienkach, kde sa požaduje inhibícia trombínu.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú teda indikované na liečbu alebo profylaxiu trombózy a zvýšenej zrážanlivosti v krvi a tkanivách zvierat, vrátane človeka.

Je známe, že zvýšená zrážanlivosť môže viesť ku trombo-embolickým ochoreniam. Stavy spojené so zvýšenou zrážanlivosťou a trombo-embolickými ochore-

niami, ktoré je možné uviesť, zahrňujú aktivovanú rezistenciu proteínu C, ako je faktor V-mutácie (faktor V Leiden) a zdedenú alebo získanú nedostatočnosť anti-trombínu III, proteínu C, proteínu S, kofaktora II heparínu. Ďalšie známe stavy, ktoré sú spojené so zvýšenou zrážanlivosťou a trombo-embolickými ochoreniami zahrňujú cirkuláciu antifosfolipidových protilátok (Lupus anticoagulant), homocysteinémiu, heparínom vyvolanú trombocytopéniu a poruchy fibrinolýzy. Zlúčeniny podľa vynálezu sú teda indikované na terapeutické a/alebo profylaktické liečenie týchto stavov.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú ďalej indikované na liečbu stavov, pri ktorých sa vyskytuje nežiadúci nadbytok trombínu bez znakov zvýšenej zrážanlivosti, napríklad pri neurodegeneratívnych ochoreniach, ako je Alzheimerova choroba.

Chorobné stavy, ktoré je možné predovšetkým uviesť zahrňujú terapeutické a/alebo profylaktické liečenie venóznej trombózy a pulmonárnej embólie, arteriálnej trombózy (napríklad pri infarkte myokardu, nestabilnej angíne, mŕtvice vyvolanej trombózou a periférnej arteriálnej trombóze) a systémovej embólii, zvyčajne predsiene, počas arteriálnej fibrilácie alebo komory, po transmurálnom infarkte myokardu.

Okr^{kv} toho sa očakáva, že zlúčeniny podľa vynálezu budú využiteľné pri profylaxii reoklúzie (napríklad trombózy) po trombolýze, perkutánnej transluminálnej angioplastii (PTA) a koronárnych bypassových operáciách, prevencii retrombózy po mikrochirurgii a vaskulárnej chirurgii všeobecne.

Ďalšie indikácie zahrňujú terapeutické a/alebo profylaktické liečenie roztrúsenej intravaskulárnej koagulácie spôsobenej baktériami, viacnásobnou traumou, intoxikáciou alebo akýmkoľvek iným mechanizmom, antikoagulačnú liečbu, keď sa krv dostane do kontaktu s cudzími povrchmi v tele, ako sú vaskulárne štepy, vaskulárne stenty, vaskulárne katétre, mechanické a biologické protetické chlopne, alebo akékoľvek iné lekárske zariadenia, a antikoagulačné liečenie, ak krv je v kontakte s lekárskeým zariadením mimo tela, ako počas kardiovaskulárnej chirurgie pri použití zariadenia srdce-plúca alebo pri hemodialýze.

Okrem týchto vplyvov na koagulačný proces je známe, že trombín aktivuje veľké množstvo buniek (ako sú neurofily, fibroplasty, bunky endotelu a bunky hladkého svalstva). Zlúčeniny podľa vynálezu sa teda môžu tiež použiť na terapeutické a/alebo profylaktické liečenie idiopatického syndrómu a syndrómu respiračnej nedostatočnosti u dospelých, pulmonárnej fibrózy následkom liečby radiáciou alebo chemoterapiou, septického šoku, septikémie, zápalových reakcií, ktoré zahrňujú, ale nie sú obmedzené na, edém, akútnu alebo chronickú aterosklerózu, ako je koronárne arteriálne ochorenie, cerebrálne arteriálne ochorenie, periférne arteriálne ochorenie, poruchy reperfúzie a restenózy po perkutánnej transluminálnej angioplastii (PTA).

Zlúčeniny podľa vynálezu, ktoré inhibujú trypsín a/alebo trombín sa môžu tiež využiť pri liečbe pankreatitídy.

Zlúčeniny podľa vynálezu sa budú bežne podávať orálne, intravenózne, subkutánne, bukálne, rektálne nasálne, tracheálne, bronchiálne, akýmkoľvek iným partenterálnym spôsobom alebo pomocou inhalácie, vo forme farmaceutických prípravkov obsahujúcich účinnú látku buď ako voľnú zásadu alebo vo forme farmaceuticky prijateľnej netoxickej organickej alebo anorganickej soli, vo farmaceuticky prijateľnej dávkovej forme. V závislosti od poruchy a pacienta, ktorý sa má liečiť a od spôsobu podávania, kompozícia sa môže podávať v rozličných dávkach.

Zlúčeniny podľa vynálezu sa môžu tiež kombinovať a/alebo podávať spoločne s antitrombotickým činidlom s odlišným mechanizmom účinku, ako sú antikoagulačné činidlá, kyselina salicylová, ticlopidín, clopidogrel, receptor tromboxánu a/alebo inhibítory syntetázy, antagonisty receptora fibrinogénu, prostacyklín mimetiká a inhibítory fosfodiesterázy antagonisty ADP-receptora (P_2T).

Zlúčeniny podľa vynálezu sa môžu ďalej kombinovať a/alebo podávať spolu s trombolytikami, ako je tkanivový aktivátor plazminogénu (prírodný, rekombinantný alebo modifikovaný), steptokináza, urokináza, prourokináza, anizoylovaný plazminogénno-streptokinázový aktivátorový komplex (APSAC), živočíšne plazminogénne aktivátory slinných žliaz a podobne, pri liečení trombotických ochorení, predovšetkým infarktu myokardu.

Vynález sa ďalej týka farmaceutických formulácií obsahujúcich zlúčeninu podľa vynálezu v zmesi s farmaceuticky prijateľnou pomocnou látkou, riedidlom alebo nosičom

Vhodné denné dávky zlúčenín podľa vynálezu pri terapeutickom liečení ľudí sú približne 0,001 až 100mg/kg telesnej hmotnosti pri perorálnom podaní a 0,001 až 50mg/kg pri parenterálnom podaní.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú výhodné v tom, že sú účinnejšie, menej toxické, majú dlhšiu účinnosť, širší rozsah účinnosti, sú silnejšie, vytvárajú menej vedľajších účinkov, ľahšie sa adsorbujú alebo môžu mať ďalšie užitočné farmakologické vlastnosti v porovnaní s doteraz známymi zlúčeninami.

Biologické testy

Test A

Stanovenie doby zrážanlivosti trombínu (TT)

Ľudský trombín (T 6769, Sigma Chem. Co.) v tlmivom roztoku, pH 7,4, 100 μ l, a roztoku inhibítora, 100 μ l sa inkuboval počas jednej minúty. Potom sa pridala zásobná citrátovaná ľudská plazma, 100 μ l a odmerala sa doba zrážanlivosti v automatickom zariadení (KC 10, Amelung).

Doba zrážanlivosti v sekundách sa vyniesla oproti koncentrácii inhibítora a $IC_{50}TT$ sa stanovila interpoláciou.

$IC_{50}TT$ je koncentrácia inhibítora v teste, ktorá zdvojnásobuje dobu zrážanlivosti trombínu v ľudskej plazme.

Test B

Stanovenie inhibície trombínu s chromogénnou automatickou skúškou

Učinnosť inhibície trombínu sa merala pomocou chromogénnej substrátovej metódy v Plato 3300 automatickom mikrododávkovom procesore (Rosys AG, CH-8634 Hombrechtikon, Švajčiarsko), s použitím 96-jamkových mikrotitračných dosťiek s polovičným objemom (Costar, Cambridge, MA, USA, Cat. No. 3690). Základný roztok testovanej látky v DMSO (72 μ l), 1 mmol/l sa periodicky zriedil 1:3 (24 + 48 μ l) s DMSO, čím sa získalo desať rozličných koncentrácií, ktoré sa v skúške analyzovali ako vzorky. 2 μ l testovanej vzorky sa zriedilo so 124 μ l tlmivého roztoku, 12 μ l chromogénneho roztoku substrátu (S-2366, Chromogenix, Mölndal, Švédsko) v tlmivom roztoku a napokon sa pridalo 12 μ l roztoku α -trombínu (Human α -trombín, Sigma Chemical Co.) v tlmivom roztoku a vzorky sa zmiešali. Finálne koncentrácie skúšok boli: testovaná látka 0,00068 až 13,3 μ mol/l, S-2366 0,30 mmol/l, α -trombín 0,020 NIHU/ml. Lineárne zvýšenie absorbancie v priebehu 40 minút inkubácie pri teplote 37°C sa použilo na výpočet inhibície testovaných vzoriek v percentách, a porovnávalo sa so vzorkou naslepo bez obsahu inhibítora. IC_{50} automatická hodnota, zodpovedajúca koncentrácii inhibítora, ktorá vykazovala 50% inhibície aktivity trombínu, sa vypočítala z logaritmu dávky oproti krivke percentuálneho obsahu inhibítora.

Test C

Stanovenie konštanty inhibície K_i pre ľudský trombín

Stanovenie K_i sa uskutočnilo pomocou chromogénnej substrátovej metódy, uskutočnenej pri teplote 37°C na Cobas Bio centrifúgovom analyzátore (Roche, Basel, Švajčiarsko). Reziduálna enzýmová aktivita po inkubácii ľudského α -trombínu s rozličnými koncentráciami testovanej zlúčeniny sa stanovila v troch rozdielnych koncentráciách substrátu a merala sa zmena optickej absorbancie pri 405 nm.

Roztoky testovanej zlúčeniny (100 μ l, v tlmivom roztoku alebo fyziologickom roztoku obsahujúcom BSA 10g/l) sa zmiešala s 200 μ l ľudského α -trombínu (Sigma

Chemical Co.) vo tlmivom roztoku (0,05mol/l Tris-HCl, pH 7,4, iónová sila 0,15, adjustované s NaCl) obsahujúcom BSA (10g/l) a analyzovali sa ako vzorky v Cobas Bio. Pridala sa 60 μ l vzorka, spolu s 20 μ l vody k 320 μ l substrátu S-2238 (Chromogenix, AB, Mölndal, Švédsko) v tlmivom roztoku a monitorovala sa zmena absorbancie (?A/min). Finálne koncentrácie S-2238 predstavovali 16,24 a 50 μ mol/l a trombín 0,125 NIH U/ml.

Použil sa stabilný reakčný pomer na vytvorenie Dixon diagramov, napríklad diagramy inhibície koncentrácie oproti $1/(?A/min.)$. Pri reverzibilných konkurenčných inhibítoroch údaje, ktoré poukazujú na rozdielne koncentrácie substrátov, typicky tvoria priamky s úsekom pri $x = -K_i$.

Test D

Stanovenie aktivovaného parciálneho času tromboplastínu (APTT)

APTT sa stanovil v zásobnej ľudskej citrátovanej plazme s činidlom PTT Automated 5, vyrobeným firmou Stago. K plazme sa pridali inhibítory (10 μ l roztoku inhibítora a 90 μ l plazmy) a následne sa pridalo činidlo a roztok chloridu vápenatého a v zmesi sa stanovilo APTT použitím koagulačného analyzéra KC10 (Amelung) podľa pokynov výrobcu činidla. Doba zrážanlivosti v sekundách sa vyniesla oproti koncentrácii inhibítora v plazme a $IC_{50}APTT$ sa stanovil interpoláciou.

$IC_{50}APTT$ sa definuje ako koncentrácia inhibítora v ľudskej plazme, ktorá zdvojnásobuje aktivovaný parciálny čas tromboplastínu.

Test E

Stanovenie doby trombínu *ex vivo*

Inhibícia trombínu po orálnom alebo parenterálnom podaní zlúčenín vzorca I a Ia, rozpustených v zmesi etanol[®]SolutolTM:voda (5:5:90), sa skúmala pre potkany pri vedomí, ktorým sa jeden alebo dva dni pred pokusom zaviedol katéter na odber vzoriek krvi z krčnej artérie. V deň experimentu sa vzorky krvi odobrali v určenom čase po podaní zlúčeniny do plastických rúrok obsahujúcich 1 diel roztoku citrátu sodného (0,13 mol na l) a 9 dielov krvi. Rúrky sa centrifúgovali, čím sa získala

plazma chudobná na krvné doštičky. Plazma sa použila na stanovenie doby trombínu ako je opísané nižšie.

Citrátovaná plazma, 100µl, sa zriedila fyziologickým roztokom, 0,9%, 100µl a koagulácia plazmy sa iniciovala pridaním ľudského trombínu (T6769, Sigma Chem. Co., USA) v tlmiacom roztoku, pH 7,4, 100µl. Zrážanlivosť sa merala v automatickom zariadení (KC 10, Amelung, Nemecko).

V prípadoch, kedy sa podala zlúčenina vzorca Ia, koncentrácie príslušného aktívneho inhibítora trombínu vzorca I v plazme potkana sa stanovil použitím štandardných kriviek týkajúcich sa doby trombínu v plazme potkana chudobnej na krvné doštičky ku známym koncentráciám zodpovedajúceho inhibítora trombínu rozpusteného vo fyziologickom roztoku.

Na základe vyhodnotených koncentrácií plazmy aktívneho inhibítora trombínu vzorca I (čo predpokladá, že predĺženie doby trombínu je spôsobené vyššie uvedenou zlúčeninou) u potkanov, plocha pod krivkou po orálnom a/alebo parenterálnom podaní zodpovedajúcich prekursorov vzorca Ia sa vypočítala (AUC_{pd}) s použitím lichobežníkového pravidla a extrapolácie údaju na nekonečno.

Biologická dostupnosť aktívneho inhibítora trombínu vzorca I po orálnom alebo parenterálnom podaní prekursora vzorca Ia sa vypočítalo nasledovne

$$[(AUC_{pd}/dávka)/(AUC_{aktívne, parenterálne}/dávka)] \times 100$$

kde AUC_{aktívne, parenterálne} predstavuje AUC, ktoré sa dosiahne po parenterálnom podaní zodpovedajúceho účinného inhibítora trombínu vzorca I potkanom pri vedomí, ako je opísané vyššie.

Test F

Stanovenie času trombínu v moči *ex vivo*

Množstvo účinného inhibítora trombínu vzorca I, ktorý sa vylúčil do moču po orálnom alebo parenterálnom podaní zlúčenín podľa vynálezu, rozpusteného v zmesi etanol[®]/Solutol[™]:voda (5:5:90), sa vyhodnotila stanovením času trombínu v

moči ex vivo (za predpokladu, že čas predĺženia trombínu je spôsobený vyššie uvedenou zlúčeninou).

Potkany pri vedomí sa umiestnili do metabolizačných kliebok, umožňujúcich separované odoberanie moču a výkalov, počas 24 hodín a nasledujúcich po orálnom podaní zlúčenín podľa vynálezu. Doba trombínu sa stanovila na zhromaždenom moči, ako je opísané nižšie.

Zásobná normálna citrátovaná ľudská plazma (100μl) sa počas jednej minúty inkubovala s koncentrovaným močom potkana, alebo s jeho roztokom, zriedeným použitím fyziologického roztoku. Koagulácia plazmy sa potom iniciovala podaním ľudského trombínu (T 6769, Sigma Chem. Company) v tlmivom roztoku (pH 7,4, 100μl). Zrážanlivosť sa merala v automatickom zariadení (KC 10, Amelung).

Koncentrácie aktívneho inhibítora trombínu vzorca I v moči potkanov sa stanovil použitím štandardných kriviek týkajúcich sa trombínového času v zásobnej citrátovanej ľudskej plazme ku známym koncentráciám vyššie vyššie uvedeného aktívneho inhibítora trombínu rozpusteného v koncentrovanom moči potkanov (alebo jeho zriedenom fyziologickom roztoku). Násobením celkovej produkcie moču potkana v rozsahu 24 hodinového obdobia so zhodnotením priemernej koncentrácie vyššie uvedeného aktívneho inhibítora v moči, sa mohlo vypočítať množstvo aktívneho inhibítora vylúčeného močom (AMOUNT_{pd}).

Biologická dostupnosť aktívneho inhibítora trombínu vzorca I po orálnom alebo parenterálnom podaní prekursora sa vypočítala nasledovne:

$$[(\text{AMOUNT}_{\text{pd}}/\text{dávka})/(\text{AMOUNT}_{\text{aktívne,parenterálne}}/\text{dávka})] \times 100$$

kde AMOUNT_{aktívne,parenterálne} predstavuje množstvo vylúčené v moči po parenterálnom podaní zodpovedajúceho aktívneho inhibítora trombínu vzorca I potkanom pri vedomí, ako je opísané vyššie.

Vynález je ilustrovaný vyššie uvedenými príkladmi.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Všeobecné experimentálne postupy

Hmotnostné spektrá sa zaznamenávali na Finnigan MAT TSQ 700 trojnásobnom štvorpólovom hmotnostnom spektrometre vybavenom elektro-rozprašovacím rozhraním (FAB-MS) a VG Platform II hmotnostnom spektrometre vybavenom elektro-rozprašovacím rozhraním (LC-MS). ^1H -NMR a ^{13}C NMR merania sa uskutočnili na BRUKER ACP 300 a Varian UNITY plus 400, 500 a 600 spektrometroch, pracujúcich pri ^1H frekvenciách 300,13, 399,96, 499,82 a 599,94 MHz a pri ^{13}C frekvenciách 75,46, 100,58, 125,69 a 150,88 MHz. Preparatívna HPLC sa uskutočnila na kolónach s reverznou fázou (250 mm, 20 alebo 50 mm, 5 až 7 μM fáza Chromasil C8) s prietokmi 10 až 50 ml/min s použitím UV detektora (270 až 290 nm).

Príprava východiskových materiálov

Príklad A

H-Aze-Pab(Z)

(i) Boc-Aze-OH

Di-terc.butyldiuhličitan (13,75 g, 63 mmol) sa za miešania pri laboratórnej teplote pridal k zmesi kyseliny L-azetidín-2-karboxylovej (H-Aze-OH, 5,777 g, 57 mmol) a Na_2CO_3 (6,04 g, 57 mmol) vo vode (50 ml) a THF (100 ml). Po 60 hodinách sa THF odstránil vo vákuu a zmes sa zriedila vodou a potom sa okyslila s 2M KHSO_4 . Zmes sa extrahovala s CH_2Cl_2 , vysušila (MgSO_4) a rozpúšťadlo sa odparilo, čím sa získal zvyšok, ktorý sa kryštalizoval zo zmesi CH_2Cl_2 :hexán a poskytol 10,87 g (95%) bezfarebných kryštálov.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 4,85 - 4,7 (br s, 1H), 4,0 - 3,75 (m, 2H), 2,65 - 2,35 (m, 2H), 1,4 (s, 9H).

(ii) Boc-Aze-Pab(Z)

Pri laboratórnej teplote sa EDC (13,5 g, 70 mmol) pridal k zmesi Boc-Aze-OH (10,87g, 54mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), H-Pab(Z) x HCl (18,31 g, 57mmol,

pripraveného podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 94/29336) a DMAP (9,9 g, 81 mmol) v acetonitrile (270 ml). Po 16 hodinách sa rozpúšťadlo odstránilo vo vákuu a nahradilo sa etylacetátom. Zmes sa premyla vodou a vodným roztokom kyseliny citrónovej. Organická vrstva sa vysušila (MgSO_4) a rozpúšťadlo sa odstránilo vo vákuu, čím sa získal zvyšok, ktorý poskytol 17,83 g Boc-Aze-Pab(Z) po kryštalizácii zo zmesi CH_2Cl_2 , toluénu, diizopropyléteru a petroléteru.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,85 - 7,75 (d, 1H), 7,45 - 7,2 (m, 7H), 5,2 (s, 2H), 4,7 (t, 1H), 4,6 - 4,4 (m, 2H), 3,95 - 3,8 ("q", 1H), 3,8 - 3,7 (q, 1H), 2,5 - 2,3 (m, 2H), 1,4 (s, 9H).

(iii) H-Aze-Pab(Z)

Boc-Aze-Pab(Z) (2,44 g, 5,2 mmol) sa rozpustil v zmesi kyseliny trifluóroctovej (10 ml) a CH_2Cl_2 (10 ml). Po 30 minútach sa rozpúšťadlo a kyselina trifluóroctová odstránili vo vákuu a zvyšok sa rozpustil v CH_2Cl_2 . Organická fáza sa premyla vodným roztokom NaCO_3 (10%), a vysušila (K_2CO_3). Odstránením rozpúšťadla vo vákuu sa získal zvyšok, ktorý poskytol 1,095 g (57%) H-Aze-Pab(Z) vo forme bezfarebných kryštálov po kryštalizácii z CH_2Cl_2 .

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7,85 - 7,75 (d, 2H), 7,45 - 7,25 (m, 7H), 5,2 (s, 2H), 4,5 (s, 2H), 4,3 (d, 1H), 3,65 (q, 1H), 3,4 - 3,3 (m, 1H), 2,7 - 2,5 (m, 1H), 2,4 - 2,2 (m, 1H).

Príklad B

H-Pic-Pab(Z) x 2 HCl

(i) Boc-Pic-OH

Pripravil sa podľa M. Bodanszkeho a A. Bodanszkeho ("The Practice of Peptide Synthesis", Springer-Verlag (1984) s použitím THF ako rozpúšťadla, namiesto diioxánu.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 5,0 - 4,8 (br d, 1H), 4,0 (br s, 2H), 3,0 (br s, 1H), 2,20 (d, 1H), 1,65 (m, 2H), 1,5 - 1,3 (s + m, 13H).

(ii) Boc-Pic-Pab(Z)

Boc-Pic-OH (2,02 g, 8,8 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), H-Pab(Z) x 1 HCl (2,36 g, 7,4 mmol, pripraveného podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 94/29336) a 3,9 g (32 mmol) DMAP sa rozpustilo v CH_2Cl_2 (40 ml). Zmes sa ochladila na teplotu 0°C a pridalo sa 1,99 g (10,4 mmol) EDC. Reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas troch dní. Zmes sa vliala do 0,2 M roztoku KHSO_4 a dvakrát sa extrahovala s CH_2Cl_2 . Organická vrstva sa vysušila (Na_2SO_4) a odparila. Surový produkt sa chromatografoval okamžitou chromatografiou na silikagéle s použitím elučného činidla EtOAc:toluén v pomere 7:3, čím sa získalo 1,59 g (44%) produktu.

FAB.MS m/z 495 ($M + 1$)⁺

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,83 (d, 2H), 7,43 (d, 2H), 7,36 - 7,11 (m, 5H), 6,52 (bs, NH), 5,20 (s, 2H), 4,81 - 4,72 (m, 1H), 4,61 - 4,34 (m, 2H), 4,10 - 3,90 (m, 1H), 2,79 - 2,64 (m, 1H), 2,36 - 2,25 (m, 1H), 1,7 - 1,3 (m, 14H).

(iii) H-Pic-Pab(Z) x 2 HCl

Boc-Pic-Pab(Z) (1,59 g, 3,22 mmol, z kroku (ii) uvedeného vyššie) sa rozpustil v 100 ml EtOAc nasýtenej s HCl. Reakčná zmes sa v priebehu pol hodiny, čím sa získal produkt v kvantitatívnom výťažku.

FAB.MS m/z 395 ($M + 1$)⁺

^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 7,82 (d, 2H), 7,63 - 7,41 (m, 7H), 5,47 (s, 2H), 4,69 - 4,49 (AB-systém so stredom pri δ 4,59, 2H), 4,03 (dd, 1H), 3,52 (bd, 1H), 3,10 (dt, 1H), 2,29 (dd, 1H), 2,08 - 1,61 (m, 5H).

Príklad C

H-Aze-Pig(Z) x 2 HCl

(i) Boc-Aze-Pig(Z)

Pri laboratórnej teplote sa Boc-Aze-OH (1,03 g, 5,12 mmol, z príkladu A(i) uvedeného vyššie) rozpustil v acetonitrile (50 ml) a k výslednému roztoku sa pridal DMAP (1,57 g, 12,8 mmol). Potom sa pridal H-Pig(Z) x 2 HCl (1,86 g, 5,12 mmol, pripravený podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 94/29336) v DMF (20 ml) a EDC (1,47 g, 1,68 mmol) a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 20 hodín. Reakčná zmes sa následne zahustila, zriedila s CH₂Cl₂ (100 ml) a premyla sa vodou (2 x 30 ml). Organická vrstva sa vysušila (MgSO₄) a odparila. Surový produkt (3,77 g) sa prečistil okamžitou chromatografiou na kolóne naplnenej silikagélom eluovaním so zmesou CH₂Cl₂:MeOH (95:5), čím sa získalo 1,24 g (51%) zlúčeniny uvedenej v názve.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,27 - 7,43 (m, 5H), 5,12 (s, 2H), 4,60 - 4,67 (t, 1H), 4,16 - 4,26 (d, 2H), 3,86 - 3,95 (m, 1H), 3,74 - 3,82 (m, 1H), 3,11 - 3,30 (m, 2H), 2,78 - 2,89 (m, 2H), 2,33 - 2,52 (bs, 2H), 1,71 - 1,83 (m, 3H), 1,44 (s, 9H), 1,15 - 1,29 (m, 2H).

(ii) H-Aze-Pig(Z) x 2 HCl

Boc-Aze-Pig(Z) (1,2 g, 2,53 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v etylacetáte nasýtenom s HCl (75 ml) sa miešal pri laboratórnej teplote počas jednej hodiny. Reakčná zmes sa odparila, zriedila vodou a extrahovala toluénom. Vodná vrstva sa vysušila vymrazením, čím sa získalo 1,085 g (96%) zlúčeniny uvedenej v názve.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 7,32 - 7,46 (m, 5H), 5,28 (s, 2H), 4,99 - 5,05 (t, 1H), 4,08 - 4,16 (m, 1H), 3,91 - 3,99 (m, 3H), 3,13 - 3,25 (m, 4H), 2,79 - 2,88 (m, 1H), 2,47 - 2,57 (m, 1H), 1,82 - 1,96 (m, 3H), 1,26 - 1,40 (m, 2H).

Príklad D.

(R,S)-Ph-CH-(CH₂OTBDMS)-C(O)-Pro-OH

(i) (R,S)-Ph-CH-(CH₂OTBDMS)-C(O)OTBDMS

Kyselina (R,S)-tropová (6,6 g, 0,040 mol) sa rozpustila v DMF (20 ml). Pridal sa imidazol (13,0 g, 0,192 mol) a TBDMS-Cl (14,4 g, 0,096 mol) a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 4 dní. Pridala sa H₂O (0,5 l) a zmes sa extrahovala trikrát éterom. Spojené éterové vrstvy sa premyli vodným roztokom kyseliny citrónovej (10%), H₂O, vodným roztokom NaHCO₃ a H₂O, vysušili (Na₂SO₄) a odparili. Surový produkt (16 g) sa použil v nasledujúcej reakcii bez ďalšieho čistenia.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7,17 - 7,40 (m, 5H), 4,16 - 4,23 (m, 1H), 3,77 - 3,87 (m, 2H), 0,88 - 0,92 (m, 18H), 0,02 - 0,29 (m, 12H).

(ii) (R,S)-PhCH-(CH₂OTBDMS)-C(O)OH

Zmes (R,S)-PhCH-(CH₂OTBDMS)-C(O)OTBDMS (16,0 g, 0,040 mol, z kroku (i) uvedeného vyššie), K₂CO₃ (14,0 g, 0,10 mol), MeOH (400 ml) a H₂O (150 ml) sa miešala pri laboratórnej teplote cez noc. Po zahustení sa vodná vrstva extrahovala éterom. pH sa adjustovalo kyselinou citrónovou a vodná vrstva sa znova trikrát extrahovala éterom. Spojené organické vrstvy sa premyli vodou, vysušili a odparili, čím sa získalo 9,7 g (87%) zlúčeniny uvedenej v názve.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,20 - 7,40 (m, 5H), 4,05 - 4,20 (m, 1H), 3,75 - 3,90 (m, 2H), 0,85 (s, 9H), 0,00 - 0,10 (m, 6H).

(iii) (R,S)-PhCH-(CH₂OTBDMS)-C(O)-Pro-OBn

EDC (voľná zásada, 1,45 ml, 8,4 mmol) sa pridala pri laboratórnej teplote k zmesi (R,S)-PhCH-(CH₂OTBDMS)-C(O)OH (2,01 g, 7,2 mmol, z kroku (ii) uvedeného vyššie), prolínbenzylester hydrochloridu (1,85 g, 7,6 mmol) a DMAP (1,41 g, 11,5 mmol) v acetonitrile (20 ml). Po 18 hodinách sa rozpúšťadlo odstránilo vo vákuu a surový produkt sa podrobil okamžitej chromatografii na silikagéle s použitím zmesi etylacetát:toluén (2:1) ako elučného činidla, čím sa získalo 2,7 g (80%) produktu.

(iv) (R,S)-PhCH-(CH₂OTBDMS)-C(O)-Pro-OH

(R,S)-PhCH-(CH₂OTBDMS)-C(O)-Pro-OBn (2,6 g, 5,56 mmol, z kroku (iii) uvedeného vyššie) sa rozpustil v etanole (100 ml) a pridalo sa Pd/C (10%, 0,29 g). Zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku počas 3 hodín. Po prefiltrovaní sa roztok odparil. Výťažok predstavoval 1,7 g (81%) zlúčeniny uvedenej v názve.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,15 - 7,40 (m, 5H), 4,45 - 4,65 (m, 1H), 4,15 - 4,30 (m, 1H), 3,85 - 3,95 (m, 1H), 3,55 - 3,80 (m, 2H), 3,25 - 3,40 (m, 1H), 2,30 - 2,40 (m, 1H), 1,75 - 2,10 (m, 3H), 0,75 - 0,90 (m, 9H), -0,20 - 0,05 (m, 6H).

¹³C NMR (75,5 MHz, CDCl₃) uhlíky amidínu a karbonylu: 174,00, 172,63.

Príklad E

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metoxyfenyl)-propiónová

(i) Etylester kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metoxyfenyl)-propiónovej

K roztoku etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3-metoxyfenyl)-propiónovej (0,067 g, 0,3mmol, pripraveného podľa spôsobu opísaného v J. Org. Chem. 54, 3831 (1989) v etanole sa pridal NaBH₄ (2 ekvivalenty) pri teplote 70°C. Po miešaní počas 2 hodín pri teplote -70°C a počas 4 hodín pri teplote -5°C sa pridala vody a reakčná zmes sa zahustila a extrahovala etylacetátom. Organická fáza sa premyla soľankou, vysušila (MgSO₄) a zahustila, čím sa získala zlúčenina uvedená v názve.

(ii) Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metoxyfenyl)-propiónová

Etylester kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metoxyfenyl)-propiónovej z kroku (i) uvedeného vyššie, sa rozpustil v zmesi THF:voda (1:1). Pridal sa LiOH x H₂O (2 ekvivalenty) a reakčná zmes sa miešala počas jednej hodiny pri laboratórnej teplote. Reakčná zmes sa zahustila a extrahovala s CH₂Cl₂. Organická fáza sa vysušila (MgSO₄) a zahustila, čím sa získala kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metoxyfenyl)-propiónová, ktorá sa použila bez ďalšieho čistenia.

LC-MS m/z 195 (M - 1)

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 6,73 - 6,79 (m, 1H), 6,34 - 6,46 (m, 3H), 3,57 - 3,66 (m, 1H), 3,30 (s, 3H), 3,22 - 3,29 (m, 2H).

Príklad F

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3,4-dimetoxyfenyl)-propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3,4-dimetoxyfenyl)-propiónovej.

LC-MS m/z 225 ($M - 1$)⁻

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 6,84 - 6,95 (m, 3H), 4,01 - 4,10 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,65 - 3,73 (m, 2H).

Príklad G

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(2-naftyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(2-naftyl)propiónovej.

LC-MS m/z 215 ($M - 1$)⁻

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,77 - 7,85 (m, 4H), 7,41 - 7,50 (m, 3H), 4,14 - 4,22 (m, 1H), 3,89 - 3,95 (m, 1H), 3,80 - 3,87 (m, 1H).

Príklad H

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3,5-dimetylfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3,5-dimetylfenyl)propiónovej.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6,94 (s, 1H), 6,89 (s, 2H), 4,13 (dd, 1H), 3,80 (m, 2H), 2,3 (s, 6H).

Príklad I

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-trifluórmetylfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3-trifluórmetylfenyl)propiónovej.

LC-MS m/z 233 ($M - 1$)⁻

Príklad J

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-hydroxyfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3-hydroxyfenyl)propiónovej.

LC-MS m/z 181 ($M - 1$)⁻

Príklad K

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-fluórfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3-fluórfenyl)propiónovej.

LC-MS m/z 183 ($M - 1$)⁻, FAB-MS m/z 185 ($M + 1$)⁺

Príklad L

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-chlórfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3-chlórfenyl)propiónovej.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,34 - 7,30 (m, 3H), 7,21 (dt, 1H), 5,67 (b, 2H), 4,15 (dd, 1H), 3,87 (m, 2H).

Príklad M

Kyselina 3-hydroxy-2-(3,5-bis(trifluórmetyl)fenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3,5-bis(trifluórmetyl)fenyl)propiónovej.

LC-MS m/z 301 ($M - 1$)⁻

Príklad N

Kyselina 3-hydroxy-2-(3-metoxi-5-metylphenyl)propiónová

(i) 3-Brómmetyl-5-metylanizol

Zmes 3,5-metylanizolu (13,6 g, 0,1 mol), NBS (17,8 g, 0,1 mol), a AIBN (1,1 g, 6,7 mmol) v CCl_4 sa refluxovala počas 2 hodín. Výsledná zmes sa ochladila, prefiltrovala a odparila. Surový produkt, ktorý obsahoval 20% východiskového materiálu, sa použil v nasledujúcom kroku.

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ 6,82 (s, 1H), 6,77 (s, 1H), 6,68 (s, 1H), 4,47 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 2,37 (s, 3H).

(ii) 3-Metoxi-5-metylphenylacetonitril

K roztoku 3-brómmetyl-5-metylanizolu (17 g, 0,008 mol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v DMSO (25 ml) sa pridal NaCN (8,2 g, 0,16 mol). Zmes, ktorá sa pri pridaní kyanidu veľmi zahriala, sa nechala vychladnúť na laboratórnu teplotu v priebehu jednej hodiny. Potom sa pridal CH_3CN (25 ml) a zmes sa refluxovala počas jednej hodiny. Reakčná zmes sa zahustila, pridala sa voda (200 ml) a výsledný roztok sa trikrát extrahoval éterom. Spojené organické fázy sa premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a zahustili, čím sa získalo 9 g (70%) produktu uvedeného v podnázve, vo forme žltého oleja, ktorý sa bez ďalšieho čistenia použil v nasledujúcom kroku.

1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 6,74 (s, 1H), 6,67 (2s, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,68 (s, 2H), 2,33 (s, 3H).

(iii) Kyselina 3-metoxi-5-metylphenyloctová

Roztok 3-metoxi-5-metylphenylacetonitrilu (9 g, 0,06 mol, z kroku (ii) uvedeného vyššie) a KOH (17 g, 0,3 mol) v 150 ml zmesi voda:i-PrOH (2:1) sa zahrievalo za

miešania v autokláve pri teplote 120°C cez noc a potom pri laboratórnej teplote počas dvoch dní. Reakčná zmes sa zahustila a extrahovala éterom. Vodná fáza sa okyslila a dvakrát extrahovala éterom. Spojené organické vrstvy sa premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a odparili na zvyšok, ktorý sa rozpustil v EtOH, zmiešal s aktívnym uhlím, prefiltraval a odparil, čím sa získala zlúčenina uvedená v podnázve (8,1 g, 80%) vo forme žltých kryštálov.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,68 (s, 1H), 6,63 (2s, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,58 (s, 2H), 2,31 (s, 3H).

(iv) Etylster kyseliny 3-metoxi-5-metylfenylactovej

K roztoku kyseliny 3-metoxi-5-metylfenylactovej (8,1 g, 0,045 mol, z kroku (iii) uvedeného vyššie) v EtOH (100 ml) sa pridala koncentrovaná kyselina sírová a roztok sa nechal stáť počas 40 hodín. Reakčná zmes sa zahustila a surový produkt sa rozdelil medzi vodu a éter. Organická vrstva sa premyla vodným roztokom NaHCO_3 a vodou, vysušila (Na_2SO_4) a odparila, čím sa získal výtťažok 8,0 g (85%) zlúčeniny uvedenej v názve forme hnedého oleja.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6,71 (s, 1H), 6,65 (s, 1H), 6,64 (s, 1H), 4,16 (q, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,55 (s, 2H), 2,23 (s, 3H), 1,27 (t, 3H).

(v) Etylster kyseliny 3-oxo-2-(3-metoxi-5-metylfenyl)propiónovej

K roztoku etylesteru kyseliny 3-metoxi-5-metylfenylactovej (3,0 g, 14 mmol, z kroku (iv) uvedeného vyššie) a etylformiátu (1,9 g, 26 mmol) v étere (75 ml) sa pridala Na (0,39 g, 17 mmol) v malých kúskoch. Roztok sa ochladil na teplotu 0°C a potom sa pridala EtOH (abs., 0,24 ml). K reakčnej zmesi sa pridala éter (100 ml), EtOH (5 ml) a voda, pokým sa zmes nerozpustila. Vodná fáza sa odoberala, okyslila na pH 2 (vodnou HCl) a extrahovala éterom. Organická fáza sa premyla vodným NaHCO_3 , vysušila (Na_2SO_4) a odparila, čím sa získal výtťažok 2 g (59%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 12,12 (d, 0,5H), 7,31 (d, 0,5H), 6,62 (bs, 2H), 4,26 (q, 2H), 3,80 (s, 3H), 2,35 (s, 3H), 1,33 (t, 3H).

(vi) Etylester kyseliny 3-hydroxy-2-(3-metoxy-5-metylfenyl)propiónovej

Miešaný roztok etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3-metoxy-5-metylfenyl)propiónovej (1,9g, 8,1mmol, z kroku (v) uvedeného vyššie) v MeOH (50 ml) sa ochladil na teplote -15°C . Potom sa po častiach pridal NaBH_4 (0,61 g, 16 mmol). Zmes sa miešala počas 3 hodín pri teplote -15 až -5°C . Následne sa pridala voda a výsledná zmes sa zahustila. Vodná fáza sa extrahovala EtOAc, organická fáza sa premyla vodou, vysušila (Na_2SO_4) a odparila, čím sa získalo 2,0 g (59%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,65 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,58 (s, 1H), 4,3 – 4,05 (m, 3H), 3,8 (m, 5H), 2,30 (s, 3H), 1,32 (t, 3H).

(vii) Kyselina 3-hydroxy-2-(3-metoxy-5-metylfenyl)propiónová

Roztok etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3-metoxy-5-metylfenyl)propiónovej (1,7 g, 7,1 mmol, z kroku (vi) uvedeného vyššie) a NaOH (7,0 g, 180 mmol) v 200 ml MeOH:H₂O (1:1) sa miešal pri laboratórnej teplote počas 2 hodín. Reakčná zmes sa zahustila, premyla éterom a okysliła. Výsledná zmes sa dvakrát extrahovala éterom a spojené organické vrstvy sa premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a odparili, čím sa získalo 1,74 g (98%) zlúčeniny.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,70 (s, 1H), 6,66 (s, 1H), 6,65 (s, 1H), 4,12 (dd, 1H), 3,85 - 3,75 (m, 2H), 3,75 (s, 3H), 2,32 (s, 3H).

Príklad O

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(2,5-dimetoxifyenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E uvedenom vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(2,5-dimetoxifyenyl)propiónovej.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6,89 (d, 1H), 6,85 (d, 1H), 6,78 (dd, 1H), 4,86 (široký, 2H), 4,14 (dd, 1H), 3,98 (dd, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,72 (s, 3H), 3,67 (dd, 1H).

Príklad P

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3,5-dimetoxyfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E uvedenom vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3,5-dimetoxyfenyl)propiónovej.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6,44 (s, 2H), 6,40 (s, 1H), 4,13 (dd, 1H), 3,85 - 3,75 (m, 2H), 3,75 (s, 6H).

Príklad Q

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3,4-metyléndioxyfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E uvedenom vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3,4-metyléndioxyfenyl)propiónovej.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6,78 (s, 1H), 6,73 (s, 2H), 5,95 (s, 2H), 4,08 (dd, 1H), 3,78 (m, 2H).

Príklad R

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(1-naftyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E uvedenom vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(1-naftyl)propiónovej.

LC-MS m/z 215 ($M - 1$)⁻

Príklad S

(R,S)-3-Metoxyfenyl-CH(CH₂OTBDMS)COOH

(i) (R,S)-3-Metoxyfenyl-CH(CH₂OTBDMS)COOTBDMS

Imidazol (6,7 g, 97,8 mmol) a TBDMS-Cl (7,4 g, 48,9 mmol) sa pridali k roztoku kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metoxyfenyl)propiónovej (4 g, 20,4 mmol, z príkladu E(ii) uvedeného vyššie) v DMF (20 ml). Reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 3 dní. Potom sa pridala voda a zmes sa trikrát extrahovala éterom. Spojené organické fázy sa premyli kyselinou citrónovou (10%), vodou, vodným

roztokom NaHCO_3 a vodou, vysušili (Na_2SO_4) a odparili. Surový produkt (8,53 g, 98% žltého oleja) sa použil v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,22 (t, 1H), 6,90 (d, 1H), 6,88 (m, 1H), 6,81 (m, 1H), 4,16 (t, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,82 - 3,72 (m, 2H), 0,88 (s, 6H), 0,87 (s, 6H), 0,22 (d, 6H), 0,02 (d, 6H).

(ii) (R,S)-3-Metoxyfenyl-CH(CH_2OTBDMS)COOH

Zmes (R,S)-3-metoxyfenyl-CH(CH_2OTBDMS)COOTBDMS (8,0 g, 18,8 mmol), K_2CO_3 (6,25 g, 45,2 mmol), MeOH (120 ml) a vody (40 ml) sa miešala pri laboratórnej teplote cez noc. Po zahustení sa vodná vrstva premyla éterom, okyslila kyselinou citrónovou a trikrát extrahovala éterom. Spojené organické fázy sa premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a odparili, čím sa získalo 5 g (87%) zlúčeniny uvedenej v podnázve, vo forme žltého oleja.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,21 (t, 1H), 6,89 (s+d, 2H), 6,82 (m, 1H), 4,86 (b, 2H), 4,13 (dd, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,8 - 3,7 (m, 2H), 0,86 (s, 9H), 0,02 (d, 6H).

Príklad T

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-Boc-aminofenyl)propionová

(i) Etylester kyseliny 3-aminofenylactovej

Roztok kyseliny m-aminobenzoovej (3,0 g, 19,8 mmol) a koncentrovanej kyseliny sírovej (2 ml) v EtOH (abs., 20 ml) sa zahrieval počas troch dní pri teplote 75°C . Roztok sa zahustil, pridal sa vodný Na_2CO_3 a zmes sa extrahovala éterom (80 ml). Organická vrstva sa premyla sol'ankou, vysušila (Na_2SO_4) a zahustila, čím sa získalo 2,9 g (82%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,10 (t, 1H), 6,77 (d, 1H), 6,62 (t, 1H), 6,58 (m, 1H), 4,15 (q, 2H), 3,65 (b, 2H), 3,52 (s, 2H), 1,25 (t, 3H).

(ii) Etylester kyseliny 3-(Boc-amino)-fenylactovej

Roztok etylesteru kyseliny 3-aminofenyloctovej (1,9 g, 11 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) a Boc_2O (2,3 g, 11 mmol) v THF (50 ml) sa miešal pri laboratórnej teplote cez noc. Výsledná zmes sa zahustila, a pridala sa vodná kyselina chlorovodíková. Vodná zmes sa extrahovala éterom, organické vrstvy sa premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a zahustili, čím sa získalo 2,5 g (84%) produktu uvedeného v podnázve.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,33 (s, 1H), 7,24 (dd, 2H), 6,96 (m, 1H), 6,50 (b, 1H), 4,15 (q, 2H), 3,58 (s, 2H), 1,53 (s, 9H), 1,26 (t, 3H).

(iii) Etylester kyseliny 2-((3-Boc-amino)fenyl)-3-oxo-propiónovej

K roztoku etylesteru kyseliny 3-(Boc-amino)fenyloctovej (2,4 g, 8,6 mmol, z kroku (ii) uvedeného vyššie) a etylformiátu (1,1 g, 15 mmol) v suchom etylétere (60 ml) sa pridal Na (0,34 g, 15 mmol) v malých kúskoch. Zmes sa ochladila na ľadovom kúpeli, potom sa pridalo 0,15 ml absolútneho etylalkoholu. Reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas troch dní. Pridala sa zmes etyléter:EtOH (50:5ml), pričom sa vznikla šedá zmes, roztok sa nechalo chvíľu miešať a potom sa pridala voda, pokým sa nevytvoril číry žltý roztok. Fázy sa oddelili, organická fáza sa jedenkrát extrahovala vodou. Vodná fáza sa okyslila 3% vodnou kyselinou chlorovodíkovou na pH 2, pričom sa vytvorila biela zrazenina. Pridalo sa malé množstvo soľanky a vodná zmes sa extrahovala etyléterom. Organické fázy sa premyli vodným NaHCO_3 (10%), vysušili (Na_2SO_4) a odparili. Izoloval sa produkt uvedený v podnázve (1,7 g, 64%), vo forme číreho hnedastého oleja, ktorý mal postačujúcu čistotu, aby sa mohol použiť bez ďalšieho čistenia.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,4 (m, 3H), 7,0 (m, 1H), 6,6 (b, 1H), 4,3 (m, 2H), 1,5 (s, 9H), 1,3 (m, 3H).

(iv) Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-Boc-amino)fenylpropiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E uvedenom vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 2-((3-Boc-amino)fenyl)-3-oxo-propiónovej (z kroku (iii) uvedeného vyššie).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,25 (m, 3H), 6,95 (d, 1H), 6,55 (b, 1H), 4,15 (m, 2H), 1,50 (s, 9H), 1,20 (t, 3H).

Príklad U

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-(Boc-metylamino)fenyl)propiónová

(i) Etylester kyseliny 3-(formylamino)fenyloctovej

Roztok etylesteru kyseliny 3-aminofenyloctovej (3,0 g, 0,017 mol, z príkladu T(i) uvedeného vyššie) a kyseliny mravčej (1,5 g, 0,034 mol) v diizopropylétere (150 ml) sa refluxoval v Dean-Starkovom odlučovači cez noc. Roztok sa zahustil do sucha, rozpustil v étere a premyl so zriedenou kyselinou chlorovodíkovou na odstránenie východiskového materiálu. Vysušením (Na_2SO_4) a zahustením sa získala zlúčenina uvedená v podnázve (3,1 g, 89 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 8,65 (d, 1H), 8,40 (b, 1H), 7,45 (m, 1H), 7,25 (m, 1H), 7,05 (m, 2H), 4,15 (m, 2H), 3,55 (s, 2H), 1,30 (m, 3H).

(ii) Etylester kyseliny 3-(metylamino)fenyloctovej

Roztok komplexu borán-dimetylsulfid (2M v THF, 20 ml) sa pridalo k ľadovému roztoku etylesteru kyseliny 3-(formylamino)fenyloctovej (4,1 g, 0,02 mol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v THF (suchý, 100 ml) a reakčná zmes sa miešala počas jednej hodiny. Výsledný roztok sa vliat do zriedenej kyseliny chlorovodíkovej a zmes sa nechala stáť 15 minút, potom sa premyla éterom, čím sa odstránil nezreagovaný materiál. Vodný roztok sa zalkalizoval (NaHCO_3) a extrahoval éterom (trikrát). Spojené organické fázy sa premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a odparili, čím sa získalo 3 g (78%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,10 (t, 1H), 6,60 (d, 1H), 6,50 (m, 2H), 4,10 (q, 2H), 3,50 (s, 2H), 2,80 (s, 3H), 1,20 (t, 3H).

(iii) Etylester kyseliny 3-(N-Boc-metylamino)fenyloctovej

Roztok etylesteru kyseliny 3-(metylamino)fenyloctovej (3,0 g, 0,016 mol) z kroku (ii) uvedeného vyššie a Boc_2O (3,4 g, 0,016 mol) v THF (100 ml) sa miešal pri laboratórnej teplote počas 12 dní. Výsledný roztok sa zahustil, čím sa získala zlúčenina uvedená v podnázve (4,9 g, kvantitatívne).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,25 (d, 1H), 7,10 (m, 3H), 4,15 (q, 2H), 3,60 (s, 2H), 3,25 (s, 3H), 1,45 (s, 9H), 1,25 (t, 3H).

(iv) Etylester kyseliny 2-((N-Boc-metylamino)fenyl)-3-oxo-propiónovej

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v príklade T(iii) uvedeného vyššie, z etylesteru kyseliny 3-(N-Boc-metylamino)fenyloctovej (2,0 g, 6,8 mmol, z kroku (iii) uvedeného vyššie), čím sa získalo 1,6 g (73%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 12,15 (d, 0,5H), 7,74 (s, 0,5H), 7,25 (m, 4H), 4,2 (m, 2H), 3,26 (s, 3H), 1,46 (s, 9H), 1,29 (m, 3H).

(v) Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-(Boc-metylamino)fenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E uvedeného vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 2-((N-Boc-metylamino)fenyl)-3-oxopropiónovej (z kroku (iv) uvedeného vyššie).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,25 (m, 1H), 7,15 (m, 3H), 7,05 (d, 1H), 4,05 (m, 1H), 3,80 (m, 2H), 1,40 (s, 9H).

Príklad V

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-chlór-5-metylfenyl)propiónová

(i) 3-Chlór-5-metylbenzylbromid

Roztok 5-chlór-m-xylénu (14,06 g, 0,1 mol), NBS (17,8 g, 0,1 mol) a AIBN (1,1g, 6,7 mmol) v CCl_4 sa refluxoval počas dvoch hodín. Výsledná zmes sa ochladila a vzniknutá pevná látka sa odstránila filtráciou. Zahustením sa získala zlúčenina uvedená v podnázve (17,9 g, 80%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,20 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 7,09 (s, 1H), 4,41 (s, 2H), 2,34 (s, 3H).

(ii) 3-Chlór-5-metylfenylacetonitril

Pripravil sa roztok 3-chlór-5-metylbenzylbromidu (17,6 g, 0,8 mol, z kroku (i) uvedeného vyššie) a NaCN (8,2 g, 0,16 mol) v DMSO (25 ml). Výsledná, skôr teplá zmes, sa mierne ochladila a potom sa miešala pri laboratórnej teplote počas jednej hodiny. Následne sa pridal CH_3CN (25 ml) a zmes sa nechala refluxovať počas jednej hodiny. Po ochladení sa pridala voda (200 ml) a výsledný roztok sa trikrát extrahoval éterom. Spojené organické fázy sa trikrát premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a odparili, čím sa získalo 16,6 g (80%) surového produktu uvedeného v podnázve, ktorý sa bez ďalšieho čistenia použil v nasledujúcom kroku.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,14 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 7,04 (s, 1H), 3,69 (s, 2H), 2,35 (s, 3H).

(iii) Kyselina 3-chlór-5-metylfenylactová

Zmes 3-chlór-5-metylfenylacetonitrilu (13,3 g, z kroku (ii) uvedeného vyššie) a KOH (17 g, 0,3 mol) v 150 ml zmesi vody a i-PrOH (2:1) sa za miešania zahrievalo v autokláve pri teplote 120°C cez noc a potom pri laboratórnej teplote počas dvoch dní. Izopropanol sa odparil a zvyšok sa okyslil (6M HCl) na pH 2 a trikrát sa extrahoval éterom. Spojené organické vrstvy sa dvakrát premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a odparili, čím sa získala zlúčenina uvedená v podnázve (10,4 g, 70%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,09 (s, 2H), 6,97 (s, 1H), 3,57 (s, 2H), 2,18 (s, 3H).

FAB-MS m/z 366 ($\text{M} - 1$)⁺

(iv) Etylster kyseliny 3-chlór-5-metylfenylactovej

Roztok kyseliny 3-chlór-5-metylfenylactovej (5,0 g, 27,09 mmol, z kroku (iii) uvedeného vyššie) a kyselina sírová (konc., 0,1 ml) v EtOH (25 ml) sa refluxoval cez noc. Roztok sa zahustil a výsledná zmes sa digerovala v roztoku Na_2CO_3 (75 ml). Po extrahovaní s éterom (2 x 75 ml) sa spojené organické fázy premyli sol'ankou,

vysušili (Na_2SO_4) a odparili, čím sa získalo 4,92 g (85%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,07 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,97 (s, 1H), 4,15 (q, 2H), 3,54 (s, 2H), 2,31 (s, 3H), 1,25 (t, 3H).

(v) Etylster kyseliny 3-oxo-2-(3-chlór-5-metylfenyl)propiónovej

Pripravil sa analogicky podľa spôsobu opísaného v príklade N(v) vyššie z etylesteru kyseliny 3-chlór-5-metylfenylactovej (4,89 g, 23 mmol, z kroku (iv) opísaného vyššie, etylformiátu (3,3 g, 41,4 mmol) a Na (0,63 g, 27,6 mmol, pridaného v malých kúskoch) v suchom etylétere (50 ml), pričom sa získalo 3,4 g (61%) zlúčeniny uvedenej v podnázve vo forme číreho oleja, ktorý stáť pomaly kryštalizoval.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 12,2 (b, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,09 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 4,30 (q, 2H), 2,33 (s, 3H), 1,30 (t, 3H).

FAB-MS m/z 238, 240 ($M - 1$)⁻

(vi) Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-chlór-5-metylfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v príklade E uvedenom vyššie, pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3-chlór-5-metylfenyl)propiónovej (z kroku (v) opísaného vyššie).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,12 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 6,98 (s, 1H), 4,12 (m, 1H), 3,82 (m, 2H), 2,30 (s, 3H).

Príklad W

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3,5-dimetoxyfenyl)propiónová

(i) Etylster kyseliny 3,5-dimetoxyfenylactovej

Roztok kyseliny 3,5-dimetoxyfenylactovej (2,0 g, 10 mmol) a kyseliny sírovej (konc., 0,2 ml) v EtOH (50 ml) sa refluxovalo cez noc. Roztok sa zahustil a výsledný materiál sa rozpustil vo vodnom NaOH (1M). Po extrakcii éterom (2 x 75 ml) sa

spojené organické fázy premyli soľankou, vysušili (Na_2SO_4) a zahustili, čím sa získalo 2,0 g (88%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6,46 (d, 2H), 6,38 (t, 1H), 4,17 (q, 2H), 3,71 (s, 6H), 3,55 (s, 2H), 1,27 (t, 3H).

(ii) Etylster kyseliny 2-(3,5-dimetoxyfenyl)-3-oxo-propiónovej

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v J. Org. Chem. 54, 3831 (1989) z etylesteru kyseliny 3,5-dimetoxyfenyloctovej (2,0 g, 8,9 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), čím sa získalo 3,4 g (61%) zlúčeniny uvedenej v podnázve vo forme číreho oleja, ktorý státim pomaly kryštalizoval. Produkt bol dostatočne čistý a použil sa bez ďalšieho čistenia v nasledujúcom kroku.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 7,25 (m, 1H), 6,40 (m, 3H), 4,27 (q, 2H), 3,75 (s, 6H), 1,30 (t, 3H).

(iii) Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3,5-dimetoxyfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného vyššie v príklade E z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3,5-dimetoxyfenyl)propiónovej (z kroku (ii) uvedeného vyššie).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 6,44 (s, 2H), 6,39 (s, 1H), 4,12 (m, 1H), 3,76 (m, 8H).

Príklad X

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(2-chlór-5-(Boc-amino)fenyl)propiónová

(i) 2-Chlór-5-(Boc-amino)benzylalkohol

K ľadovo chladnému roztoku kyseliny 5-amino-2-chlórbenzoovej (9,0 g, 33mmol) v zmesi THF:DMF (200 ml, 1:1) sa pridal TEA (4,0 g, 40 mmol) a následne izobutylchlórformiát (5,4 g, 40 mmol, pridaný po kvapkách). Zmes sa potom miešala počas ďalších 30 minút, vytvorená biela zrazenina sa odstránila filtráciou, filtrát sa ochladil na teplotu -15°C a pridal sa NaBH_4 (3,8 g, 10 mmol) a voda (20 ml). Po 15 minútach sa pridala voda (200 ml) a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote počas 1 hodiny. Po odparení sa zvyšok rozpustil v metylalkohole. Prefiltro-

vaním a zahustením sa získal surový produkt, ktorý sa prečistil okamžitou chromatografiou (silikagél, CH_2Cl_2 :MeOH (9:1)), čím sa získalo 7,4 g (87%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 7,48 (s, 1H), 7,27 (m, 2H), 6,58 (s, 1H), 4,74 (d, 2H), 1,52 (s, 9H).

(ii) 2-Chlór-5-(Boc-amino)benzylmezylát

K ľadovo chladnému roztoku 2-chlór-5-(Boc-amino)benzylakoholu (7,4g, 29 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v CH_2Cl_2 (100 ml) sa pridal TEA (2,9 g, 29 mmol) a následne MsCl (3,3 g, 29 mmol, pridané po kvapkách). Po miešaní počas 2 hodín sa výsledná zmes vliala do vody. Organická vrstva sa oddelila, premyla vodou, vysušila (Na_2SO_4) a zahustila, čím sa získalo 10 g (100%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,50 (m, 1H), 7,40 (m, 1H), 7,32 (s, 1H), 6,55 (b, 1H), 5,27 (s, 2H), 3,05 (s, 3H), 1,50 (s, 9H).

(iii) (2-Chlór-5-(Boc-amino)fenyl)acetonitril

K miešanému roztoku 2-chlór-5-(Boc-amino)benzylmezylátu z kroku (ii) uvedeného vyššie) v DMSO sa pridal NaCN (2,9 g, 60 mmol) a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote cez noc. Zmes sa vliala do vody (300 ml) a vodná suspenzia sa extrahovala éterom (4 x 50 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a zahustili. Po okamžitej chromatografii (silikagél, heptán:EtOAc (8:2)), sa získalo 5,2 g, (65%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,52 (d, 1H), 7,35 (m, 2H), 6,50 (b, 1H), 3,80 (s, 2H), 1,50 (s, 9H).

(iv) Kyselina (2-Chlór-5-(Boc-amino)fenyl)octová

K roztoku (2-chlór-5-(Boc-amino)fenyl)acetonitrilu (5,2 g, 20 mmol, z kroku (iii) uvedeného vyššie) v zmesi voda:izopropanol (37 ml, 2:1) sa pridal KOH (5 g, 89 mmol) a roztok sa refluxoval cez noc. Zmes sa potom zahustila, pridala sa vo-

da:THF (500 ml, 1:1) a Boc_2O a zmes sa miešala cez noc. THF sa odparil, vodná fáza sa premyla éterom (1 x 50 ml), okyslila sa zriedenou kyselinou chlorovodíkovou a extrahovala EtOAc (3 x 30 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a zahustili, čím sa získalo 2,8 g, (50%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,40 (b, 1H), 7,26 (s, 1H), 7,21 (d, 1H), 6,55 (b, 1H), 3,77 (s, 2H), 1,50 (s, 9H).

(v) Etylester kyseliny (2-chlór-5-(Boc-amino)fenyl)octovej

K roztoku kyseliny (2-chlór-5-(Boc-amino)fenyl)octovej (2,8 g, 9,8 mmol, z kroku (iv) uvedeného vyššie) v acetóne (100 ml) sa pridal K_2CO_3 (2,1 g, 15 mmol). Potom sa pridal etyljodid (70,6 g, 150 ml) za miešania a refluxovania reakčnej zmesi. Roztok sa zahustil a výsledná zmes sa rozdelila medzi éter a vodu (1:1, 60 ml). Organické vrstvy sa oddelili a vodná vrstva sa jedenkrát extrahovala éterom (30 ml). Spojené organické fázy sa premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a zahustili, čím sa získalo 3,0 g, (98%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,35 (b, 1H), 7,25 (s, 2H), 7,20 (d, 1H), 6,52 (b, 1H), 4,15 (q, 2H), 3,70 (s, 2H), 1,50 (s, 9H), 1,25 (t, 3H).

(vi) Etylester kyseliny 2-(2-chlór-5-(Boc-amino)fenyl)-3-oxo-propiónovej

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného v J. Org. Chem. 54, 3831 (1989)) z etylesteru kyseliny (2-chlór-5-(Boc-amino)fenyl)octovej (3,0 g, 9,6 mmol, z kroku (v) uvedeného vyššie), čím sa získalo 1,6 g, (49%) zlúčeniny uvedenej v podnázve vo forme číreho hnedastého oleja, ktorý bol dostatočne čistý a použil sa bez v ďalšom kroku bez čistenia.

^1H NMR (300 MHz, MeODCDCl_3): δ 8,98 (b, 0,5H), 7,89 (s, 0,5H), 7,25 (m, 3H), 4,88 (s, 2H), 4,15 (q, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,20 (t, 3H).

(vii) Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(2-chlór-5-(Boc-amino)fenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného vyššie v príklade E z etylesteru kyseliny 2-(2-chlór-5-(Boc-amino)fenyl)-3-oxo-propiónovej (z kroku (vi) uvedeného vyššie).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,25 (m, 4H), 6,70 (b, 1H), 4,37 (m, 1H), 4,15 (b, 1H), 4,05 (t, 1H), 3,90 (d, 1H), 1,50 (s, 9H).

Príklad Y

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metylfenyl)propiónová

(i) Etylester kyseliny 2-(3-metylfenyl)-3-oxo-propiónovej

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v J. Org. Chem. 54, 3831 (1989), pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3-metylfenyloctovej (3,0 g, 17 mmol), čím sa získalo 2,5 g (72%) zlúčeniny uvedenej v podnázve, ktorá mala dostatočnú čistotu a použila sa v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,25 (m, 2H), 7,05 (m, 2H), 4,30 (q, 2H), 2,40 (q, 2H), 1,30 (t, 3H).

(ii) Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metylfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného vyššie v príklade E z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(3-metylfenyl)propiónovej (z kroku (i) uvedeného vyššie), čím sa získalo 1,6 g (80%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,20 (m, 1H), 7,05 (m, 3H), 4,12 (t, 1H), 3,80 (m, 2H), 2,32 (s, 3H).

Príklad Z

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(2,5-dimetylfenyl)propiónová

(i) Etylester kyseliny (2,5-dimetylfenyl)octovej

Roztok kyseliny (2,5-dimetylfenyl)octovej (3,0 g, 18,3 mmol) a kyseliny sírovej (konc., 0,1 ml) v EtOH (40 ml) sa refluxoval počas 6 dní. Roztok sa zahustil, pridal sa éter (40 ml) a výsledná zmes sa premyla roztokom Na_2CO_3 (2 x 25 ml) a vodou

(1 x 25 ml). Organická fáza sa vysušila (MgSO_4) a odparila, čím sa získalo 2,94 g (84%) zlúčeniny uvedenej v podnázve vo forme čirej bezfarebnej kvapaliny s čistotou 97%.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,08 (d, 1H), 7,02 (d, 1H), 7,00 (s, 1H), 4,17 (q, 2H), 3,61 (s, 2H), 2,33 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 1,28 (t, 3H).

(ii) Etylester kyseliny 2-(2,5-dimetylfenyl)-3-oxo-propiónovej

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v J. Org. Chem. 54, 3831 (1989), pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny (2,5-dimetylfenyl)octovej (2,92 g, 15 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), čím sa získalo 2,89 g (86%) zlúčeniny uvedenej v podnázve, vo forme hnedožltého oleja.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 12,00 (d, 1H), 7,10 (m, 2H), 6,92 (s, 1H), 4,25 (b, 2H), 2,33 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 1,25 (t, 3H).

(iii) Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(2,5-dimetylfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného vyššie v príklade E uvedeného vyššie, z etylesteru kyseliny 3-oxo-2-(2,5-dimetylfenyl)propiónovej (2,87 g, 13 mmol, z kroku (ii) uvedeného vyššie), čím sa získalo 1,37 g (55%) zlúčeniny uvedenej v podnázve vo forme bieleho prášku.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,10 (d, 1H), 7,01 (d, 1H), 7,00 (s, 1H), 4,14 (m, 2H), 3,73 (q, 1H), 2,37 (s, 3H), 2,29 (s, 3H).

Príklad AA

Kyselina 2-(4-benzyloxy-3-metoxyfenyl)-3-hydroxy-propiónová

(i) Benzylester kyseliny 4-benzyloxy-3-metoxyfenyloctovej

Uhličitan cézny (17,88 g, 54,9 mmol) sa pridal k roztoku kyseliny homovanilovej (2,0 g, 11 mmol) v CH_3CN), a následne sa v priebehu 10 minút pridal BnBr (4,3 g, 24,15 mmol). Zmes sa refluxovala cez noc, prefiltrovala sa cez Hyflo a zahustila. Výsledná zmes sa rozpustila v EtOAc (100 ml), pridala sa voda (30 ml) a vodná

vrstva sa oddelila. Organická fáza sa premyla roztokom kyseliny citrónovej (5%, 1 x 20 ml) a soľankou, vysušila sa (Na_2SO_4) a odparila, čím sa získalo 4,25 g (kvantitatívny výťažok) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,43 (d, 2H), 7,34 (m, 8H), 6,82 (d, 2H), 6,74 (dd, 1H), 5,33 (s, 4H), 3,84 (s, 3H), 3,59 (s, 2H).

(ii) Etylester kyseliny 2-(4-benzyloxy-3-metoxyfenyl)-3-oxo-propiónovej

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v J. Org. Chem. 54, 3831 (1989), pričom sa vychádzalo z benzylesteru kyseliny 4-benzyloxy-3-metoxyfenyloctovej (4,12 g, 11,4 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), čím sa získalo 1,4 g (31,5%) produktu uvedeného v podnázve.

LC-MS m/z 327 ($M - 1$)

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 12,03 (d, 1H), 7,44 (d, 2H), 7,30 (m, 5H), 6,85 (d, 2H), 6,72 (dd, 1H), 5,15 (s, 2H), 4,27 (q, 2H), 3,88 (s, 3H), 1,30 (t, 3H).

(iii) Etylester kyseliny 2-(4-benzyloxy-3-metoxyfenyl)-3-hydroxypropiónovej

Roztok etylesteru kyseliny 2-(4-benzyloxy-3-metoxyfenyl)-3-oxo-propiónovej (1,356 g, 3,47 mmol, z kroku (ii) uvedeného vyššie) v zmesi $\text{MeOH}:\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (3:1, 20 ml) sa ochladil na teplotu -15 až -5°C a po častiach sa pridal NaBH_4 (0,264 g, 6,95 mmol). Ochladená reakčná zmes sa miešala, pričom sa teplota reakčnej zmesi nechala vystúpiť na laboratórnu teplotu. Pridala sa voda a zmes sa čiastočne zahusťila. Po extrakcii s EtOAc (2 x 25 ml), premytí organickej fázy so soľankou, vysušenie (Na_2SO_4) a odparení sa získalo 1,32 g (97,1% zlúčeniny uvedenej v podnázve).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,42 (d, 2H), 7,32 (m, 4H), 6,82 (m, 2H), 6,74 (dd, 1H), 5,13 (s, 2H), 4,15 (m, 3H), 3,88 (s, 3H), 3,78 (m, 2H), 1,23 (t, 3H).

(iv) Kyselina 2-(4-benzyloxy-3-metoxyfenyl)-3-hydroxypropiónová

K roztoku etylesteru kyseliny 2-(4-benzyloxy-3-metoxyfenyl)-3-hydroxypropiónovej (1,29 g, 3,29 mmol, z kroku (iii) uvedeného vyššie) v THF (12,5 ml) sa pridal roztok LiOH (0,273 g, 6,75 mmol) vo vode (5 ml) a zmes sa miešala pri laboratórnej

teplote počas 2,5 hodín. Výsledná zmes sa čiastočne zahustila, pridala sa voda (25ml) zmes sa premyla dvomi dielmi CH_2Cl_2 , okyslila sa vodnou kyselinou chlorovodíkovou (2M) a extrahovala sa troma dielmi CH_2Cl_2 . Spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, vysušili (Na_2SO_4) a odparili, čím sa získalo 10,55 g (kvantitatívny výťažok) zlúčeniny vo forme žltého prášku s čistotou 83,2%.

^1H NMR (400 MHz, MeOH): δ 7,41 (d, 2H), 7,32 (m, 4H), 6,94 (d, 2H), 6,82 (dd, 1H), 5,06 (s, 2H), 4,04 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,70 (m, 2H).

Príklad AB

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-(3,5-dichlórfenyl)propiónová

(i) 3,5-Dichlórbenzylalkohol

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného vyššie v príklade X(i) z kyseliny 3,5-dichlórbenzoovej (15,3 g, 80 mmol), TEA (8,9 g, 88 mmol), izobutylchlórformiátu (12 g, 88 mmol) a NaBH_4 (9,0 g, 240 mmol), čím sa získalo 10,5 g (74%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,27 (t, 1H), 7,28 (d, 2H), 4,68 (s, 2H).

(ii) 3,5-Dichlórfenylacetonitril

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného vyššie v príklade X(ii) a X(iii) z 3,5-dichlórbenzylalkoholu (10,3 g, 58 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), TEA (6,5 g, 64 mmol) a MsCl (7,0 g, 61 mmol), pričom sa získalo 9,6 g (89%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,37 (m, 3H), 3,74 (s, 2H).

(iii) Kyselina 3,5-dichlórfenylactová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného vyššie v príklade X(iv) z 3,5-dichlórfenylacetonitrilu (9,6 g, 52 mmol, z kroku (ii) uvedeného vyššie) a KOH (12,3g, 220 mmol), čím sa získalo 7,6 g (72%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,31 (t, 1H), 7,20 (d, 2H), 3,63 (s, 2H).

(iv) Etylester kyseliny 3,5-dichlórfenyloctovej

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného vyššie v príklade T(ii) z kyseliny 3,5-dichlórfenyloctovej (7,5 g, 37 mmol, z kroku (ii) uvedeného vyššie) a kyseliny sírovej (konc., 0,1 ml), čím sa získalo 3,0 g (35%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,28 (t, 1H), 7,18 (d, 2H), 4,17 (q, 2H), 3,56 (s, 2H), 1,27 (t, 3H).

(v) Etylester kyseliny 2-(3,5-dichlórfenyl)-3-oxo-propiónovej

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v J. Org. Chem. 54, 3831 (1989), pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 3,5-dichlórfenyloctovej (3,0 g, 12,9 mmol, z kroku (iv) uvedeného vyššie), čím sa získala zlúčenina uvedená v podnázve (3,0 g, 89%), vo forme číreho oleja, ktorý bol dostatočne čistý a použil sa v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 12,20 (d, 1H), 7,29 (t, 1H), 7,23 (d, 2H), 4,32 (q, 2H), 1,33 (t, 3H).

(vi) Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3,5-dichlórfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného vyššie v príklade E z etylesteru kyseliny 2-(3,5-dichlórfenyl)-3-oxo-propiónovej (z kroku (v) uvedeného vyššie).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,34 (t, 1H), 7,24 (d, 2H), 4,12 (dd, 1H), 3,91 (dd, 1H), 3,84 (dd, 1H).

Príklad AC

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(2,3-dimetoxyfenyl)propiónová

(i) Etylester kyseliny 2,3-dimetoxyfenyloctovej

K roztoku kyseliny 2,3-dimetoxyfenyloctovej (2,52 g, 12,8 mmol) v Etanole (abs., 20 ml) sa pridala kyselina sírová (30 μl) a roztok sa refluxoval počas 20 hodín. Vý-

sledný roztok sa zahustil, rozpustil v étere a éterový roztok sa premyl vodným NaHCO₃ (2 x 30 ml) a soľankou, vysušil (MgSO₄) a zahustil, čím sa získala zlúčenina uvedená v podnázve.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 6,99 (m, 1H), 6,83 (m, 2H), 4,16 (q, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,65 (s, 2H), 1,25 (t, 3H).

(ii) Etylester kyseliny 2-(2,3-dimetoxyfenyl)-3-oxo-propiónovej

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v J. Org. Chem. 54, 3831 (1989), pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 2,3-dimetoxyfenyloctovej (2,14 g, 9,5 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), čím sa získala zlúčenina uvedená v podnázve (1,53 g, 64%), vo forme číreho nazelenalého oleja, ktorý bol dostatočne čistý a použil sa v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 12,00 (d, 1H), 7,19 (d, 1H), 7,05 (m, 2H), 6,91 (m, 2H), 6,74 (dd, 1H), 4,24 (q, 2H), 3,87 (s, 3H), 3,74 (s, 3H), 1,24 (t, 3H).

(iii) Kyselina (R,S)-3-hydroxy-(2,3-dimetoxyfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného vyššie v príklade E z etylesteru kyseliny 2-(2,3-dimetoxyfenyl)-3-oxo-propiónovej (z kroku (ii) uvedeného vyššie).

LC-MS m/z 225 (M - 1)⁻

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,05 (t, 1H), 6,87 (dd, 1H), 6,82 (dd, 1H), 4,15 (m, 3H), 3,85 (s, 6H), 3,75 (m, 1H).

Príklad AD

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metoxy-5-chlórfenyl)propiónová

(i) 3-Metoxy-5-chlórbenzaldehyd

3,5-dichlóranizol (1,1 g, 6,8 mmol) sa po častiach pridal k horčikovým stružli-
nám (0,20 g, 8,2 mmol) v THF (suchý, 20 ml). Po prvom pridaní sa na iniciáciu re-
akcie pridal etylbromid (0,1 ml). Po pridaní celého množstva sa reakčná zmes
miešala pri teplote 60°C cez noc, reakčná zmes sa potom ochladila na teplotu 0°C

a pridal sa DMF. Po miešaní počas jednej hodiny sa zmes vliala do vodnej kyseliny chlorovodíkovej, zahustila sa a extrahovala éterom (3 x 50 ml). Spojené organické fázy sa premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a zahustili, čím sa získalo 2,35 g zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 9,91 (s, 1H), 7,43 (t, 1H), 7,28 (t, 1H), 7,15 (t, 1H), 3,87 (s, 3H).

(ii) 3-Metoxi-5-chlórfenylacetaldehyd

Pripravil sa podľa spôsobu, ktorý opísali P. Weierstahl a kol., Liebigs Ann. 1389, (1995), pričom sa vychádzalo z 3-metoxi-5-chlórbenzaldehydu (2,35 g, 13,8 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), čím sa získalo 2,0 g (približne 54%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 9,71 (t, 1H), 6,84 (t, 1H), 6,81 (t, 1H), 6,64 (t, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,62 (s, 2H).

(iii) Kyselina (3-metoxi-5-chlórfenyl)octová

Pripravila sa podľa spôsobu, ktorý opísali S. E. de Laszlo a P. G. Willars v J. Am. Chem. Soc. 107, 199 (1985) z 3-metoxi-5-chlórfenylacetaldehydu (102 mg, 0,55 mmol z kroku (ii) uvedeného vyššie), čím sa získalo 37 mg (33,6%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

LC-MS m/z 199 ($\text{M} - 1$)⁻

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 6,82 (t, 1H), 6,75 (t, 1H), 6,62 (t, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,50 (s, 2H).

(iv) Etylster kyseliny (3-metoxi-5-chlórfenyl)octovej

Roztok kyseliny (3-metoxi-5-chlórfenyl)octovej (0,983 g, 4,9 mmol, z kroku (iii) uvedeného vyššie) a kyselina sírová (konc., 0,1 ml) v EtOH (25 ml) sa refluxoval cez noc. Výsledná zmes sa zahustila a pridal sa vodný Na_2CO_3 (75 ml). Zmes sa extrahovala éterom (2 x 75 ml), spojené organické vrstvy sa premyli soľankou, vy-

sušili (Na_2SO_4) a zahustili, čím sa získalo 0,989 g (88,3%) zlúčeniny uvedenej v podnázve, vo forme hnedého oleja.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 6,88 (t, 1H), 6,81 (t, 1H), 6,72 (t, 1H), 4,16 (q, 2H), 3,79 (s, 3H), 3,54 (s, 2H), 1,26 (t, 4H).

(v) Etylster kyseliny 2-(3-metoxi-5-chlórfenyl)-3-oxo-propiónovej

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v J. Org. Chem. 54, 3831 (1989), pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny (3-metoxi-5-chlórfenyl)octovej (0,989 g, 4,33mmol, z kroku (iv) uvedeného vyššie), čím sa získalo 0,347 g, (31,3%), zlúčeniny uvedenej v podnázve, ktorá bola dostatočne čistá a použila sa v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 12,15 (b, 1H), 7,31 (s, 1H), 6,86 (t, 1H), 6,82 (t, 1H), 6,70 (t, 1H), 4,30 (q, 2H), 3,80 (s, 3H), 1,31 (t, 3H).

(vi) Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metoxi-5-chlórfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného vyššie v príklade E z etylesteru kyseliny 2-(3-metoxi-5-chlórfenyl)-3-oxo-propiónovej (z kroku (v) uvedeného vyššie).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 6,89 (t, 1H), 6,84 (t, 1H), 6,74 (t, 1H), 4,12 (dd, 1H), 3,83 (m, 2H), 3,79 (s, 3H).

Príklad AE

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(2-metyl-5-metoxifyenyl)propiónová

(i) 2-(2-Bróm-5-metoxifyenyl)-1,3-dioxolán

K roztoku 2-bróm-5-metoxybenzaldehydu (5,0 g, 23,2 mmol) v toluéne (300 ml) sa pridal etándiol (2,16 g, 34,2 mmol) a p-TsOH (20 mg) a reakčná zmes sa potom refluxovala počas 12 hodín. Výsledná zmes sa ochladila na laboratórnu teplotu, premyla sa vodným NaHCO_3 , vysušila (Na_2SO_4) a zahustila, čím sa získalo 5,918g (98%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 7,44 (d, 1H), 7,16 (d, 1H), 6,78 (dd, 1H), 6,04 (s, 1H), 4,12 (m, 4H), 3,80 (s, 3H).

(ii) 2-(2-Metyl-5-metoxifyfenyl)-1,3-dioxolán

Roztok 2-(2-bróm-5-metoxifyfenyl)-1,3-dioxolán (5,44 g, 21 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v THF (suchom, 60 ml) sa ochladil na teplotu -78°C pod dusíkovou atmosférou a po kvapkách sa pomocou injekčnej striekačky pridalo n-BuLi (1,4M, 19,5 ml). Po pridaní sa roztok miešal pri teplote -78°C počas 35 minút, potom sa pridal metyljodid (13,41 g, 94,5 mmol). Výsledná zmes sa pomaly miešala až po dosiahnutie laboratórnej teploty a potom sa zriedila vodným NH_4Cl a extrahovala éterom. Organická fáza sa vysušila (Na_2SO_4) a zahustila, čím sa získalo 4,25 g (kvantitatívny výťažok) zlúčeniny uvedenej v podnázve vo forme hnedého oleja.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 7,12 (d, 1H), 7,08 (d, 1H), 6,81 (dd, 1H), 5,93 (s, 1H), 4,10 (m, 4H), 3,80 (s, 3H), 2,35 (s, 3H).

(iii) 2-Metyl-5-metoxybenzaldehyd

Roztok 2-(2-metyl-5-metoxifyfenyl)-1,3-dioxolánu (4,2 g, 21,6 mmol, z kroku (ii) uvedeného vyššie) v zmesi THF (60 ml) a vodnej kyseliny chlorovodíkovej (5%, 30ml) sa miešal cez noc pri laboratórnej teplote. Roztok sa zahustila zmes sa extrahovala éterom. Organická fáza sa vysušila (Na_2SO_4) a zahustila, čím sa získalo 2,956 g (91%) tmavo hnedej kvapaliny.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 10,28 (s, 1H), 7,33 (d, 1H), 7,16 (d, 1H), 7,04 (dd, 1H), 3,84 (s, 3H), 2,60 (s, 3H).

(iv) Etylster kyseliny (2-metyl-5-metoxy)octovej

Pripravil sa podľa postupu opísaného v príklade AD(ii) až AD(iv) uvedeného vyššie, z 2-metyl-5-metoxybenzaldehydu (z kroku (iii) uvedeného vyššie), čím sa získalo 1,18 g (30% v troch krokoch) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,08 (d, 1H), 6,77 (d, 1H), 6,73 (dd, 1H), 4,16 (q, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,59 (s, 2H), 2,24 (s, 2H), 1,26 (t, 3H).

(v) Etylester kyseliny 2-(2-metyl-5-metoxifynyl)-3-oxo-propionovej

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v J. Org. Chem. 54, 3831 (1989), pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny (2-metyl-5-metoxyoctovej (1,16 g, 5,57 mmol, z kroku (iv) uvedeného vyššie), čím sa získalo 0,745 g, (57%), zlúčeniny uvedenej v podnázve, ktorá bola dostatočne čistá a použila sa v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 11,97 (d, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,10 (d, 1H), 6,67 (dd, 1H), 4,24 (q, 2H), 3,78 (s, 3H), 2,14 (s, 2H), 1,23 (t, 3H).

(vi) Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(2-metyl-5-metoxifynyl)propionová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného vyššie v príklade E z etylesteru kyseliny 2-(2-metyl-5-metoxifynyl)-3-oxo-propionovej (z kroku (v) uvedeného vyššie).

^1H NMR (400 MHz, MeOD): δ 7,09 (d, 1H), 6,84 (d, 1H), 6,72 (dd, 1H), 4,03 (m, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,64 (dd, 1H), 2,32 (s, 2H).

Príklad AF

(i) Metylester kyseliny tropovej

K roztoku kyseliny tropovej (5,0 g, 30 mmol) v zmesi toluén: CH_2Cl_2 (150 ml, 2:1) sa pridal DBU (4,6 g, 30 mmol) a následne metyljodid (4,3 g, 30 mmol). Zmes sa miešala cez noc, pridala sa voda a fázy sa nechali oddeliť. Vodná fáza sa extrahovala éterom a spojené organické fázy sa premyli vodným NaHCO_3 , vodnou kyselinou chlorovodíkovou a vodou, vysušili sa (Na_2SO_4) a zahustili, čím sa získalo 0,95 g (18%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,25 (m, 5H), 4,25 (m, 1H), 3,88 (m, 2H), 3,73 (s, 3H).

(ii) Metylester kyseliny 2-metyl-2-fenyl-3-metoxypionovej

K chladnému roztoku metylesteru kyseliny tropovej (0,9 g, 5,0 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa pridal hydrid sodný (0,87 g, 20 mmol) a výsledná zmes sa miešala počas 15 minút, potom sa pridal metyljodid (2,8g, 20mmol) a zmes sa miešala pri laboratórnej teplote cez noc. Zmes sa vliala do vody (200 ml) a výsledná suspenzia sa extrahovala éterom (4 x 25 ml). Spojené organické fázy sa premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a zahustili, čím sa získalo 0,70 g surového produktu (približne 65%), ktorý sa bez ďalšieho čistenia použil v nasledujúcom kroku.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,25 (m, 5H), 4,00 (d, 1H), 3,37 (s, 3H), 3,60 (d, 1H), 3,35 (s, 3H), 1,67 (s, 3H).

(iii) Kyselina (R,S)-2-metyl-2-fenyl-3-metoxypropiónová

K roztoku metylesteru kyseliny 2-metyl-2-fenyl-3-metoxypropiónovej (0,7 g, 3,4 mmol, z kroku (ii) uvedeného vyššie) v MeOH (50 ml) sa pridal vodný NaOH (2M, 50 ml) a zmes sa miešala počas dvoch hodín. Zmes sa okyslila vodnou kyselinou chlorovodíkovou a extrahovala éterom (3 x 50 ml). Spojené organické fázy sa premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a zahustili, čím sa získalo 0,40 g (približne 61%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,35 (m, 5H), 4,00 (d, 1H), 3,60 (d, 2H), 3,40 (s, 3H), 1,66 (s, 3H).

Príklad AG

Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(2-chlór-3-metylfenyl)propiónová

(i) Kyselina 2-chlór-3-metylbenzoová

Nitrit sodný (14,0 g, 0,2 mol) sa premyl roztokom kyseliny 2-amino-3-metylbenzoovej (30,2 g, 0,2 mol) v zmesi s vodou (200 ml) a vodným NaOH (30%, 24 ml). Roztok sa ochladil na teplotu 0°C a za miešania sa po kvapkách pridal k zmesi kyseliny chlorovodíkovej (konc, 87,6 ml) a ľadu (100 g). Po miešaní počas niekoľkých minút sa výsledný roztok pridal k ľadovo chladnej zmesi vodnej kyseliny chlorovodíkovej (23%, 100 g), CuCl (20 g, 0,2 mol) a vody (40 ml). Roztok sa miešal pri

laboratórnej teplote počas 30 minút a pri teplote 100°C počas 30 minút. ochladil sa a výsledná zrazenina sa izolovala filtráciou, premyla sa vodou a vysušila cez noc, čím sa získalo 27,4 g (80,3%) bielej kryštalickej látky.

LC-MS m/z 169, 171 ($M - 1$)⁺

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7,79 (d, 1H), 7,43 (d, 1H), 7,25 (t, 1H), 2,46 (s, 3H).

(ii) 2-Chlór-3-metylbenzylalkohol

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v príklade X(i) vyššie z kyseliny 2-chlór-3-metylbenzoovej (13,65 g, 0,08 mol, z kroku (i) uvedeného vyššie), pričom sa získalo 11,38 g (90,8%) zlúčeniny uvedenej v podnázve vo forme bielych kryštálov.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7,32 (d, 1H), 7,31 (d, 1H), 7,18 (dd, 1H), 4,78 (d, 2H), 2,40 (s, 3H).

(iii) 2-Chlór-3-metylphenylacetonitril

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v príklade X(ii) a X(iii) vyššie z 2-chlór-3-metylbenzylalkoholu (11,3 g, 72,15 mmol, z kroku (ii) uvedeného vyššie), pričom sa získalo 11,4 g (93%) zlúčeniny uvedenej v podnázve vo forme červenohnedej pevnej látky.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,35 (d, 1H), 7,24 (t, 1H), 7,21 (d, 1H), 3,84 (s, 2H), 2,41 (s, 3H).

(iv) Etyl ester kyseliny 2-chlór-3-metylphenyloctovej

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v príklade T(ii) z 2-chlór-3-metylphenylacetonitrilu (5,28 g, 32 mmol, z kroku (iii) uvedeného vyššie), pričom sa získalo 6,3 g (88,2%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,12 (d, 2H), 7,16 (dd, 1H), 4,17 (q, 2H), 3,77 (s, 2H), 2,39 (s, 3H), 1,26 (t, 3H).

(v) Etyl ester kyseliny 2-(2-chlór-3-metylphenyl)-3-oxo-propiónovej

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v J. Org. Chem. 54, 3831 (1989), pričom sa vychádzalo z etylesteru kyseliny 2-chlór-3-metylfenylactovej (6,28 g, 29,53 mmol, z kroku (iv) uvedeného vyššie), čím sa získalo 5,418 g, (76,2%), zlúčeniny uvedenej v podnázve. Produkt bol dostatočne čistý a použil sa v nasledujúcom kroku bez ďalšieho čistenia.

LC-MS m/z 239, 241 ($M - 1$)

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 11,96 (b, 1H), 7,21 (d, 1H), 7,14 (m, 1H), 7,03 (d, 1H), 4,25 (m, 2H), 2,41 (s, 3H), 1,23 (t, 3H).

(vi) Kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(2-chlór-3-metylfenyl)propiónová

Pripravila sa podľa spôsobu opísaného vyššie v príklade E z etylesteru kyseliny 2-(2-chlór-3-metylfenyl)-3-oxo-propiónovej (5,39 g, 22,39 mmol, z kroku (v) uvedeného vyššie), čím sa získalo 4,03 g (79,8%) zlúčeniny uvedenej v podnázve..

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7,25 (d, 1H), 7,16 (d, 1H), 4,36 (dd, 1H), 4,02 (dd, 1H), 3,74 (dd, 1H), 2,38 (s, 3H).

Zlúčeniny podľa vynálezu

Príklad 1

(R)- a (S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HCl

(i) (R)- a (S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab(Z)

Zmes kyseliny (R,S)-tropovej (0,25 g, 1,5 mmol), H-Aze-Pab(Z) x 2HCl (0,73 g, 1,7 mmol, z príkladu A uvedeného vyššie) a TBTU (0,53 g, 1,7 mmol) v 10 ml DMF sa ochladilo na ľadovom kúpeli. Pridal sa DIPEA (0,78 g, 6,0 mmol) a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 48 hodín. Reakčná zmes sa následne zahustila, zriedila so 400 ml vody (pH sa adjustovalo na 8 s NaHCO_3) a extrahovala etylacetátom (3 x 75 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli s vodným NaHCO_3 (3x 50 ml) a vodou (1 x 50 ml), vysušili (Na_2SO_4) a odparili. Surový produkt (0,59 g) sa prečistil okamžitou chromatografiou na silikagélovej kolóne (120 g)

eluovaním s $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{THF}$ (500 ml, 3:1) a THF (1750 ml). Odoberali sa frakcie s objemom 20 ml. Frakcie 41 až 54 sa zahustili, čím sa získalo 150 mg zlúčeniny 1A s diastereoizomérnym pomerom > 99:1. Frakcie 70 až 90 sa zahustili, čím sa získala zlúčenina 1B s diastereoizomérnym pomerom 89:11.

Zlúčenina 1A

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,27 (m, 1H), 7,67 (d, 2H), 7,38 (d, 2H), 7,3 - 7,1 (m, 10H), 5,49 (d, 1H), 5,15 (s, 2H), 4,73 (m, 1H), 4,4 - 4,2 (m, 2H), 4,10 (m, 1H), 4,02 (m, 1H), 3,71 (m, 1H), 3,71 (m, 1H), 3,63 (m, 2H), 2,34 (m, 1H), 2,23 (m, 1H).

^{13}C NMR (10 MHz, CDCl_3) amidínové a karbonylové uhlíky: 173,7, 171,0, 168,5, 164,4.

Zlúčenina 1B

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,27 (m, 1H, minoritný diastereoizomér/rotamér), 8,14 (m, 1H, majoritný diastereoizomér/rotamér), 7,9 - 7,7 (m, 2H), 7,5 - 7,1 (m, 12H), 5,56 (d, 1H), 5,22 (s, 2H, majoritný diastereoizomér/rotamér), 5,20 (s, 2H, minoritný diastereoizomér/rotamér), 4,89 (m, 1H, majoritný diastereoizomér/rotamér), 4,82 (m, 1H, minoritný diastereoizomér/rotamér), 4,6 - 4,3 (m, 2H), 4,2 - 4,0 (m, 2H), 3,8 - 3,6 (m, 3H), 2,48 (m, 1H), 2,38 (m, 1H).

^{13}C NMR (10 MHz, CDCl_3) amidínové a karbonylové uhlíky: 174,8, 170,8, 168,0, 164,7.

(ii) (R)- alebo (S)- $\text{PhCH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{-C(O)-Aze-Pab x HCl}$

Zlúčenina 1A (100 mg, 0,19 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) sa rozpustila v 10 ml etanolu a pridalo sa 5 % paládia na uhlí (52 mg). Zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku počas 5 hodín. Po filtrácii a odparení sa produkt rozpustil v 5 ml vody a pridalo sa 190 μl kyseliny chlorovodíkovej (1M). Po vysušení vymrazením sa získal produkt uvedený v názve vo forme bieleho prášku. Výťažok bol 60 mg (74%), diastereoizomérny pomer 99:1.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,75 (m, 1H, majoritný rotamér), 8,59 (m, 1H, minoritný rotamér), 7,69 (dd, majoritný rotamér), 7,63 (d, 2H, minoritný rotamér), 7,5 - 7,0 (m, 7H), 5,10 (m, 1H, ostatné signály z toho istého protónu sa prekrývali s HDO-signalom), 4,47 (bs, 1H), 4,27 (m, 1H, majoritný rotamér), 4,17 (1H, minoritný rotamér), 4,1 - 3,6 (m, 5H), 2,67 (m, 1H, minoritný rotamér), 2,40 (m, 1H, majoritný rotamér), 2,3 - 2,1 (m, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, D_2O) amidínové a karbonylové uhlíky (rotaméry): 177,4, 176,4, 174,8, 160,0, 157,6.

(iii) (R)- alebo (S)- $\text{PhCHCH}_2\text{OH-C(O)-Aze-Pab x HCl}$

Zlúčenina uvedená v názve sa pripravila podľa spôsobu z príkladu 1(ii) z 50 mg (0,097 mmol) zlúčeniny 1B (z kroku (i) uvedeného vyššie). Výtazok predstavoval 32 mg (79%), diastereoizomérny pomer 83:17.

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7,8 - 7,0 (m, 9H), 5,10 (m, 1H, minoritný diastereoizomér/rotamér), 4,83 (m, 1H, majoritný diastereoizomér/rotamér), 4,6 - 4,2 (m, 3H), 4,1 - 3,4 (m, 4H), 2,54 (m, 1H, majoritný diastereoizomér/rotamér), 2,39 (m, 1H, minoritný diastereoizomér/rotamér), 2,2 - 2,1 (m, 1H).

^{13}C NMR (75 MHz, D_2O) amidínové a karbonylové uhlíky: 176,6, 174,9, 168,9.

Príklad 2

(R)- a (S)-3-Metoxifynyl- $\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{-C(O)-Aze-Pab x HOAc}$

(i) (R)- a (S)-3-Metoxifynyl- $\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{-C(O)-Aze-Pab(Z)}$

K roztoku kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metoxifynyl)propiónovej (0,157 g, 0,8 mmol, z príkladu E uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa pridalo H-Aze-Pab(Z) x 2HCl (0,387 g, 0,88 mmol, z príkladu A uvedeného vyššie) a zmes sa ochladila na ľadovom kúpeli. Pridalo sa TBTU (0,283 g, 0,88 mmol) a DIPEA (0,414 g, 3,20 mmol) a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 48 hodín. Reakčná zmes sa následne odparila a zvyšok sa rozpustil vo vode (100 ml) a potom sa extrahoval etylacetátom (3 x 25 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli vodným

NaHCO₃ (3 x 25 ml) a vodou (25 ml), vysušili sa (Na₂SO₄) a odparili. Surový produkt sa prečistil okamžitou chromatografiou na silikagélvej kolóne eluovaním s CH₂Cl₂:MeOH (98:2), etylacetát, etylacetát:EtOH (95:5), etylacetát:EtOH (9:1) a etylacetát:EtOH (85:15). Niektoré frakcie sa zahustili, čím sa získalo 177 mg zlúčeniny 2A s diastereoizomérnym pomerom 88:12. Ďalšie frakcie sa zahustili pričom sa získalo 164 mg zlúčeniny 2B s diastereoizomérnym pomerom 88:12.

Zlúčenina 2A

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8,20 - 8,27 (m, NH), 7,79 - 7,85 (m, 2H), 7,18 - 7,48 (m, 8H), 6,70 - 6,88 (m, 3H), 5,20 - 5,24 (m, 2H), 4,84 - 4,99 (m, 1H), 4,34 - 4,64 (m, 2H), 3,98 - 4,16 (m, 2H), 3,56 - 3,82 (m, 6H), 2,26 - 2,70 (m, 2H).

Zlúčenina 2B

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8,14 - 8,21 (m, NH), 7,78 - 7,88 (m, 2H), 7,18 - 7,48 (m, 8H), 6,70 - 6,87 (m, 3H), 5,20 - 5,24 (m, 2H), 4,86 - 5,00 (m, 1H), 4,34 - 4,64 (m, 2H), 4,00 - 4,16 (m, 2H), 3,58 - 3,82 (m, 6H), 2,39 - 2,69 (m, 2H).

(ii) (R)- alebo (S)-3-Metoxifyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

K roztoku zlúčeniny 2A (0,164 g, 0,30 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v etanole (7 ml) sa pridala kyselina octová (0,018 g, 0,30 mmol) a paládium na uhlí (5%, 0,08 g). Reakčná zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku počas 4 hodín. Reakčná zmes sa prefiltrovala cez celit a filtrát sa zahustil. Surový produkt sa rozpustil vo vode a vysušil sa vymrazovaním, čím sa získalo 128 mg (91%) zlúčeniny uvedenej v názve, diastereoizomérny pomer 88:12.

LC-MS m/z 411 (M + 1)⁺

¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 7,67 - 7,85 (m, 2H), 7,25 - 7,62 (m, 3H), 6,89 - 7,04 (m, 2H), 6,74 - 6,83 (m, 1H), 5,16 - 5,22 (m, 1H), 4,24 - 4,66 (m, 2H), 3,97 - 4,19 (m, 3H), 3,64 - 3,94 (m, 5H), 2,18 - 2,82 (m, 2H).

(iii) (S)- alebo (R)-3-Metoxifyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

K roztoku zlúčeniny 2B (0,142 g, 0,26 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v etanole (7 ml) sa pridala kyselina octová (0,016 g, 0,26 mmol) a paládium na uhlí (5%, 0,07 g). Reakčná zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku počas 4 hodín. Reakčná zmes sa prefiltrovala cez celit a filtrát sa zahustil. Surový produkt sa rozpustil vo vode a vysušil sa vymrazovaním, čím sa získalo 113 mg (92%) zlúčeniny uvedenej v názve, diastereoizomérny pomer 88:12.

LC-MS m/z 411 ($M + 1$)⁺

¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 7,26 - 7,86 (m, 5H), 6,88 - 7,04 (m, 2H), 6,75 - 6,83 (m, 1H), 4,91 - 4,96 (m, 1H), 4,26 - 4,68 (m, 3H), 3,96 - 4,18 (m, 2H), 3,64 - 3,94 (m, 5H), 2,18 - 2,70 (m, 2H).

Príklad 3

(R,S)-3,4-Dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) (R,S)-3,4-Dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab(Z)

Zmes kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3,4-dimetoxyfenyl)-propiónovej (0,23 g, 1,0 mmol, z príkladu F uvedeného vyššie), H-Aze-Pab(Z) x 2 HCl (0,48 g, 1,1 mmol, z príkladu A uvedeného vyššie) a TBTU (0,35 g, 1,1 mmol) v DMF (10 ml) sa ochladila na ľadovom kúpeli. Pridal sa DIPEA (0,52 g, 4,0 mmol) a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 4 dní. Reakčná zmes sa potom zahustila, zvyšok sa zriedil zmesou etylacetát:voda (1:2, 300 ml) a pH sa nastavilo na 9 použitím vodného NaHCO₃ a potom sa zmes extrahovala etylacetátom (3 x 100 ml) a vodou (3 x 125 ml), vysušila sa (Na₂SO₄) a odparila. Surový produkt (0,43 g) sa prečistil okamžitou chromatografiou na silikagélovej kolóne (50 g) eluovaním etylacetátom (200 ml), zmesou etylacetát:EtOH (95:5, 200 ml), etylacetát:EtOH (9:1, 200 ml) a etylacetát:EtOH (85:15, 200 ml). Výťažok predstavoval 244 mg (42%) zlúčeniny uvedenej v podnázve, diastereoizomérny pomer 52:48.

FAB-MS m/z 575 ($M + 1$)⁺

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,18 - 8,26 (m, 1H), 8,00 - 8,08 (m, 1H), 7,76 - 7,84 (d, 1H), 7,63 - 7,68 (d, 1H), 7,25 - 7,47 (m, 6H), 7,02 - 7,07 (d, 1H), 6,64 - 6,84 (m,

3H), 5,20 (s, 2H), 4,82 - 5,00 (m, 1H), 4,40 - 4,79 (m, 2H), 3,98 - 4,24 (m, 2H), 3,84 - 3,87 (m, 6H), 3,53 - 3,82 (m, 3H), 2,26 - 2,69 (m, 2H).

(ii) (R,S)-3,4-Dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

(R,S)-3,4-Dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab(Z) (0,095 g, 0,17 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), kyselina octová (0,010 g, 0,17 mmol) a Pd/C (5%, 0,087 g) sa pridalo k etanolu (10 ml) a výsledná zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku počas 5 hodín. Reakčná zmes sa prefiltrovala a filtrát sa odparil. Zvyšok sa rozpustil vo vode a vysušil vymrazovaním, čím sa získalo 70 mg (85%) zlúčeniny uvedenej v podnázve vo forme bieleho prášku, diastereoizomérny pomer 52:48.

LC-MS m/z 441 (M + 1)⁺

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7,29 - 7,85 (m, 4H), 6,85 - 7,09 (m, 2H), 6,71 - 6,81 (m, 1H), 4,90 - 5,19 (m, 1H), 4,31 - 4,65 (m, 2H), 3,95 - 4,28 (m, 3H), 3,62 - 3,90 (m, 8H), 2,15 - 2,84 (m, 2H).

Príklad 4

(R)- a (S)-2-Naetyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) (R)- a (S)-2-Naetyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab(Z)

Roztok H-Aze-Pab(Z) x 2 HCl (0,483 g, 1,1 mmol, z príkladu A uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na ľadovom kúpeli. Pridala sa kyselina (R,S)-3-hydroxy-2-(2-naetyl)propiónová (0,216 g, 1,0 mmol, z príkladu G uvedeného vyššie), TBTU (0,353 g, 1,1 mmol) a DIPEA (0,517 g, 4,0 mmol) a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 3 dní. Reakčná zmes sa potom odparila a zvyšok sa rozpustil v zmesi etylacetát:voda a potom sa extrahoval etylacetátom (2 x 75 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli vodným NaHCO₃ (3 x 30 ml) a vodou (25 ml), vysušili sa (Na₂SO₄) a odparili. Surový produkt (0,43 g) sa prečistil okamžitou chromatografiou na silikagélovej kolóne eluovaním etylacetátom, zmesou etylacetát:EtOH (95:5) a etylacetát:EtOH (9:1). Určité frakcie sa zahustili, čím sa získalo 204 mg (36%) zlúčeniny 4A s diastereoizomérnym pomerom 95:5. Ďalšie

frakcie sa zahustili, čím poskytli 219 mg (39%) zlúčeniny 4B s diastereoizomérnym pomerom 90:10.

Zlúčenina 4A

LC-MS m/z 565 ($M + 1$)⁺

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8,23 - 8,31 (t, NH), 7,20 - 7,88 (m, 16H), 5,22 (s, 2H), 4,85 - 4,92 (m, 1H), 4,44 - 4,64 (m, 2H), 4,07 - 4,24 (m, 2H), 3,64 - 3,92 (m, 3H), 2,21 - 3,92 (m, 3H), 2,21 - 2,70 (m, 2H).

Zlúčenina 4B

LC-MS m/z 565 ($M + 1$)⁺, 587 ($M + Na$)⁺

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8,13 - 8,21 (t, NH), 7,20 - 7,90 (m, 16H), 5,24 (s, 2H), 4,95 - 5,02 (m, 1H), 4,31 - 4,65 (m, 2H), 4,09 - 4,24 (m, 2H), 3,62 - 3,92 (m, 3H), 2,38 - 2,76 (m, 2H).

(ii) (R)- alebo (S)-2-Naftyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

K roztoku zlúčeniny 4A (0,175 g, 0,31 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v etanole (7 ml), sa pridala kyselina octová (0,019 g, 0,31 mmol) a Pd/C (5%, 0,09 g). Reakčná zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku počas 4 hodín a potom sa prefiltrovala cez celit a filtrát sa zahustil. Surový produkt sa rozpustil vo vode a vysušil vymrazovaním, čím sa získalo 136 mg (89%) zlúčeniny uvedenej v názve, diastereoizomérny pomer 95:5.

LC-MS m/z 431 ($M + 1$)⁺

¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 7,05 - 8,00 (m, 11H), 5,14 - 5,22 (m, 1H), 3,60 - 4,58 (m, 8H), 2,12 - 2,81 (m, 2H).

(iii) (S)- alebo (R)-2-Naftyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

K roztoku zlúčeniny 4B (0,194 g, 0,34 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v etanole (7 ml), sa pridala kyselina octová (0,021 g, 0,34 mmol) a Pd/C (5%, 0,09 g). Reakčná zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku počas 4 hodín. Reakčná

zmes sa prefiltrovala cez celit a filtrát sa zahustil. Surový produkt sa rozpustil vo vode a vysušil vymrazovaním, čím sa získalo 151 mg (90%) zlúčeniny uvedenej v názve, diastereoizomérny pomer 90:10.

LC-MS m/z 431 ($M + 1$)⁺

¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 7,00 - 8,00 (m, 11H), 4,92 - 4,99 (m, 1H), 3,60 - 4,62 (m, 8H), 2,12 - 2,83 (m, 2H).

Príklad 5

(R)- a (S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pig x HOAc

(i) (R)- alebo (S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pig(Z)

Zmes kyseliny (R,S) tropovej (0,132 g, 0,8 mmol), H-Aze-Pig(Z) x 2HCl (0,393 g, 0,88 mmol, z príkladu C uvedeného vyššie) a TBTU (0,283 g, 0,88 mmol) v DMF (10 ml) sa ochladila na ľadovom kúpeli. Pridala sa DIPEA (0,414 g, 3,20 mmol) a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 48 hodín. Reakčná zmes sa následne zahustila, zriedila vodou (175 ml, pH sa adjustovalo na 8 s NaHCO₃) a extrahovala etylacetátom (3 x 50 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli vodným NaHCO₃ (3 x 25 ml) a vodou (25 ml), vysušili (Na₂SO₄) a odparili. Surový produkt (0,895 g) sa prečistil okamžitou chromatografiou na silikagélovej kolóne eluovaním s CH₂Cl₂, CH₂Cl₂:THF (4:1, 1:1, 1:4) a CH₂Cl₂:MeOH (95:5, 9:1). Niektoré frakcie sa zahustili, čím sa získalo 117 mg zlúčeniny s diastereoizomérnym pomerom >99:1.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,88 - 7,95 (bt, NH), 7,21 - 7,41 (m, 10H), 7,09 (bs, NH), 5,11 (s, 2H), 4,78 - 4,80 (m, 1H), 4,00 - 4,38 (m, 4H), 3,58 - 3,76 (m, 3H), 3,12 - 3,34 (m, 2H), 2,76 - 2,97 (m, 3H), 2,46 - 2,66 (m, 1H), 2,22 - 2,35 (m, 1H), 1,66 - 1,78 (m, 2H), 1,22 - 1,38 (m, 2H).

(Uvedené frakcie sa zahustili, čím sa získalo 156 mg epiméru vyššie uvedenej zlúčeniny s diastereoizomérnym pomerom 87:13).

(ii) (S)- alebo (R)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pig x HOAc

(R)- alebo (S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pig(Z) (0,117 g, 0,22 mmol), charakterizovaná zlúčenina z kroku (i) uvedeného vyššie, kyselina octová (0,013 g, 0,22 mmol) a Pd/C (5%, 0,06 g) sa pridalo k etanolu (5 ml) a zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku počas 2,5 hodín. Reakčná zmes sa prefiltrovala cez celit a filtrát sa odparil. Zvyšok sa rozpustil vo vode a vysušil vymrazením, čím sa získalo 92 mg (93%) zlúčeniny uvedenej v názve, s diastereoizomérnym pomerom >99:1.

¹H NMR (400 MHz, D₂O, komplikácie vplyvom prítomnosti diastereoizomérov/rotamérov) δ 7,14 - 7,41 (m, 5H), 4,60 - 5,06 (m, 1H), 3,64 - 4,09 (n, 7H), 2,78 - 3,19 (m, 4H), 2,58 - 2,71 (m, 1H), 2,34 - 2,45 (m, 1H), 2,03 - 2,20 (m, 1H), 0,98 - 1,77 (m, 4H).

¹³C NMR (100,5 MHz, CDCl₂) amidínové a karbonylové signály: 175,95, 172,69, 155,85.

Príklad 6

(R,S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Pro-(R,S)-Hig x HOAc

(i) (R,S)-PhCH(CH₂OTBDMS)-C(O)-Pro-(R,S)-Hig(Z)

EDC x HCl (0,24 g, 1,25 mmol) sa pridalo k zmesi (R,S)-PhCH(CH₂OTBDMS)-C(O)-Pro-OH (0,38 g, 1,0 mmol, z príkladu D uvedeného vyššie), (R,S)-H-Hig-Z x 2HCl (0,36 g, 1,0 mmol, pripraveného reakciou Boc-(R,S)-Hig(Z) (pozri medzinárodnú patentovú prihlášku WO 94/29336) s plynným HCl (g) v EtOAc a následným odparením do sucha) a DMAP (0,49 g, 4,0 mmol) v acetonitrile (10 ml) a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 4 dní. Reakčná zmes sa odparila zvyšok sa rozpustil vo vode (300 ml, pH sa adjustovalo na 9). Vodná fáza sa extrahovala etylacetátom (3 x 150 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli vodným NaHCO₃ (2 x 150 ml) a vodou (3 x 150 ml), vysušili sa (Na₂SO₄) a odparili, čím sa získalo 0,48 g zlúčeniny uvedenej v podnázve, ktorá sa bez ďalšieho čistenia použila v nasledujúcom kroku.

(ii) (R,S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Pro-(R,S)-Hig(Z)

(R,S)-PhCH(CH₂OTBDMS)-C(O)-Pro-(R,S)-Hig(Z) (0,265 g, 0,41 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v TFA (6,5 ml, 10% v CH₂Cl₂) sa miešalo pri teplote 0°C počas 30 minút pH zmesi sa adjustovalo na 9 vodným K₂CO₃ a následne sa zmes extrahovala s CH₂Cl₂ (3 x 75 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli vodou, vysušili (Na₂SO₄) a odparili. Surový produkt (0,24 g) sa prečistil okamžitou chromatografiou na silikagélvej kolóne (50 g) eluovaním s CH₂Cl₂ (200 ml), CH₂Cl₂:EtOH (95:5, 200 ml) a CH₂Cl₂:EtOH (9:1, 400 ml). Výťažok predstavoval 109 mg (50%) zlúčeniny uvedenej v názve.

LC-MS m/z 536 (M + 1)⁺

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,17 - 7,45 (m, 10H), 5,06 - 5,15 (m, 2H), 4,46 - 4,62 (m, 1H), 3,97 - 4,21 (m, 2H), 3,08 - 3,91 (m, 8H), 2,80 - 2,98 (m, 1H), 1,35 - 2,30 (m, 9H).

¹³C NMR (100,5 MHz, CDCl₃) amidínové a karbonylové signály: 172,72, 171,74, 163,77, 159,14.

(iii) (R,S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Pro-(R,S)-Hig x HOAc

Zmes (R,S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Hig-Z (0,11 g, 0,21 mmol, z kroku (ii) uvedeného vyššie), Pd/C (5 %, 0,06 g) a kyselina octová (0,012 g, 0,21 mmol) v EtOH (10 ml) sa hydrogenovalo pri atmosferickom tlaku počas 4 hodín. Reakčná zmes sa prefiltrovala a filtrát sa odparil. Surový produkt sa rozpustil vo vode a vysušil vymrazením, čím sa získalo 78 mg (82%) zlúčeniny uvedenej v názve.

LC-MS m/z 402 (M + 1)

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 7,15 - 7,45 (m, 5H), 4,20 - 4,38 (m, 1H), 3,89 - 4,14 (m, 2H), 3,67 - 3,81 (m, 2) 2,70 - 3,64 (m, 7H), 1,40 - 2,37 (m, 9H).

¹³C NMR (75,5 MHz, D₂O) amidínové a karbonylové signály: 174,90, 173,48, 154,84.

Príklad 7

(R)- a (S)-2,5-Dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) (R)- a (S)-2,5-Dimetoxyfenyl-CH(CH₂OTBDMS)-C(O)-Aze-Pab(Z)

H-Aze-Pab(Z) (0,387 g, 0,88 mmol) v DMF sa ochladilo na ľadovom kúpeli. K reakčnej zmesi sa pridala kyselina 3-hydroxy-2(2,5-dimetoxyfenyl)-propiónová (0,181 g, 0,8 mmol), TBTU (0,283 g, 0,88 mmol) a DIPEA (0,414 g, 3,20 mmol) a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 4 dní. Reakčná zmes sa následne odparila a zvyšok sa rozpustil v zmesi voda:etylacetát (2:1, 150ml) a následne sa extrahoval etylacetátom (3 x 25 ml). Spojené organické vrstvy sa premyli vodným NaHCO₂ (3 x 25 ml) a vodou (25 ml), vysušili sa (Na₂SO₄) a odparili sa. Surový produkt (0,43 g) sa prečistil okamžitou chromatografiou na silikagélovej kolóne eluovaním s etylacetátom, zmesou etylacetát:EtOH (99:1), etylacetát:EtOH (97:3) a etylacetát (95:5). Niektoré frakcie sa zahustili, čím sa získalo 185 mg zlúčeniny 7B s diastereoizomérnym pomerom 93:7.

Zlúčenina 7A

LC-MS m/z 575 (M + 1)⁺, 597 (M + Na)⁺

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8,26 – 8,36 (m, NH), 7,80 – 7,87 (d, 2H), 7,24 – 7,48 (m, 7H), 6,76 – 6,85 (m, 3H), 5,22 (s, 2H), 4,83 – 4,90 (m, 1H), 4,43 – 4,59 (m, 2H), 3,92 – 4,18 (m, 3H), 3,80 (s, 3H), 3,58 – 3,72 (m, 2H), 2,25 – 2,72 (m, 2H).

Zlúčenina 7B

LC-MS m/z 575 (M + 1)⁺, 597 (M + Na)⁺

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8,11 – 8,19 (m, NH), 7,79 – 7,88 (m, 2H), 7,24 – 7,48 (m, 7H), 6,68 – 6,84 (m, 3H), 5,22 (s, 2H), 4,91 – 4,98 (m, 1H), 4,36 – 4,67 (m, 2H), 3,99 – 4,22 (m, 3H), 3,48 – 3,82 (m, 8H), 2,38 – 2,95 (m, 2H).

(ii) (R)- alebo (S)-2,5-Dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

Zlúčenina 7A (0,141 g, 0,25 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) sa rozpustila v etanole (7 ml). Pridala sa kyselina octová (0,015 g, 0,25 mmol) a Pd/C (5%, 0,07 g)

a zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku počas 3 hodín. Reakčná zmes sa prefiltrovala cez celit a filtrát sa odparil. Zvyšok sa rozpustil vo vode a vysušil sa vymrazením, čím sa získalo 113 mg (90%) zlúčeniny uvedenej v názve, s diastereoizomérnym pomerom >99:1.

LC-MS m/z 441 ($M + 1$)⁺

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7,34 – 7,84 (m, 4H), 6,82 – 7,14 (m, 3H), 5,06 – 5,13 (m, 1H), 3,72 – 4,37 (m, 13H), 2,11 – 2,86 (m, 2H).

(iii) (R)- alebo (S)-2,5-Dimetoxifyenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

Zlúčenina 5B (0,164 g, 0,286 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) sa rozpustila v etanole (7 ml). Pridala sa kyselina octová (0,017 g, 0,286 mmol) a Pd/C (5%, 0,08 g) a zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku počas 3 hodín. Reakčná zmes sa prefiltrovala cez celit a filtrát sa odparil. Zvyšok sa rozpustil vo vode a vysušil vymrazením, čím sa získalo 130 mg (91%) zlúčeniny uvedenej v názve, diastereoizomérny pomer 93:7.

LC-MS m/z 441 ($M + 1$)⁺

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7,34 – 7,86 (m, 4H), 6,78 – 7,10 (m, 3H), 4,89 – 4,96 (m, 1H), 3,70 – 4,68 (m, 13H), 2,16 – 2,73 (m, 2H).

Príklad 8

(R,S)-Ph-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab-OH

(i) (R,S)-Ph-CH(CH₂OTBDMS)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Zmes (R,S)-Ph-CH(CH₂OTBDMS)-C(O)-Pro-OH (0,753 g, 2,0 mmol, pozri príklad D uvedený vyššie), H-Pab(Z) x HCl (0,681 g, 2,1 mmol), DMAP (0,366 g, 3,0 mmol) a EDC (500 μ l, 2,7 mmol) v acetonitrile (7 ml) sa miešala pri laboratórnej teplote počas 3 dní. Reakčná zmes sa odparila a zvyšok sa prečistil okamžitou chromatografiou na silikagélovej kolóne eluovaním so zmesou etylacetát:toluén (2:1) a THF:toluén (3:7). Výtazok zlúčeniny uvedenej v podnázve bol 345 g (27%).

FAB-MS m/z 643 ($M + 1$)⁺

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6,85 – 7,85 (m, 14H), 5,15 (s, 2H), 3,15 – 4,80 (m, 8H), 1,60 – 2,30 (m, 4H), 0,65 – 0,90 (m, 9H), -0,80 – 0,05 (m, 6H).

(ii) (R,S)-Ph-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

K zmesi kyseliny trifluóroctovej (2 ml) v CH₂Cl₂ (8 ml) sa pridal (R,S)-Ph-CH(CH₂OTBDMS)-C(O)-Pro-Pab(Z) (0,345 g, 0,54 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 4 hodín. Zmes sa zriedila dichlórmétánom a pH sa adjustovalo na 7 s vodným Na₂CO₃. Organická vrstva sa vysušila (MgSO₄) a odparila. Zvyšok sa podrobila preparatívnej RPLC, pričom sa získal výťažok 111 mg (39%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

FAB-MS m/z 529 ($M + 1$)⁺, LC-MS m/z 527 ($M - 1$)⁻, 529 ($M + 1$)⁺, 551 ($M + Na$)⁺

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,10 – 7,86 (m, 14H), 5,18 – 5,25 (m, 2H), 3,05 – 4,69 (m, 8H), 1,66 – 2,28 (m, 4H).

(iii) (R,S)-Ph-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab-OH

(R,S)-Ph-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (0,111 g, 0,21 mmol, z kroku (ii) uvedeného vyššie), sa pridal k zmesi hydroxylamín hydrochloridu (0,206 g, 3,0 mmol) a trietylamínu (1,3 ml, 9,3 mmol) v EtOH (4 ml). Reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 4 dní. Surový produkt sa podrobil preparatívnej RPLC, pričom sa získalo 50 mg (23%) zlúčeniny uvedenej v názve.

LC-MS m/z 411 ($M + 1$)⁺, 433 ($M + Na$)⁺

Príklad 9

(R)- alebo (S)-3-Metoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab-OH

K roztoku hydroxylamín hydrochloridu (0,083 g, 1,2 mmol) a TEA (0,405 g, 4,0 mmol) v 11 ml THF sa sonifikoval počas 30 minút. Pridal sa (R)- alebo (S)-3-metoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab(Z) (zlúčenina 2A z príklad 2(i) uvedeného vyššie, 0,109 g, 0,2 mmol) a zmes sa miešala pri teplote 40°C cez noc. Rozpúš-

ťadlo sa odparilo a surový produkt sa prečistil okamžitou chromatografiou na silikagélovej kolóne eluovaním s gradientom CH_2Cl_2 :IPA: HOAc (100:0:0 $\rightarrow$ 90:10:0 $\rightarrow$ 80:20:2) a následne pomocou HPLC (CH_3CN : NH_4OHAc (0,1M) (32,5:67,5)). Po vysušení vymrazením sa získalo 38 mg (44%) zlúčeniny vo forme bieleho prášku.

LC-MS m/z 427 ($M + 1$)⁺

Príklad 10

(S)- alebo (R)-3-Metoxyfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab-(Z)

H-Pro-Pab(Z) (0,5 g, 1,1 mmol, pripravený podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284) a následne TBTU (0,353 g, 1,1 mmol), a DIPEA (0,517 g, 4,0 mmol) sa pridali k roztoku kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metoxyfenyl)propiónovej (0,196 g, 1 mmol, z príkladu E(ii) uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) pri teplote 0°C. Po miešaní počas 4 dní pri laboratórnej teplote sa reakčná zmes zahustila a prečistila pomocou RPLC (CH_3CN : NH_4NOAc (1M) (40:60)). Frakcie sa zahustili a extrahovali štyrikrát s EtOAc. Spojené organické fázy sa potom vysušili (Na_2SO_4) a odparili, čím sa získala surová zmes diastereoizomérov. Zmes (0,84 g) sa chromatografovala pomocou RPLC (CH_3CN : NH_4NOAc (1M) (34:66)), ktorá sa rozdelila na dva stereoizoméry. Zlúčenina 10A (0,352 g, 83%, rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér, čistota 90,5% pomocou HPLC a zlúčenina 10B (0,311 g, 74%, pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér, čistota 96,9%, pomocou HPLC).

Zlúčenina 10B

¹H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,83 (d, 2H), 7,46 (dd, 2H), 7,4 – 7,3 (m, 8H), 6,84 (dd+s, 3H), 5,23 (s 2H), 4,62 (dd, 1H), 4,49 (ddd, 2H), 4,03 (dd, 1H), 3,88 (dd, 1H), 3,80 (s, 2H), 3,73 (dd, 2H), 3,63 (m, 1H), 3,2 (m, 1H), 2,3 (m, 1H), 2,1 – 2,0 (m, 2H), 1,82 (m, 3H), 1,74 (b, 3H).

Príklad 11

(S)- alebo (R)-3-Metoxyfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

K okyslenému (HOAc, 2,7 mg, 0,045 mmol) roztoku (S)- alebo (R)-3-metoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (zlúčenina 10B z príkladu 10 uvedeného vyššie, 10 mg, 0,018 mmol) v 10 ml EtOH sa pridalo Pd/C (5%, 10 mg). Reakčná zmes sa hydrogenovala (1 atm.) pri laboratórnej teplote počas 3,5 hodín. Roztok sa prefiltroval, odparil a rozpustil v 20 ml CH₃CN:H₂O (50:50). Tento roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 10 mg (100%) zlúčeniny uvedenej v názve, vo forme bieleho prášku.

LC-MS m/z 425 (M + 1)⁺

Príklad 12

(R,S)-3-Aminofenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

(i) (R,S)-(3-Boc-aminofenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-Boc-aminofenyl)propiónovej (0,146 g, 0,8 mmol, z príkladu T uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Pro-Pab(Z) x HCl (0,339 g, 0,88 mmol), TBTU (0,283 g, 0,88 mmol) a DIPEA (0,414 g, 3,20 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 4 dní. Potom sa DMF odparil a zvyšok sa prečistil preparatívnou HPLC (CH₃CN:NH₄NOAc (10%), (42:58). CH₃CN sa odparil a vodný roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získala zlúčenina uvedená v podnázve (187 mg, 43%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9,48 (b, 1H), 7,73 (d, 1H), 7,43 (t, 1H), 7,34 (m, 5H), 7,20 (d 1H), 6,85 (d, 1H), 6,80 (d, 1H), 5,21 (d, 2H), 4,62 (m, 1H), 4,40 (m, 2H), 4,02 (m, 1H), 3,87 (m, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,70 (dd, 1H), 3,65 (m, 1H), 3,50 (m, 1H), 3,23 (m, 1H), 2,25 (m, 1H), 1,87 (m, 4H), 1,79 (m, 1H), 1,47 (d, 9H).

(ii) (R,S)-(3-Boc-aminofenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

Pd/C (10%, 10 mg) sa pridalo k roztoku (R,S)-(3-Boc-aminofenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (270 mg, 0,42 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v 10 ml EtOH a HOAc (10 kvapiek). Reakčná zmes sa hydrogenovala (1 atm.) pri laboratórnej teplote počas 2 hodín. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo. Roztok sa odparil,

pridala sa voda a roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 214 mg (100%) zlúčeniny uvedenej v podnázve, vo forme bielej penovitej látky.

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7,75 (d, 1H), 7,70 (d, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,35 (d, 2H), 7,25 (m 2H), 7,05 (m, 1H), 4,50 (m, 2H), 4,10 (m, 2H), 3,90 (m, 2H), 1,45 (d, 9H).

(iii) (R,S)-3-Aminofenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

Roztok (R,S)-(3-Boc-aminofenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab (172 mg, 0,42 mmol) v HCl (6M, 10 ml) sa miešal pri laboratórnej teplote počas 2 hodín a produkt sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 153 mg (76%, čistota 94,2%) zlúčeniny uvedenej v názve, vo forme bielej látky.

^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 7,33 (m, 2H), 7,16 (t, 1H), 7,02 (m, 5H), 4,07 (m, 3H), 3,84 (q 1H), 3,68 (m, 1H), 3,44 (m, 1H), 3,24 (m, 1H), 2,96 (m, 1H), 1,83 (m, 1H), 1,50 (m, 3H).

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) 174,6, 174,3 (rotaméry a/alebo diastereoizoméry), 172,1, 171,9 (rotaméry a/alebo diastereoizoméry), 166,1.

Príklad 13

(S)- alebo (R)-3-Metoxyfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab-OH

Roztok hydroxylamín hydrochloridu (149 mg, 2,15 mmol) a TEA (725 mg, 7,16 mmol) v 11 ml THF sa sonifikoval počas 35 minút. Pridal sa (S)- alebo (R)-3-metoxifenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (zlúčenina 10B z príkladu 10 uvedeného vyššie, 200 mg, 0,36 mmol) a zmes sa miešala pri teplote 40°C cez noc. Rozpúšťadlo sa odparilo a surový produkt sa prečistil najskôr okamžitou chromatografiou na silikagélvej kolóne eluovaním s gradientom CH_2Cl_2 :IPA: HOAc (100:0:0 -> 90:10:0 -> 80:20:2) a potom pomocou HPLC (CH_3CN : NH_4OHAc (0,1M) (32,5:67,5)). Po vysušení vymrazením sa získalo 119 mg (75%) zlúčeniny uvedenej v názve, vo forme bieleho prášku.

LC-MS m/z 441 ($M + 1$)⁺

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,64 (d, 2H), 7,38 (d, 2H), 7,27 (t, 1H), 6,93 (m, 2H), 6,87 (m 1H), 4,47 (s, 3H), 4,14 (dd, 1H), 4,03 (dd, 1H), 3,80 (s, 1H), 3,72 (dd, 1H), 3,38 (dt, 1H), 2,12 (m, 1H), 2,00 (m, 3H), 1,48 (m, 1H).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) amidínové a karbonylové uhlíky: 174,7, 173,4, 161,5.

Príklad 14

(S)- alebo (R)-3-Metoxifyfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab-OC(O)Et

(i) (R)- a (S)-3-Metoxifyfenyl-CH(CH_2OTBTMS)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok (R,S)-3-metoxifyfenyl-CH(CH_2OTBTMS)-COOH (3 g, 9,66 mmol, z príkladu S uvedeného vyššie) v DMF (100 ml) sa ochladil ľadovou vodou a pridal sa H-Pro-Pab(Z) (4,8 g, 10,63 mmol, pripravený podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284), TBTU (3,4 g, 10,63 mg) a napokon DIPEA (5,0 mg, 38,65 mmol). Zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 5 dní, roztok sa zahustil a zvyšok sa rozpustil v zmesi 400 ml vody a 200 ml EtOAc. Organická vrstva sa oddelila a vodná fáza sa extrahovala EtOAc (3 x 50 ml). Spojené organické fázy sa premyli dvakrát vodným NaHCO_3 (10%) a jedenkrát vodou, vysušili sa (Na_2SO_4) a odparili. Surový produkt (6,25 g hnedého oleja) sa prečistil okamžitou chromatografiou na silikagéle (EtOAc:EtOH (95:5)), čím sa získalo 4,27 g hustého hnedého oleja. Táto látka sa ďalej prečistila pomocou RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{NH}_4\text{OHAc}$ (10%) (70:30)), čím sa získali dva diastereoizoméry, zlúčenina 14A (1,49 g, rýchlejšie sa pohybujúci izomér) a zlúčenina 14B (1,0 g, pomalšie sa pohybujúci izomér).

LC-MS m/z 672,6 ($M + 1$)⁺ (racemát).

(ii) (S)- a (R)-3-Metoxifyfenyl-CH(CH_2OTBTMS)-C(O)-Pro-Pab-OH

Roztok hydroxylamínu x HCl (0,43 g, 6,2 mmol) a TEA (2,1 g, 20,8 mmol) v THF (50 ml) sa sonifikoval počas 2 hodín, potom sa pridala zlúčenina 14B (0,70 g, 1,04 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie). Roztok sa miešal cez noc pri teplote 56°C. Po odparení sa produkt prečistil pomocou RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{NH}_4\text{OHAc}$ (10%) (65:35)),

čím sa získalo 0,396 g (69%) zlúčeniny uvedenej v podnázve, vo forme bieleho prášku.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,89 (bt, 1H), 7,49 (d, 2H), 7,25 (d, 2H), 6,90 (s+d, 2H), 6,83 (m 1H), 4,93 (b, 2H), 4,66 (m, 2H), 4,24 (t, 1H), 4,20 (d, 1H), 3,88 (dd, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,74 (m, 2H), 3,34 (m, 1H), 2,38 (m, 1H), 2,10 (m, 1H), 1,82 (m, 2H), 0,83 (s, 9H), -0,05 (d, 6H).

(iii) (S)- alebo (R)-3-Metoxifyfenyl-CH(CH_2OTBTMS)-C(O)-Pro-Pab-OC(O)Et

Zmes (S)- alebo (R)-3-metoxifyfenyl-CH(CH_2OTBTMS)-C(O)-Pro-Pab-OH (130 mg, 0,23 mmol, z kroku (ii) uvedeného vyššie), anhydrid kyseliny propiónovej (1g, 7,7 mmol) a DMAP (9 mg, 0,07 mmol) sa miešal pri laboratórnej teplote počas 35 minút. Výsledná zmes sa potom odparila, čím sa získal žltý olej, ktorý sa prečistil pomocou RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{NH}_4\text{OHAc}$ (10%) (70:30)), pričom sa získalo 75 mg (52%) zlúčeniny uvedenej v podnázve. (Čistota: 99,6%).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,66 (d, 2H), 7,62 (t, 1H), 7,33 (d, 2H), 6,90 (s+d, 3H), 6,82 (m 1H), 5,04 (b, 2H), 4,63 (t, 1H), 4,59 (d, 1H), 4,30 (dd, 1H), 4,23 (t, 1H), 3,88 (dd, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,7 (m, 2H), 3,32 (m, 1H), 2,55 (q, 2H), 2,43 (m, 1H), 2,02 (m, 1H), 1,85 (m, 1H), 1,75 (m, 1H), 1,26 (t, 3H), 0,82 (s, 9H), -0,05 (d, 6H).

(iv) (S)- alebo (R)-3-Metoxifyfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab-OC(O)Et

TFA (0,2 ml) sa pridal k ľadovo ochladenému roztoku (S)- alebo (R)-3-metoxifyfenyl-CH(CH_2OTBTMS)-C(O)-Pro-Pab-OC(O)Et (75 mg, 0,12 mmol, z kroku (iii) uvedeného vyššie) v CH_2Cl_2 . Roztok sa miešal pri teplote $0\pm 5^\circ\text{C}$ počas 35 minút, potom sa roztok zalkalizoval pevným Na_2CO_3 a extrahoval s CH_2Cl_2 . Organické fázy sa spojili, premyli (voda), vysušili (Na_2SO_4) a odparili, čím sa získal surový produkt. Po prečistení pomocou RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{NH}_4\text{OHAc}$ (10%) (42:58)) a vysušení vymrazením sa získalo 41 mg (67%) produktu uvedeného v názve, vo forme bieleho prášku.

LC-MS m/z 497 ($M + 1$) $^+$.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,66 (d, 2H), 7,34 (d, 2H), 6,83 (dd, 3H), 5,11 (b, 2H), 4,63 (dd 1H), 4,48 (ddd, 2H), 4,03 (dd, 1H), 3,88 (dd, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,73 (dd, 1H), 3,64 (m, 1H), 3,19 (m, 1H), 2,54 (q, 2H), 2,35 (m, 1H), 2,06 (m, 1H), 1,82 (m, 2H), 1,27 (t, 3H).

Príklad 15

(S)- alebo (R)-3-Metoxifyfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab-OC(O) CH_3

(i) (S)- alebo (R)-3-Metoxifyfenyl-CH(CH_2OTBTMS)-C(O)-Pro-Pab-OC(O) CH_3

Zmes (S)- alebo (R)-3-metoxifyfenyl-CH(CH_2OTBTMS)-C(O)-Pro-Pab-OH (130 mg, 0,23 mmol, z príkladu 14(ii) uvedeného vyššie), anhydrid kyseliny octovej (1 ml, 10 mmol) a DMAP (9 mg, 0,07 mmol) sa miešal pri laboratórnej teplote počas 90 minút. Po odparení sa surový produkt prečistil pomocou RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{NH}_4\text{OHAc}$ (10%) (60:40)), čím sa získalo 78 mg (57%) produktu uvedeného v podnázve.

LC-MS m/z 598 ($M + 1$) $^+$.

(ii) (S)- alebo (R)-3-Metoxifyfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab-OC(O) CH_3

K roztoku (S)- alebo (R)-3-metoxifyfenyl-CH(CH_2OTBTMS)-C(O)-Pro-Pab-OC(O) CH_3 (125 mg, 0,21 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v CH_2Cl_2 (2,5 ml), sa pridal TEA (0,2 ml) a zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 40 minút, roztok sa potom zalkalizoval vodným Na_2CO_3 a extrahoval dichlórmetánom. Organické vrstvy sa jedenkrát premyli vodou, vysušili (Na_2SO_4) a odparili, čím poskytli 60 mg surového produktu. Po prečistení pomocou RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{NH}_4\text{OHAc}$ (10%) (60:40)) a vysušení vymrazením sa získalo 36 mg (36%) produktu uvedeného v názve, vo forme bieleho prášku.

LC-MS m/z 484 ($M + 1$) $^+$.

Príklad 16

R)- alebo (S)-3-(Metylamino)fenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x 2 HCl

(i) (R,S)-((-3-Boc-metylamino)fenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab-(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-Boc-aminofenyl)propiónovej (0,28 g, 0,95 mmol z príkladu U uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Pro-Pab(Z) x HCl (0,46, 0,88 mmol), TBTU (0,32 g, 1,0 mmol) a DIPEA (0,44 g, 3,4 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 4 dní. DMF sa potom odparil a zvyšok sa prečistil preparatívnou HPLC (CH₃CN:-NH₄OHAc (10%), 42:58). CH₃CN sa odparil a vodný roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získala zlúčenina uvedená v podnázve (220 mg, 43%).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,28 (d, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,42 (m, 2H), 7,33 (m, 3H), 7,28 (m, 3H), 7,23 (m, 1H), 7,12 (d, 2H), 5,20 (d, 2H), 4,60 (m, 1H), 4,40 (m, 2H), 4,03 (m, 1H), 3,90 (m, 1H), 3,72 (m, 1H), 3,50 (m, 1H), 3,14 (s, 3H), 2,25 (m, 1H), 1,85 (m, 4H), 1,43 (s, 9H).

(ii) (R)- a (S)-((-3-Boc-metylamino)fenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab

Pd/C (10%, 10 mg) sa pridalo k roztoku (R,S)-((-3-Boc-metylamino)fenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab-(Z) (270 mg, 0,42 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v 10 ml EtOH a HOAc (10 kvapiek). Reakčná zmes sa hydrogenovala (1 atm.) pri laboratórnej teplote počas 2 hodín a výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo. Roztok sa odparil, pridala sa voda a roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 214 mg (100%) surovej látky uvedenej v podnázve vo forme bieleho penovitého materiálu. Surový produkt sa prečistil pomocou RPLC (CH₃CN:-NH₄OHAc (0,1M, 32:68), pričom sa diastereoizoméry oddelili. CH₃CN sa odparil a vodný roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získala zlúčenina 16A (rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér) a zlúčenina 16B (pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér).

Zlúčenina 16A

¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 7,8 (d, 2H), 7,4 (d, 2H), 7,2 (m, 4H), 4,6 (m, 2H), 4,3 (d, 1H), 4,15 (m, 2H), 3,85 (m, 2H), 3,55 (m, 1H), 2,95 (s, 2H), 2,3 (m, 1H), 2,0 (d, 5H), 1,4 (d, 9H).

Zlúčenina 16B

^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ 7,8 (d, 2H), 7,5 (d, 2H), 7,3 (m, 4H), 4,5 (m, 2H), 4,4 (d, 1H), 4,1 (m, 2H), 3,8 (m, 2H), 3,4 (m, 2H), 3,2 (s, 2H), 2,2 (m, 1H), 2,0 (d, 5H), 1,4 (d, 9H).

(iii) (R)- alebo (S)-3-(Metylamino)fenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

Roztok (R)- alebo (S)-((-3-Boc-metylamino)fenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab (zlúčenina 16B z kroku (ii) uvedeného vyššie, 172 mg, 0,42 mmol) v HCl (6M, 10 ml) sa miešala pri laboratórnej teplote počas 2 hodín a produkt sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 153 mg (76%, čistota 94,2%) zlúčeniny uvedenej v názve vo forme bielej látky.

FAB-MS m/z 424 ($M + 1$) $^+$.

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 8,77 (t, 1H), 7,80 (d, 2H), 7,72 (d, 1H), 7,63 (t, 1H), 7,54 (d, 2H), 7,50 (m, 2H), 4,55 (m, 2H), 4,46 (m, 2H), 4,46 (dd, 1H), 4,27 (t, 1H), 4,12 (m, 1H), 3,88 (m, 2H), 3,66 (dd, 1H), 3,42 (m, 1H), 3,13 (s, 3H), 2,22 (m, 1H), 2,00 (m, 2H), 1,90 (m, 1H).

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) 174,6 171,9, 166,6.

Príklad 17

(S)-PhCH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

(i) Kyselina (S)-tropová

Racemická kyselina tropová (10g, 47 mmol) sa rozpustila s použitím (1R:2R)-(-)-1-p-nitrofenyl-2-aminopropan-1,3-diolu (7,85 g, 47 mmol) podľa spôsobu opísaného G. Fodorom a kol. v Acta Chem. Hung. 28, 407 (1961), čím sa získalo 0,25 g (5%) zlúčeniny uvedenej v názve.

$[\alpha]_{20}^D = -77^\circ$, $c = 0,5 \text{ H}_2\text{O}$ (Lit. -72°)

(ii) (S)-PhCH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Pripravil sa roztok kyseliny (S)-tropovej (234 mg, 1,4 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), H-Pro-Pab(Z) (884 mg, 1,95 mmol, pripraveného podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284) a TEA (1ml, 7 mmol) v dichlórmétáne (30 ml) a ochladil sa na teplotu 0°C. Potom sa pridal HBTU (570 mg, 1,5 mmol) a roztok sa miešal cez noc. Rozpúšťadlo sa odparilo a surový produkt sa prečistil pomocou RPLC, čím sa získalo 0,50 g (68%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

LC-MS m/z 527 (M - 1)⁻.

(iii) (S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

Roztok (S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (220 mg, 0,42 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (25 ml) s Pd/C (10%, 161 mg) sa hydrogenoval pri atmosferickom tlaku pri laboratórnej teplote počas 18 hodín. Výsledný roztok sa prefiltraval cez Hyflo a odparil. Vzniknutá pevná látka sa rozpustila vo vode, pridal sa 1 ml 2M vodného roztoku HCl a roztok sa vysušil vymrazením. Získal sa produkt uvedený v názve vo forme bielej pevnej látky (132 mg, 80%).

LC-MS m/z 394,5 (M + 1)⁺.

Príklad 18

(R,S)-3,5-Dimetylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) (R,S)-3,5-Dimetylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3,5-dimetylfenyl)propiónovej (0,155 g, 0,8 mmol z príkladu H uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Aze-Pab(Z) x 2 HCl (0,387 g, 0,88 mmol, z príkladu A uvedeného vyššie), potom sa pridal TBTU (0,283 g, 0,88 mmol) a následne DIPEA (0,414 g, 3,2 mmol) a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 4 dní. Roztok sa zahustil a výsledná reakčná zmes sa prečistila pomocou RPLC (CH₃CN:-NH₄OHAc (10%), (40:60)). CH₃CN sa odparil a vodná fáza sa extrahovala s EtOAc. Organická fáza sa vysušila (Na₂SO₄) a odparila do sucha. Izoloval sa pevný produkt uvedený v podnázve (270 mg, 62%) vo forme bielej pevnej látky.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,27 (bt, 0,5H), 8,15 (bt, 0,5H), 7,80 (d, 2H), 7,44 (m, 2H), 7,34 (d, 2H), 7,30 (d, 2H), 6,91 (d, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,65 (s, 1H), 5,20 (d, 2H), 4,90 (m, 1H), 4,6 – 4,4 (m, 2H), 4,1 – 4,0 (m, 2H), 3,8 – 3,5 (m, 3H), 2,58 (m, 1H), 2,29 (s, 3H), 2,21 (s, 3H).

(ii) (R,S)-3,5-Dimetylfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

K roztoku (R,S)-3,5-dimetylfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Aze-Pab-(Z) (0,229 g, 0,42 mmol z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml) sa pridala kyselina octová (24 μl) a Pd/C (5%, 0,115 g). Roztok sa hydrogenoval pri atmosferickom tlaku a laboratórnej teplote počas 2,5 hodín. Zmes sa prefiltrovala cez Hyflo a výsledný roztok sa zahustil, rozpustil v minimálnom množstve vody a vysušil vymrazením, čím sa získalo 0,174 g (88%, čistota 93,6%) zlúčeniny uvedenej v názve vo forme bielej pevnej látky.

LC-MS m/z 409 ($M + 1$) $^+$.

Príklad 19

(S)- alebo (R)-3-(Trifluórmetyl)fenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

(i) (R)- a (S)-3-(trifluórmetyl)fenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-trifluórmetylfenyl)propiónovej (0,25 g, 1,07 mmol z príkladu I uvedeného vyššie), H-Pro-Pab(Z) (0,532 g, 1,17 mmol, pripraveného podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284), a TBTU (0,377 g, 1,7 mmol) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C a následne sa pridal DIPEA (0,72 g, 4,27 mmol). Reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 40 hodín. Reakčná zmes sa zahustila, pridala sa voda a pH sa nastavilo na 9 (vodným NaHCO_3). Výsledná zmes sa extrahovala EtOAc (3 x 100 ml). Spojené organické fázy sa premyli soľankou, vysušili (Na_2SO_4) a odparili. Preparatívnu HPLC (CH_3CN : NH_4OHAc (0,1M), (45:55)) sa získali dva diastereoizoméry. Zlúčenina 19A (87 mg, 0,15 mmol, čistota 94,4% pomocou HPLC, rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér) a zlúčenina 19B (120 mg, 0,20 mmol, čistota 91% pomocou HPLC, pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér).

LC-MS m/z 597 ($M + 1$)⁺ (obidva diastereoizoméry).

(ii) (S)- alebo (R)-3-(Trifluórmetyl)fenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

Pd/C (10%) sa pridalo k roztoku (R)- alebo (S)-3-(trifluórmetyl)fenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (118 mg, 0,20 mmol, zlúčenina 19B z kroku (i) uvedeného vyššie), v EtOH (10 ml) a vodnom roztoku HCl (1M, 0,4 ml). Zmes sa hydrogenovala počas 3 hodín pri laboratórnej teplote a atmosferickom tlaku. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo a roztok sa odparil. Pridala sa voda a roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 66 mg (66,9%) zlúčeniny uvedenej v názve vo forme bielej pevnej látky (čistota 94,5%, (HPLC)).

LC-MS m/z 463 ($M + 1$)⁺.

Príklad 20

(R,S)-3-Hydroxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

(i) (R,S)-3-Hydroxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-hydroxyfenyl)propiónovej (0,146 g, 0,8 mmol z príkladu J uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Aze-Pab(Z) x HCl (0,399 g, 0,88 mmol, z príkladu A uvedeného vyššie), a TBTU (0,283 g, 0,88 mmol) a roztok sa zahrieval pri laboratórnej teplote počas 4 dní. Reakčná zmes sa zahustila, a výsledná zmes sa prečistila pomocou RPLC (CH₃CN:-NH₄OHAc (10%), (42:58)). CH₃CN sa odparil a vodný roztok sa vysušil vymrazením. Izoloval sa produkt uvedený v podnázve (187 mg, 43%) vo forme pevnej bielej látky.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 7,82 (d, 2H), 7,41 (m, 3H), 7,34 (m, 2H), 7,25 (d, 1H), 7,13 (t, 1H), 6,78 (s+d, 2H), 6,66 (d, 1H), 5,18 (b, 2H), 4,5 (m, 2H), 4,07 (m, 1H), 3,93 (m, 1H), 3,79 (m, 1H), 3,65 (m, 1H), 3,5 – 3,3 (m, 2H), 3,30 (s, 1H), 2,2 – 2,0 (m, 2H), 1,95 (m, 3H), 1,81 (m, 1H).

(ii) (R,S)-3-Hydroxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

Kyselina octová (18 μ l) a Pd/C (5%) sa pridalo k roztoku (R,S)-3-hydroxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (0,173 g, 0,32 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), v EtOH (10 ml). Roztok sa hydrogenoval počas 3 hodín pri laboratórnej teplote a atmosferickom tlaku. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo a roztok sa zahustil, rozpustil v minimálnom množstve vody a vysušil vymrazením, čím sa získalo 0,133 mg (89%, čistota 94,2%) vložkových bielych kryštálov.

LC-MS m/z 411 (M + 1)⁺.

Príklad 21

(R)- alebo (S)-(3-Chlór-5-metylfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

(i) (R)- a (S)-(3-Chlór-5-metylfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-chlór-5-metylfenyl)propiónovej (0,30 g, 1,4 mmol, z príkladu V uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Pro-Pab(Z) x HCl (0,70 g, 1,54 mmol), TBTU (0,99 g, 1,5 mmol) a DIPEA (0,94 g, 5,5 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 4 dní. Potom sa DMF odparil, výsledná zmes sa vliala do vody (400 ml) a pH sa nastavilo na 9 s vodným roztokom NaHCO₃ (10%). Vodná zmes sa extrahovala s EtOAc (3 x 100 ml), spojené organické fázy sa premyli vodným roztokom NaHCO₃ (10%), vodou, sol'ankou, vysušili (Na₂SO₄) a zahustili. Surový produkt (0,674 g) sa prečistil pomocou RPLC (CH₃CN:-NH₄OHAc (10%), (45:55)), pričom sa oddelili vyššie uvedené diastereoizoméry. CH₃CN sa odparil a vodný roztok sa extrahoval s EtOAc. Organické vrstvy sa premyli vodou, vysušili (Na₂SO₄) a zahustili, čím sa získala zlúčenina 21A (125 mg, 31%, rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér) a zlúčenina 21B (102 mg, 25%, pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér).

Zlúčenina 21B

FAB-MS (m/z) 577, 579 (M + 1)⁺.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,76 (d, 2H), 7,43 (m, 2H), 7,30 (m, 5H), 7,07 (d, 2H), 6,95 (s, 1H), 5,20 (s, 2H), 4,58 (dd, 1H), 4,42 (m, 2H), 3,97 (t, 1H), 3,85 (dd, 1H), 3,68 (m, 2H), 3,23 (m, 1H), 2,30 (s, 3H), 2,25 (m, 1H), 2,03 (m, 1H), 1,85 (m, 4H).

(ii) (R)- alebo (S)-(3-Chlór-5-metylfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

Tioanizol (1,04 g, 8,86 mmol) sa pridal k roztoku (R)- alebo (S)-(3-chlór-5-metylfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (zlúčenina 21B z kroku (i) uvedeného vyššie, 0,102 g, 0,18 mmol) v 3,7 ml TFA. Reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 3 hodín. Výsledná zmes sa rozpustila vo vode, vodný roztok sa dvakrát premyl éterom a výsledný roztok sa vysušil vymrazením. Surový produkt sa prečistil pomocou preparatívnej HPLC (CH_3CN : NH_4OHAc (0,1M%), 35:65). CH_3CN sa odparil a vodný roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 50 mg (59%) zlúčeniny uvedenej v názve, vo forme bieleho prášku.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,23 (b, 2H), 8,74 (b, 2H), 7,78 (d, 2H), 7,57 (d, 2H), 7,18 (s, 1H), 7,12 (m, 2H), 4,52 (s, 2H), 4,46 (dd, 1H), 4,06 (m, 2H), 3,89 (m, 1H), 3,72 (m, 1H), 3,39 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 2,15 (m, 1H), 1,98 (m, 2H), 1,87 (m, 1H).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) 174,9, 173,1, 168,3.

Príklad 22

(S)- alebo (R)-3-Fluórfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

(i) (R)- a (S)-3-Fluórfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-fluórfenyl)propiónovej (0,2 g, 1,09 mmol, z príkladu K uvedeného vyššie), H-Pro-Pab(Z) (0,542 g, 1,19 mmol, pripraveného podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284) a TBTU (0,383 g, 1,19 mmol) v DMF (10ml) sa ochladil na teplotu 0°C a pridal sa DIPEA (0,73 g, 4,34 mmol). Výsledná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 22 hodín. Reakčná zmes sa zahustila, pridala sa voda (400 ml) a pH sa nastavilo na 9 s vodným roztokom NaHCO_3 (10%). Spojené organické fázy sa premyli vodným roztokom NaHCO_3 , vodou, a potom soľankou, vysušili sa (Na_2SO_4) a zahustili. Výsledná zmes sa potom extrahovala s EtOAc (3 x 100 ml). Pomocou RPLC

(CH₃CN:-NH₄OHAc (0,1M), (45:55)), sa oddelili dva diastereoizoméry: zlúčenina 22A (85 mg, 0,16 mmol, čistota 90% pomocou HPLC, rýchlejší sa pohybujúci diastereoizomér) a zlúčenina 22B (95 mg, 0,17 mmol, čistota 91% pomocou HPLC, pomalší sa pohybujúci diastereoizomér).

LC-MS m/z 547 (M + 1)⁺ (obidva diastereoizoméry).

(ii) (S)- alebo (R)-3-Fluórfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

Pd/C (10%) sa pridalo k roztoku zlúčeniny 22B (85 mg, 0,16 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml) a vodného roztoku HCl (1M, 0,4 ml), a zmes sa hydrogenovala počas 3 hodín pri laboratórnej teplote a atmosferickom tlaku. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo a roztok sa odparil. Pridala sa voda a roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 62,9 mg (90,1%) bielej pevnej látky (čistota 93,3% (HPLC)).

LC-MS m/z 413 (M + 1)⁺.

Príklad 23

(S)- a (R)-3-Chlórfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

(i) (R,S)-3-Chlórfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-chlórfenyl)propiónovej (0,30 g, 1,5 mmol, z príkladu L uvedeného vyššie), H-Pro-Pab(Z) (0,77 g, 1,7 mmol, pripraveného podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284) a TBTU (0,55 g, 1,7 mmol) a DIPEA (0,41 g, 3,2 mmol) v DMF (20 ml) sa miešal počas 2 dní. Výsledná zmes sa extrahovala zmesou toluén:EtOAc (1:1, 300 ml), organické vrstvy sa spojili, premyli vodným roztokom NaHCO₃ a vodou, vysušil (Na₂SO₄) a odparili. Okamžitá chromatografia (silikagél, CH₂Cl₂:THF (7:3)) poskytla 0,50 g (59%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

FAB-MS m/z 562,4, 564,5 (M + 1)⁺.

(ii) (R)- alebo (S)-3-Chlórfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

Kyselina trifluórmetsulfónová (0,2 g, 1,3 mmol) sa pridala k roztoku (R,S)-3-chlórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (0,15 g, 0,27 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v CH₂Cl₂ a anizole (43 mg, 0,40 mmol). Výsledná zmes sa miešala počas 1 hodiny a potom sa zahustila. Pridala sa voda a pH vodného roztoku sa upravilo na približne 9 vodným NaHCO₃. Vodná fáza sa premyla éterom a vysušila vymrazením, čím sa získal produkt. Pomocou RPLC sa separovali dva diastereoizoméry: zlúčenina 23A (11 mg, 19%, čistota 81,7%, pomocou HPLC, rýchlejší sa pohybujúci diastereoizomér) a zlúčenina 23B (11 mg, 19%, čistota 90,0%, pomocou HPLC, pomalší sa pohybujúci diastereoizomér).

Zlúčenina 23A

LC-MS m/z 428,4 (M + 1)⁺.

Zlúčenina 23B

FAB-MS m/z 431 (M + 1)⁺.

Príklad 24

(R,S)-3,5-Dimetylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

(i) (R,S)-(3,5-Dimetylfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3,5-dimetylfenyl)propiónovej (0,155 g, 0,8 mmol, z príkladu H uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Pro-Pab(Z) x 2 HCl (0,399 g, 0,88 mmol, pripravený podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284), TBTU (0,283 g, 0,88 mmol) a DIPEA (0,414 g, 3,2 mmol) (v takomto poradí) a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote počas 5 dní. Reakčná zmes sa zahustila a zvyšok sa prečistil pomocou RPLC (CH₃CN:-NH₄OHAc (10%), (40:60)). CH₃CN sa odparil a vodná fáza sa extrahovala s EtOAc. Organická fáza sa vysušila (Na₂SO₄) a odparila do sucha. Izoloval sa produkt uvedený v podnázve (300 mg, 97%), vo forme svetložltej pevnej látky.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,83 (d, 2H), 7,45 (m, 2H), 7,32 (m, 6H), 6,88 (s, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,78 (s, 1H), 5,21 (d, 2H), 4,75 – 4,30 (m, 3H), 4,04 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,74 (dt 1H), 3,63 (m, 1H), 3,47 (m, 1H), 3,19 (m, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,16 (s, 3H), 1,95 – 1,75 (m, 3H).

(ii) (R,S)-(3,5-Dimetylfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

Kyselina octová (29 μl) a Pd/C (5%, 0,140 g) sa pridali k roztoku (R,S)-(3,5-dimetylfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (0,280 g, 0,50 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml). Roztok sa hydrogenoval pri atmosferickom tlaku a laboratórnej teplote počas 2,5 hodín. Zmes sa potom prefiltrovala cez Hyflo a výsledný roztok sa zahustil, rozpustil v minimálnom množstve vody a vysušil vymrazením, čím sa získalo 0,174 g produktu (88%, čistota 92,1%) vo forme bielych kryštálov.

LC-MS m/z 423 ($M + 1$) $^+$.

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) karbonylové a amidínové uhlíky, diastereoizoméry a/alebo rotaméry) 174,93, 173,17, 173,02, 166,55, 166,40.

Príklad 25

(S)- alebo (R)-3,5-Bis(trifluórmetyl)fenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

(i) (R)- a (S)-2-(3,5-Bis(trifluórmetyl)fenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny 3-hydroxy-2-(3,5-bis(trifluórmetyl)fenyl)propiónovej (284 mg, 0,94 mmol, z príkladu M uvedeného vyššie), H-Pro-Pab(Z) x 2HCl (468 mg, 1,03 mmol, pripravený podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284) a TBTU (332 mg, 1,03 mmol) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C a pridal sa DIPEA (485 mg, 3,76 mmol). Reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 60 hodín. Roztok sa vliat do 400 ml vody, pH sa nastavilo na hodnotu 9 (pomocou vodného roztoku NaHCO_3) a roztok sa extrahoval s EtOAc (3 x 100 ml). Spojené organické fázy sa premyli vodným roztokom NaHCO_3 , vodou a sol'ankou, vysušili sa (Na_2SO_4) a odparili. Pomocou preparatívnej HPLC (CH_3CN :- NH_4OHAc (0,1M), (55:45)), sa oddelili dva diastereoizoméry: zlúčenina 25A (161

mg, 0,24 mmol, čistota 86,9% pomocou HPLC, rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér) a zlúčenina 25B (241 mg, 0,36 mmol, čistota 90,9% pomocou HPLC, pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér).

Zlúčenina 25B

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,80 (s, 3H), 7,67 (d, 2H), 7,56 (t, 1H), 7,41 (dd, 2H), 7,39 – 7,28 (m, 3H), 7,21 (d, 1H), 5,19 (s, 2H), 4,57 (dd, 1H), 4,33 (m, 2H), 4,12 (m, 1H), 3,96 (t, 1H), 3,84 (m, 1H), 3,77 (dd, 1H), 3,36 (dd, 1H), 2,17 (m, 1H), 2,10 – 1,87 (m, 4H).

(ii) (S)- alebo (R)-3,5-Bis(trifluórmetyl)fenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab

Pd/C (10%) sa pridalo k roztoku zlúčeniny 25B (235 mg, 0,35 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml) a vodného roztoku HCl (1M, 0,7 ml). Zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku a laboratórnej teplote počas 3 hodín. Reakčná zmes sa potom prefiltrovala a zahustila, pridala sa voda a výsledný roztok sa vysušil vymrazením, čím poskytol 174 mg (83,3%) zlúčeniny uvedenej v názve, vo forme bielej penovitej látky (čistota 92,7%, pomocou HPLC).

LC-MS m/z 531 ($M + 1$)⁺.

Príklad 26

(R,S)-3-Metoxi-5-metylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

(i) (R,S)-(3-Metoxi-5-metylfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Zmes kyseliny 3-hydroxy-2-(3-metoxi-5-metylfenyl)propiónovej (0,19 g, 0,9 mmol, z príkladu N uvedeného vyššie), H-Aze-Pab(Z) x 2HCl (0,35 g, 0,99 mmol, z príkladu A uvedeného vyššie) a TBTU (0,32 g, 0,99 mmol) v CH_2Cl_2 sa ochladila na ľadovom kúpeli a pridal sa DIPEA (0,47 g, 3,7 mmol). Reakčná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote cez noc, potom sa CH_2Cl_2 odparil a surová zmes sa chromatografovala s použitím okamžitej chromatografie (CH_2Cl_2 :THF:MeOH (11:2:1), silikagél). Spojené frakcie sa rozpustili vo vode a mierne zakalený vodný roztok sa

extrahoval s EtOAc. Organická vrstva sa vysušila (Na_2SO_4) a odparila, čím sa získalo 0,18 g, (35%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 9,5 (b, 1H), 7,77 (dd, 2H), 7,43 (m, 2H), 7,3 – 7,21 (m, 6H), 6,63 (d, 1H), 6,59 (m, 1H), 5,20 (d, 2H), 4,67 (d, 0,5H), 4,58 (dd, 0,5H), 4,40 (m, 2H), 4,07 (dd, 0,5H), 4,00 (dd, 0,5H), 3,82 (m, 1H), 3,75 (s, 3H), 3,69 (m, 2H), 3,48 (m, 1H), 3,21 (m, 1H), 2,28 (s, 3H), 2,05 – 1,94 (m, 1H), 1,95 – 1,75 (m, 3H).

(ii) (R,S)-(3-Metoxi-5-metylfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

Zmes (R,S)-(3-Metoxi-5-metylfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (100 mg, 0,17 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), koncentrovaný vodný HCl (10 kvapiek) a Pd/C (10%) v 10 ml EtOH sa hydrogenovalo pri laboratórnej teplote a atmosferickom tlaku počas 2 hodín. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo, zahustila a rozpustila v minimálnom množstve vody. Vysušenie vymrazením poskytlo 75 mg (90%) zlúčeniny uvedenej v názve (čistota 92% pomocou HPLC).

LC-MS m/z 440 ($M + 1$) $^+$.

Príklad 27

(R,S)-(2,5-Dimetoxifyfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

(i) (R,S)-(2,5-Dimetoxifyfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(2,5-dimetoxifyfenyl)propiónovej (0,23 g, 1,0 mmol, z príkladu O uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Pro-Pab(Z) x 2 HCl (0,500 g, 1,1 mmol, pripravený podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284), TBTU (0,353 g, 1,1 mmol) a DIPEA (0,517 g, 4,0 mmol) (v takomto poradí) a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote počas 3 dní. DMF sa odparil a výsledná zmes sa prečistila pomocou RPLC (CH_3CN : NH_4OHAc (10%), (40:60)). CH_3CN sa odparil a vodná fáza sa extrahovala s EtOAc. Organická fáza sa vysušila (Na_2SO_4) a odparila do sucha. Izoloval sa produkt uvedený v podnázve (400 mg, 68%), vo forme svetloružovej pevnej látky.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,19 (d, 3H), 7,43 (dd, 1H), 7,43 (dt, 1H), 7,30 (d, 1H), 6,82 – 6,72 (m, 4H), 6,68 (d, 1H), 5,20 (d, 3H), 4,70 – 4,57 (m, 1H), 4,52 – 4,30 (m, 5H), 3,96 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,70 (m, 1H), 3,60 (s, 3H), 3,65 – 3,45 (m, 2H), 3,18 – 3,02 (m, 1H), 2,29 (m, 1H), 2,04 – 1,96 (m, 1H), 1,95 – 1,74 (m, 4H).

(ii) (R,S)-(2,5-Dimetoxyfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

Kyselina octová (36 μl) a Pd/C (5%, 0,190 g) sa pridali k roztoku (R,S)-(2,5-dimetoxyfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (0,375 g, 0,64 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml). Roztok sa hydrogenoval pri atmosferickom tlaku a laboratórnej teplote počas 3,5 hodín. Zmes sa potom prefiltrovala cez Hyflo a výsledný roztok sa zahustil, rozpustil v minimálnom množstve vody a vysušil vymrazením, čím sa získalo 0,174 g produktu (88%, čistota 92,1%) vo forme bielych kryštálov.

LC-MS m/z 455 ($M + 1$) $^+$.

Príklad 28

(R,S)-(3,5-Dimetoxyfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

(i) (R,S)-(3,5-Dimetoxyfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Zmes kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3,5-dimetoxyfenyl)propiónovej (0,18 g, 0,8 mmol, z príkladu P uvedeného vyššie), H-Pro-Pab(Z) x 2 HCl (0,40 g, 0,88 mmol, pripravený podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284) a TBTU (0,28 g, 0,88 mmol) v 10 ml DMF sa ochladil na ľadovom kúpeli a pridala sa DIPEA (0,39 g, 3,0 mmol). Zmes sa miešala pri laboratórnej teplote cez noc, potom sa reakčná zmes zahustila. Surový produkt sa podrobil okamžitej chromatografii (CH_2Cl_2 :THF:MeOH (10:3:1), silikagél). K spojeným frakciám sa pridala voda a výsledná zmes sa extrahovala etylacetátom. Organická vrstva sa vysušila (Na_2SO_4) a odparila, čím sa získalo 0,32 g (68%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,76 (t, 1H), 7,43 (dd, 1H), 7,37 – 7,20 (m, 6H), 6,40 (d, 2H), 5,20 (d, 2H), 4,65 – 4,56 (m, 2H), 4,48 – 4,32 (m, 2H), 4,09 – 3,98 (m, 4H),

3,82 (m, 2H), 3,75 (s, 3H), 3,66 (s, 3H), 3,52 – 3,45 (m, 1H), 3,28 – 3,21 (m, 1H), 2,30 – 2,18 (m, 1H), 2,04 – 1,76 (m, 5H).

(ii) (R,S)-(3,5-Dimetoxyfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

Koncentrovaná kyselina chlorovodíková (10 kvapiek) a Pd/C (10%) sa pridali k roztoku (R,S)-(3,5-dimetoxyfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (0,16g, 0,27 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml). Zmes sa hydrogenovala pri atmosférickom tlaku a laboratórnej teplote počas 2 hodín. Výsledná zmes sa potom prefiltrovala cez Hyflo a odparila do sucha, čím sa získalo 0,14 g (100%) zlúčeniny uvedenej v názve (čistota 94,2%, stanovené pomocou HPLC).

FAB-MS m/z 455 (M + 1)⁺.

Príklad 29

(R,S)-(3,4-Metylendioxyfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

(i) (R,S)-(3,4-Metylendioxyfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3,4-metylendioxyfenyl)propiónovej (0,21 g, 1,0 mmol, z príkladu Q uvedeného vyššie), H-Pro-Pab(Z) x 2 HCl (0,50 g, 1,1 mmol, pripravený podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284), TBTU (0,35 g, 1,1 mmol) a DIPEA (0,47 g, 3,7 mmol) v dichlórmétáne (10 ml) sa miešal počas 7 dní. Výsledná zmes sa odparila a surový produkt sa prečistil okamžitou chromatografiou (CH₂Cl₂:THF (7:3)). Príslušné spojené frakcie sa zahustili a surový produkt sa rozpustil v EtOAc. Roztok sa premyl vodou, vysušil (Na₂SO₄) a odparil, čím sa získalo 0,28 g (49%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,79 (d, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,42 (m, 2H), 7,36 – 7,25 (m, 4H), 7,22 (dd, 2H), 6,76 – 7,57 (m, 3H), 5,91 (s, 2H), 5,87 (dd, 1H), 5,19 (d, 2H), 4,62 – 4,52 (m, 1H), 4,45 – 4,30 (m, 1H), 4,00 – 3,90 (m, 1H), 3,84 – 3,74 (m, 1H), 3,64 (m, 1H), 3,22 (m, 1H), 2,28 – 2,23 (m, 1H), 2,23 – 2,15 (m, 1H), 2,03 – 1,75 (m, 4H).

(ii) (R,S)-(3,4-Metylendioxyfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

Koncentrovaná kyselina chlorovodíková (6 kvapiek) a Pd/C (10%) sa pridali k roztoku (R,S)-(3,4-metylendioxyfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (90 mg, 0,16 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml). Zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku a laboratórnej teplote počas 2 hodín. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo a odparila do sucha, čím sa získalo 69 mg (92%) zlúčeniny uvedenej v názve.

FAB-MS m/z 439 (M + 1)⁺.

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) (karbonylové a amidínové uhlíky, komplex rotamérov a/alebo diastereoizomérov) 174,96, 174,,79, 173,04, 166,58, 172,99, 166,45.

Príklad 30

(S)- alebo (R)-3-(1-Naftyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab

(i) (R)- a (S)-3-(1-Naftyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(1-naftyl)propiónovej (0,3 g, 1,39 mmol, z príkladu R uvedeného vyššie), H-Pro-Pab(Z) (0,692 g, 1,53 mmol, pripravený podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284) a TBTU (0,490 g, 1,53 mmol) v 10 ml DMF sa ochladil na teplotu 0°C a pridali sa DIPEA (0,93 g, 5,55 mmol). Výsledná zmes sa miešala pri laboratórnej teplote počas 60 hodín. DMF sa potom čiastočne odparil a zvyšok sa vliat do 400 ml vody. pH sa nastavilo na hodnotu 9 (vodným roztokom NaHCO₃) a roztok sa extrahoval 3 x 100 ml EtOAc. Spojené organické fázy sa premyli vodným NaHCO₃, vodou a soľankou, vysušili sa (Na₂SO₄) a odparili. Preparatívnu HPLC (CH₃CN:NH₄OAc (0,1M) (45:55), sa oddelili dva diastereoizoméry: zlúčenina 30A (262 mg, 0,45 mmol, čistota 92,4%, pomocou HPLC, rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér) a zlúčenina 30B (199 mg, 0,34 mmol, čistota 99,9%, pomocou HPLC, pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér).

LC-MS m/z 580 (M + 1)⁺ (obidva diastereoizoméry).

(ii) (S)- alebo (R)-3-(1-Naftyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

Pd/C (10%) sa pridalo k roztoku zlúčeniny 30B (190 mg, 0,16 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml) a vodnej HCl (1M, 0,66 ml) a zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku a laboratórnej teplote počas 3 hodín. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo a roztok sa odparil. Pridala sa voda a roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 157 mg (99,4%) bielej penovitej látky (čistota 99,8%, stanovené pomocou HPLC).

LC-MS m/z 445 ($M + 1$)⁺.

Príklad 31

(R,S)-3,5-Dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) (R,S)-3,5-Dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3,5-dimetoxyfenyl)propiónovej (0,27 g, 1,2 mmol, z príkladu W uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Aze-Pab(Z) x 2 HCl (0,57 g, 1,3 mmol, z príkladu A uvedeného vyššie), TBTU (0,42 g, 1,3 mmol) a DIPEA (0,54 g, 4,2 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote počas 2 dní. DMF sa potom odparil, surový produkt sa prečistil pomocou okamžitej chromatografie na silikagélovej kolóne eluovaním s CH₂Cl₂:THF:MeOH (80:30:5), čím sa získalo 230 mg (34%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,20 (d, 1H), 7,75 (t, 2H), 7,40 (t, 2H), 7,30 (m, 5H), 6,40 (s, 1H), 6,37 (m, 1H), 6,30 (s, 1H), 5,20 (d, 2H), 4,85 (m, 1H), 4,40 (m, 2H), 4,05 (m, 2H), 3,75 (s, 6H), 3,65 (s, 3H), 2,55 (m, 1H), 2,35 (m, 1H).

(ii) (R,S)-3,5-Dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

Pd/C (10%) sa pridalo k roztoku (R,S)-3,5-dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab(Z) (270 mg, 0,42 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml) a HOAc (10 kvapiek) a zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku a laboratórnej teplote počas 2 hodín. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo. Roztok sa odparil, pridala sa voda a roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 170 mg (89%) zlúčeniny uvedenej v názve.

FAB-MS m/z 441 ($M + 1$)⁺

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7,8 (m, 1H), 7,68 (d, 1H), 7,57 (m, 1H), 7,39 (d, 1H), 6,60 (m, 1H), 6,54 (m, 1H), 6,45 (m, 1H), 5,00 (m, 1H), 4,5 (m, 3H), 4,10 (m, 3H), 3,80 (m, 9H), 2,60 (m, 1H), 2,28 (m, 1H), 1,95 (s, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, D₂O) karbonylové a amidínové uhlíky: δ 182,0, 174,4, 174,0 (rotaméry a/alebo diastereoizoméry), 173,2, 172,9, 172,8 (rotaméry a/alebo diastereoizoméry)

Príklad 32

(R,S)-2-Chlór-5-aminofenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) (R,S)-2-Chlór-5-(Boc-amino)fenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(2-chlór-5-(Boc-amino)fenyl)propiónovej (0,22 g, 0,7 mmol, z príkladu X uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Aze-Pab(Z) x 2 HCl (0,32 g, 0,75 mmol, z príkladu A uvedeného vyššie), TBTU (0,24 g, 0,75 mmol) a DIPEA (0,32 g, 2,5 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote počas 2 dní. DMF sa potom odparil, surový produkt sa prečistil pomocou okamžitej chromatografie na silikagélovej kolóne eluovaním s CH₂Cl₂:THF:MeOH (85:15:5), čím sa získalo 180 mg (39%) zlúčeniny uvedenej v podnázve.

¹H NMR (5300 MHz, CDCl₃) δ 9,45 (b, 1H), 8,23 (m, 0,5H), 7,95 (m, 0,5H), 7,65 (m, 3H), 7,20 (m, 10H), 5,15 (d, 2H), 4,85 (m, 1H), 4,5 – 3,6 (m, 9H), 2,40 (m, 2H), 1,45 (s, 9H).

(ii) (R,S)-2-Chlór-5-aminofenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v príklade 23(ii) uvedenom vyššie z (R,S)-2-chlór-5-(Boc-amino)fenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab(Z) (170 mg, 0,26 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie), TFA (5,3 ml, 69 mmol) a tioanizolu (1,6 g, 13 mmol), pričom sa získalo 40 mg (32%) produktu uvedeného v názve.

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7,62 (m, 1H), 7,60 (d, 1H), 7,40 (m, 1H), 7,30 (m, 1H), 7,05 (t, 1H), 6,60 (m, 2H), 4,90 (m, 1H), 4,41 (s, 1H), 3,90 (m, 3H), 3,65 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 2,05 (m, 1H), 1,80 (s, 3H).

Príklad 33

(S)- a (R)-3-Metylfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) (R,S)-3-Metylfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Aze-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metylfenyl)propiónovej (0,18 g, 1 mmol, z príkladu Y uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C . Pridal sa H-Aze-Pab(Z) x 2 HCl (0,48 g, 1,1 mmol, z príkladu A uvedeného vyššie), TBTU (0,35 g, 1,1 mmol) a DIPEA (0,52 g, 4 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote počas 2 dní. DMF sa potom odparil a výsledný materiál sa rozpustil vo vodnom NaHCO_3 (300 ml) a pridala sa EtOAc (100 ml). Fázy sa oddelili a vodná fáza sa extrahovala s EtOAc (4 x 75 ml). Spojené fázy sa premyli vodným NaHCO_3 (1 x 75 ml), vysušili (Na_2SO_4) a odparili. Surový produkt (0,3 g) sa prečistil pomocou RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{NH}_4\text{OAc}$ (10%) (40:60)), čím sa získalo 118 mg (20%) produktu uvedeného v podnázve.

LC-MS m/z 528 ($M + 1$)⁺

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,25 (m, 1H), 7,77 (d, 1H), 7,40 (m, 8H), 7,12 (m, 4H), 5,25 (s, 2H), 4,93 (m, 1H), 4,50 (m, 2H), 4,10 (m, 2H), 3,70 (m, 2H), 3,60 (m, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,35 (s, 3H).

(ii) (S)- a (R)-3-Metylfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

Pd/C (5%, 0,13 g) sa pridalo k roztoku (R,S)-3-metylfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Aze-Pab(Z) (114 mg, 0,22 mmol, z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml) a HOAc (17 μl) a zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku a laboratórnej teplote počas 3 hodín. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo. Roztok sa odparil, pridala sa voda, zmes sa premyla s EtOAc a roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 48 mg surového produktu. Pomocou RPLC ($\text{CH}_3\text{CN}:\text{NH}_4\text{OAc}$ (10%) (20:80)), sa oddelili dva diastereoizoméry: zlúčenina 33A (rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizo-

mér, 17 mg) a zlúčenina 33B (pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér, 15 mg, čistota 99,1%).

Zlúčenina 33A

LC-MS m/z 395 ($M + 1$)⁺

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7,80 (d, 1H), 7,71 (d, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,35 (d, 1H), 7,24 (m, 2H), 7,17 (d, 1H), 5,17 (m, 0,5H), 4,80 (m, 0,5H), 4,60 (s, 2H), 4,2 – 3,6 (m, 5H), 2,60 (m, 1H), 2,36 (s, 2H), 2,30 (s, 2H), 2,22 (m, 1H), 1,93 (s, 3H).

¹³C NMR (75 MHz, D₂O) karbonylové a amidínové uhlíky: δ 175,7, 174,6 (rotaméry), 173,5, 173,0 (rotaméry)

Príklad 34

(S)- alebo (R)-2,5-Dimetylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

(i) (R) a (S)-2,5-Dimetylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(2,5-dimetylfenyl)propiónovej (0,27 g, 1,2 mmol, z príkladu Z uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Pro-Pab(Z) x 2 HCl (0,75 g, 1,65 mmol, pripraveného podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284), TBTU (0,53 g, 1,65 mmol) a DIPEA (0,78 g, 6 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote počas 2 dní. DMF sa potom odparil, pridal sa vodný roztok NaHCO₃ a vodný roztok sa extrahoval s EtOAc (3 x 30 ml). Spojené organické fázy sa premyli vodným NaHCO₃ (2 x 20 ml), vysušili (Na₂SO₄) a odparili, čím sa získalo 0,35 g (42%) surového produktu. Pomocou preparatívnej HPLC (CH₃CN:NH₄OAc (10%) (45:55 až 80:20)) sa oddelili dva diastereoizoméry: zlúčenina 34A (rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér, 136 mg, 32%, čistota 97,6%) a zlúčenina 34B (pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér, 197 mg, 47%, čistota 98,4%).

Zlúčenina 34B

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,83 (d, 2H), 7,45 (d, 2H), 7,40 (m, 1H), 7,35 (m, 4H), 7,08 (d, 1H), 6,99 (d, 1H), 5,22 (s, 2H), 4,63 (d, 1H), 4,49 (m, 2H), 4,04 (dd, 1H),

3,95 (dd, 1H), 3,61 (dd, 1H), 3,53 (dt, 1H), 2,92 (m, 1H), 2,34 (3H), 2,32 (m, 1H), 2,26 (s, 3H), 1,73 (m, 3H).

(ii) (S)- alebo (R)-2,5-Dimetylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

K roztoku (R) alebo (S)-2,5-dimetylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (61 mg, 0,11 mmol, zlúčenina 34B z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml) a HOAc (10 kvapiek) sa pridalo Pd/C (5%, 45 mg) a zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku a laboratórnej teplote počas 5 hodín. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo, roztok sa zahustil, pridala sa voda, a roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 45 mg (89%, čistota 97,8%) zlúčeniny uvedenej v názve vo forme bieleho prášku.

LC-MS m/z 423 (M + 1)⁺

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7,65 (d, 2H), 7,56 (d, 1H), 7,40 (d, 2H), 7,10 (m, 2H), 7,00 (m, 2H), 4,41 (s, 2H), 4,32 (dd, 1H), 4,11 (dd, 1H), 3,91 (m, 1H), 3,64 (m, 1H), 3,55 (m, 2H), 2,98 (m, 1H), 2,26 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 2,05 (m, 1H), 1,80 (m, 6H), 1,65 (m, 2H).

Príklad 35

(S)- alebo (R)-4-Hydroxy-3-metoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

(i) (R) a (S)-4-Benzoyloxy-3-metoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(4-benzoyloxy-3-metoxyfenyl)propiónovej (0,27 g, 1,2 mmol, z príkladu AA uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Pro-Pab(Z) x 2 HCl (0,66 g, 1,46 mmol, pripraveného podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284), TBTU (0,467 g, 1,45 mmol) a DIPEA (0,69 g, 5,29 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote počas 3 dní. DMF sa potom odparil, pridala sa vodný roztok NaHCO₃ a vodný roztok sa extrahoval s EtOAc (3 x 100 ml). Spojené organické fázy sa premyli vodným NaHCO₃ (1 x 20 ml), vodou a sol'ankou, vysušili sa (Na₂SO₄) a odparili, čím sa získalo 0,983 g (kvantitatívny výťažok) surového produktu. Pomocou preparatívnej HPLC (CH₃CN:NH₄OAc (10%) (50:50)) sa

oddelili dva diastereoizoméry: zlúčenina 35A (rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér, 136 mg, 32%, čistota 98,5%) a zlúčenina 35B (pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér, 163 mg, 47%, čistota 99,2%).

Zlúčenina 35B

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,77 (d, 2H), 7,42 (m, 4H), 7,34 (m, 9H), 6,81 (m, 2H), 6,70 (dd, 1H), 5,20 (s, 2H), 5,11 (s, 2H), 4,59 (m, 1H), 4,44 (m, 2H), 4,00 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,66 (m, 2H), 3,23 (m, 1H), 2,28 (m, 1H), 2,01 (m, 2H), 1,81 (m, 3H).

(ii) (S)- alebo (R)-4-Hydroxy-3-metoxymetyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

K roztoku (R) alebo (S)-4-benzyloxy-3-metoxymetyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (157 mg, 0,24 mmol, zlúčenina 35B z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml) a HCl (1M, 0,5 ml) sa pridalo Pd/C (10%) a zmes sa hydrogenovala pri atmosférickom tlaku a laboratórnej teplote počas 4,5 hodín. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo, roztok sa zahustil, pridala sa voda, a roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 104 mg (90,9%, čistota 97,4%) zlúčeniny uvedenej v názve vo forme bieleho prášku.

LC-MS m/z 441 ($M + 1$)⁺

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ 7,70 (d, 2H), 7,57 (d, 2H), 6,90 (s, 1H), 6,75 (s, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,44 (dd, 1H), 4,07 (m, 1H), 3,95 (dd, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,67 (dd, 2H), 3,40 (m, 1H), 3,30 (m, 1H), 2,11 (m, 1H), 1,97 (m, 1H), 1,82 (m, 1H).

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) karbonylové a amidínové uhlíky: δ 174,8, 173,9 173,1, 166,3 (rotaméry).

Príklad 36

(S)- alebo (R)-3,5-Dichlórfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

(i) (R) a (S)-3,5-Dichlórfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3,5-dichlórfenyl)propiónovej (0,35 g, 1,5 mmol, z príkladu AB uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal

sa H-Pro-Pab(Z) x 2 HCl (0,75 g, 1,65 mmol, pripraveného podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284), TBTU (0,53 g, 1,65 mmol) a DIPEA (0,78 g, 6 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote cez noc. DMF sa odparil, pridala sa voda a vodný roztok sa extrahoval s EtOAc (3 x 30 ml). Spojené organické fázy sa premyli vodným NaHCO₃ (2 x 20 ml), vodou, vysušili sa (Na₂SO₄) a odparili, čím sa získalo 0,32 g (36%) surového produktu. Okamžitou chromatografiou na silikagéle (110 g) s použitím gradientu od 100% EtOAc do EtOAc:EtOH (100:5) sa oddelili diastereoizoméry: zlúčenina 36A (rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér, 153 mg, 34%, čistota 89,2%) a zlúčenina 36B (pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér, 166 mg, 37%, čistota 85,2%).

Zlúčenina 36B

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,73 (d, 2H), 7,43 (d, 2H), 7,34 (m, 2H), 7,26 (m, 2H), 7,19 (d, 2H), 5,20 (s, 2H), 4,56 (dd, 1H), 4,40 (m, 2H), 3,91 (m, 2H), 3,72 (m, 2H), 3,60 (b, 1H), 3,27 (q, 1H), 2,22 (m, 1H), 2,03 (m, 1H), 1,94 (m, 1H), 1,89 (m, 1H), 1,75 (b, 1H).

(ii) (S)- alebo (R)-3,5-Dichlórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v príklade 23(ii) z (R) alebo (S)-3,5-dichlórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (130 mg, 0,22 mmol, zlúčenina 36B z kroku (i) uvedeného vyššie), anizolu (35 mg, 0,33 mmol) a kyseliny trifluórmetsulfónovej (0,16 g, 1,1 mmol), čím sa získalo 15 mg (13%) zlúčeniny uvedenej v názve.

LC-MS m/z 463, 465 (M + 1)⁺

¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 7,64 (d, 2H), 7,56 (d, 1H), 7,38 (t, 1H), 7,34 (t, 1H), 7,21 (d, 2H), 7,07 (s, 1H), 4,39 (d, 1H), 4,30 (dd, 1H), 4,00 (m, 3H), 3,68 (m, 2H), 3,50 (m, 1H), 3,26 (m, 1H), 2,10 (m, 1H), 2,08 (m, 1H), 1,81 (m, 3H), 1,73 (m, 1H).

Príklad 37

(S)- alebo (R)-2,3-Dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

(i) (R) a (S)-2,3-Dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(2,3-dimetoxyfenyl)propiónovej (0,21 g, 0,93 mmol, z príkladu AC uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Pro-Pab(Z) x 2 HCl (0,46 g, 1,02 mmol, pripraveného podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284), TBTU (0,32 g, 1,0 mmol) a DIPEA (0,48 g, 3,7 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote cez noc. DMF sa odparil, pridal sa vodný roztok NaHCO₃ a vodný roztok sa extrahoval s EtOAc (4 x 50 ml). Spojené organické fázy sa premyli vodným NaHCO₃ (2 x 20 ml), vodou, vysušili sa (Na₂SO₄) a odparili, čím sa získalo 0,34 g (62%) surového produktu. Preparatívnu HPLC (CH₃CN:NH₄OAc (10%) (40:60)) sa oddelili diastereoizoméry: zlúčenina 37A (rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér, 70 mg, 24%) a zlúčenina 37B (pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér, 57 mg, 21%).

Zlúčenina 37B

LC-MS m/z 590 (M + 1)⁺

(ii) (S)- alebo (R)-2,3-Dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

K roztoku (R) alebo (S)-2,3-dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (57 mg, 0,097 mmol, zlúčenina 37B z kroku (i) uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml) a HOAc (15 mg) sa pridalo Pd/C (5%, 44 mg) a zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku a laboratórnej teplote počas 4,5 hodín. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo, roztok sa zahustil, pridala sa voda, a roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 44 mg (88%, čistota 97,2%) zlúčeniny uvedenej v názve vo forme bieleho prášku.

LC-MS m/z 455 (M + 1)⁺

¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ 7,78 (d, 2H), 7,50 (d, 2H), 7,20 (m, 2H), 6,90 (d, 1H), 4,50 (s, 2H), 4,40 (m, 4H), 4,08 (m, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,87 (s, 3H), 3,80 (m, 6H), 3,32 (m, 1H), 2,18 (m, 1H), 1,92 (m, 3H).

Príklad 38

(S)- alebo (R)-3-Metoxy-5-chlórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

(i) (R) a (S)-3-Metoxy-5-chlórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(3-metoxy-5-chlórfenyl)propiónovej (0,112 g, 0,49 mmol, z príkladu AD uvedeného vyššie) v DMF (4 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Pro-Pab(Z) x 2 HCl (0,242 g, 0,53 mmol, pripraveného podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284), TBTU (0,171g, 0,53 mmol) a DIPEA (0,33 g, 2,12 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote počas 5 dní. DMF sa odparil, pridala sa voda, pH roztoku sa nastavilo na hodnotu 9 (vodným roztokom NaHCO₃) a vodný roztok sa extrahoval s EtOAc (3 x 30 ml). Spojené organické fázy sa premyli vodným NaHCO₃ (2 x 20 ml), vodou a sol'ankou, vysušili sa (Na₂SO₄) a odparili, čím sa získalo 0,242 g (83%) surového produktu. Pomocou preparatívnej HPLC (CH₃CN: 10% NH₄OAc (45:55)) sa oddelili diastereoizoméry: zlúčenina 38A (rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér, 50 mg, 33%) a zlúčenina 38B (pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér, 44,8 mg, 31%).

Zlúčenina 38B

LC-MS m/z 592, 594 (M + 1)⁺

(ii) (S)- alebo (R)-3-Metoxy-5-chlórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HCl

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v príklade 23(ii) z (R) alebo (S)-3-metoxy-5-chlórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (zlúčenina 38B z kroku (i) uvedeného vyššie, 44mg, 0,074 mmol), TFA (1,53ml, 20 mmol) a tioanizolu (0,44 ml, 3,7mmol), čím sa získalo 18 mg (49%) zlúčeniny uvedenej v názve, s čistotou 93,5%.

¹H NMR (500 MHz, CD₂OD) δ 9,24 (b, 1H), 8,73 (b, 1H), 7,77 (d, 2H), 7,57 (d, 2H), 6,96 (t, 1H), 6,86 (m, 2H), 4,51 (s, 2H), 4,45 (dd, 1H), 4,04 (m, 2H), 3,86 (m, 1H), 3,71 (m, 1H), 3,40 (m, 1H), 2,15 (m, 1H), 1,99 (m, 2H), 1,87 (m, 1H).

Príklad 39

(S)- alebo (R)-2-Metyl-5-metoxifyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

(i) (R) a (S)-2-Metyl-5-metoxifyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(2-metyl-5-metoxifyfenyl)propiónovej (0,168 g, 0,8 mmol, z príkladu AE uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Pro-Pab(Z) x 2 HCl (0,399 g, 0,88 mmol, pripraveného podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284), TBTU (0,283g, 0,88 mmol) a DIPEA (0,414 g, 3,2 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote počas 3 dní. DMF sa odparil, pridala sa voda a vodný roztok sa extrahoval s EtOAc (3 x 30 ml). Spojené organické fázy sa vysušili (Na₂SO₄) a odparili. Pomocou preparatívnej HPLC (CH₃CN: 10% NH₄OAc (40:60)) sa oddelili diastereoizoméry: zlúčenina 39A (rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér, 147 mg, 64%, čistota 92,8%) a zlúčenina 39B (pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér, 147 mg, 64%, čistota 99,1%).

Zlúčenina 39B

LC-MS m/z 573 (M + 1)⁺

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,76 (d, 2H), 7,50 (t, 1H), 7,42 (d, 2H), 7,33 (t, 1H), 7,27 (m, 3H), 7,08 (d, 1H), 6,71 (m, 2H), 5,19 (s, 1H), 4,58 (d, 1H), 4,40 (m, 2H), 4,03 (dd, 1H), 3,97 (t, 1H), 3,58 (m, 2H), 2,95 (q, 2H), 2,28 (s, 2H), 2,22 (m, 1H), 1,99 (m, 1H), 1,78 (m, 2H).

(ii) (S)- alebo (R)-2-Metyl-5-metoxifyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

K roztoku zlúčeniny 39B (131 mg, 0,23 mmol) v EtOH (10 ml) a HOAc (13 ml) sa pridalo Pd/C (5%, 70 mg) a zmes sa hydrogenovala pri atmosferickom tlaku a laboratórnej teplote počas 3 hodín. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo, roztok sa zahustil, pridala sa voda, a roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 96 mg (84%, čistota 95,9%) zlúčeniny uvedenej v názve.

¹H NMR (400 MHz, D₂O) δ 7,78 (d, 2H), 7,54 (d, 2H), 6,86 (m, 2H), 6,75 (d, 1H), 4,72 (d, 1H), 4,54 (s, 1H), 4,46 (dd, 2H), 4,25 (m), 4,05 (t, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,70

(dd, 1H), 3,64 (m, 1H), 3,10 (m, 1H), 2,36 (s, 2H), 2,15 (m, 1H), 1,95 (m, 4H), 1,76 (m, 1H).

^{13}C NMR (100 MHz, D_2O) karbonylové a amidínové uhlíky 176,0, 174,3, 167,6.

LC-MS m/z 439 ($M + 1$)⁺

Príklad 40

(R,S)-Ph-C(Me)(CH₂OMe)-C(O)-Pro-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-2-metyl-2-fenylpropiónovej (0,40 g, 2,1 mmol, z príkladu AF uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Pro-Pab(Z) x 2 HCl (0,93 g, 2,1 mmol, pripraveného podľa spôsobu opísaného v medzinárodnej patentovej prihláške WO 97/02284), TBTU (0,64 g, 2,1 mmol) a DIPEA (0,90 g, 7 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote počas 2 dní. DMF sa odparil, pridali sa vodný roztok NaHCO_3 a vodný roztok sa extrahoval s EtOAc (3 x 30 ml). Spojené organické fázy sa premyli vodným NaHCO_3 (2 x 20 ml), vodou a soľankou, vysušili sa (Na_2SO_4) a odparili, čím sa získal surový produkt, ktorý sa ďalej čistil pomocou okamžitej chromatografie na silikagéle eluovaním s CH_2Cl_2 :THF:MeOH (90:10:2), pričom sa získalo 0,50 g (44% po troch krokoch).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,83 (m, 2H), 7,41 (d, 2H), 7,30 (m, 9H), 7,11 (d, 1H), 5,21 (s, 2H), 4,77 (m, 1H), 4,70 (m, 1H), 4,53 (m, 1H), 4,43 (m, 1H), 4,12 (d, 1H), 3,90 (d, 1H), 3,62 (t, 1H), 3,23 (s, 3H), 2,90 (m, 2H), 2,18 (m, 1H), 2,03 (m, 1H), 1,8 – 1,4 (m, 9H).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) karbonylové a amidínové uhlíky: δ 174,6, 173,1, 172,2, 172,0, 167,9, 164,4 (diastereoizoméry a/alebo rotaméry).

Príklad 41

(R,S)-Ph-C(Me)(CH₂OMe)-C(O)-Pro-Pab x HCl

Pd/C (10%, 20 mg) sa pridalo k roztoku (R,S)-Ph-C(Me)(CH₂OMe)-C(O)-Pro-Pab(Z) (190 mg, 0,34 mmol, z príkladu 40 uvedeného vyššie) v EtOH (10 ml) a

vodnej HCl (konc., 10 kvapiek) a zmes sa hydrogenovala počas 2 hodín pri laboratórnej teplote a atmosferickom tlaku. Výsledná zmes sa prefiltrovala cez Hyflo, roztok sa zahustil, pridala sa voda a roztok sa vysušil vymrazením, čím sa získalo 160 mg (100%, čistota 77%) zlúčeniny uvedenej v názve.

LC-MS m/z 423 ($M + 1$)⁺

¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 7,80 (m, 2H), 7,55 (m, 2H), 7,35 (m, 5H), 4,50 (m, 3H), 3,88 (d, 0,5H), 3,78 (m, 1H), 3,76 (d, 0,5H), 3,21 (d, 3H), 3,15 (m, 1H), 2,78 (m, 1H), 2,18 (m, 1H), 1,70 (m, 3H), 1,63 (d, 3H).

¹³C NMR (100 MHz, D₂O) karbonylové a amidínové uhlíky: δ 176,4, 176,3, 176,1, 175,9, 167,2, 167,1 (diastereoizoméry a/alebo rotaméry).

Príklad 42

(S)- alebo (R)-2-Chlór-3-metylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) (R) a (S)-2-Chlór-3-metylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab(Z)

Roztok kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(2-chlór-3-metylfenyl)propiónovej (0,3 g, 1,4 mmol, z príkladu AG uvedeného vyššie) v DMF (10 ml) sa ochladil na teplotu 0°C. Pridal sa H-Aze-Pab(Z) x 2 HCl (0,739 g, 1,68 mmol, z príkladu A uvedeného vyššie), TBTU (0,495g, 1,54 mmol) a DIPEA (0,94 g, 5,6 mmol) vo vyššie uvedenom poradí a roztok sa miešal pri laboratórnej teplote počas 5 dní. Reakčná zmes sa zahustila, rozpustila vo vode (400 ml) a potom sa hodnota pH nastavila na 9 s vodným NaHCO₃. Výsledná zmes sa extrahovala s EtOAc (3 x 100 ml). Spojené organické fázy sa premyli vodným NaHCO₃, vodou a soľankou, vysušili sa (Na₂SO₄) a zahustili. Surový produkt (0,636 g) sa prečistil pomocou RPLC (CH₃CN: 10% NH₄OAc (40:60)), pričom sa oddelili diastereoizoméry: zlúčenina 42A (rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér, 127 mg, 32%, čistota 95%) a zlúčenina 42B (pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér, 131 mg, 33%, čistota 85%).

Zlúčenina 42B

LC-MS m/z 563, 564 ($M + 1$)⁺

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,23 (t, 1H), 7,80 (d, 2H), 7,44 (d, 2H), 7,33 (m, 4H), 7,18 (m, 3H), 5,21 (s, 2H), 4,86 (dd, 1H), 4,50 (m, 2H), 4,28 (dd, 1H), 4,13 (m, 1H), 3,96 (dd, 1H), 3,75 (dd, 1H), 3,62 (q, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,41 (s, 3H), 2,31 (m, 1H).

(ii) (R)- alebo (S)-2-Chlór-3-metylfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

Pripravil sa podľa spôsobu opísaného v príklade 23(ii) uvedenom vyššie, z (R)- alebo (S)-2-chlór-3-metylfenyl-CH(CH_2OH)-C(O)-Aze-Pab(Z) (zlúčenina 42B z kroku (i) uvedeného vyššie, 129 mg, 0,23 mmol), TFA (4,7 ml, 62 mmol) a tioanizolu (1,35 ml, 11,5 mmol), čím sa získalo 45 mg (40,2% zlúčeniny uvedenej v názve (čistota 90,4%).

LC-MS m/z 429, 431 ($M + 1$)⁺

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,77 (d, 2H), 7,55 (d, 2H), 7,26 (m, 2H), 7,19 (d, 1H), 4,75 (dd, 1H), 4,55 (s, 2H), 4,34 (m, 2H), 4,04 (dd, 1H), 3,88 (m, 1H), 3,70 (dd, 1H), 2,48 (m, 1H), 2,40 (s, 3H), 2,27 (m, 1H), 1,89 (s, 3H).

^{13}C NMR (100 MHz, CD_2OD) δ karbonylové a amidínové uhlíky 174,0, 172,9, 167,9.

Príklad 43

(S)- alebo (R)-2,3-(Metylendioxyfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab x HOAc

Zlúčenina uvedená v názve sa pripravila podľa spôsobu opísaného v príklade 29 uvedenom vyššie, z kyseliny (R,S)-3-hydroxy-2-(2,3-metylendioxyfenyl)propiónovej (0,26 g) a cez (2,3-metylendioxyfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z), ktorý sa rozdelil na dva diastereoizoméry: zlúčenina 43A (rýchlejšie sa pohybujúci diastereoizomér, 0,27 g, 40%) a zlúčenina 43B (pomalšie sa pohybujúci diastereoizomér, 0,18g, 26%). Deprotekciou (R)- alebo (S)-2,3-(metylendioxyfenyl)-CH(CH_2OH)-C(O)-Pro-Pab(Z) (zlúčenina 43B 130 mg, 81 mg (72%) sa pripravila zlúčenina uvedená v názve.

LC-MS m/z 439 ($M + 1$)⁺

Príklad 44

Zlúčeniny z príkladov 1 až 7, 11, 12, 16 až 39, 41, 42 a 43 (ktoré všetky sú zlúčeninami vzorca I) sa testovali v teste A uvedenom vyššie a pri všetkých sa zistilo, že vykazujú hodnotu $IC_{50}TT$ menej ako $0,3 \mu M$.

Príklad 45

Zlúčeniny z príkladov 8, 9, 10, 13, 14, 15 a 40 (ktoré všetky sú zlúčeninami vzorca Ia) sa testovali v teste A uvedenom vyššie a pri všetkých sa zistilo, že vykazujú hodnotu $IC_{50}TT$ viac ako $1 \mu M$.

Príklad 45

Zlúčeniny z príkladov 8, 9, 10, 13, 14, 15 a 40 (ktoré všetky sú zlúčeninami vzorca Ia) sa testovali v teste C uvedenom vyššie a pri všetkých sa zistilo, že vykazujú orálnu a/alebo parenterálnu biologickú dostupnosť u potkanov ako zodpovedajúci aktívny inhibítor vzorca I.

Skratky

AIBN =	azobisisobutyronitril
Aq =	vodný
Aze =	kyselina azetidín-2-karboxylová
Boc =	terc.butyloxykarbonyl
Bn =	benzyl
Bu =	butyl
Ch =	cyklohexyl
DBU =	1,8-diazabicyklo[5,4,0]undec-7-én
DCC =	dicyklohexylkarbodiimid

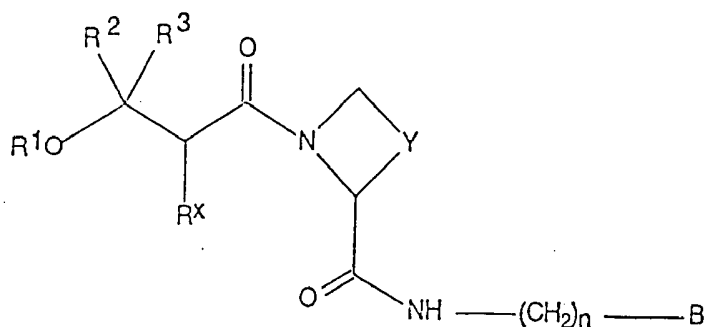
DIPEA =	diizopropyletylamín
DMAP =	N,N-dimetylamínopyridín
DMF =	dimetyformamid
DMSO =	dimetylsulfoxid
EDC =	1-(3-dimetylamínopropyl)-3-etylkarbodiimid.hydrochlorid
Et =	etyl
EtOH =	etanol
HBTU =	[N,N,N',N'-tetrametyl-O-(benzotriazol-1-yl)uróniumhexafluórfosfát]
HCl =	kyselina chlorovodíková
H-Hig =	1-amidino-3-aminoetylpyrolidín
H-Hig(Z) =	3-aminoetyl-1-(N-benzyloxykarbonylamidino)pyrolidín
HOAc =	kyselina octová
H-Pab =	1-amidino-4-aminometylbenzén
H-Pab(Z) =	4-aminometyl-1-(N-benzyloxykarbonylamidino)benzén
H-Pig =	1-amidino-3-aminometylpiperidín
H-Pig(Z) =	3-aminometyl-1-(N-benzyloxykarbonylamidino)piperidín
HPLC =	vysokoúčinná kvapalinová chromatografia
Me =	metyl
MeOH =	metanol
MsCl =	metansulfonylchlorid
NBS =	N-brómsukcínimid

Ph =	fenyl
Pr =	propyl
i-PrOH =	izopropanol
RPLC =	preparatívna vysokoúčinná kvapalinová chromatografia s reverznou fázou
TBDMS =	terc.butyldimetylsilyl
TBTU =	[N,N,N',N'-tetrametyl-O-(benzotriazol-1-yl)uróniumtetrafluórborát]
TEA =	trietyamín
THF =	tetrahydrofurán
THP =	tetrahydropyranyl
TMS =	trimetylsilyl
p-TsOH =	kyselina p-toluénsulfónová
WSCl =	karbodiimid rozpustný vo vode
Z =	benzyloxykarbonyl

Predpony n, s, i a t majú svoj zvyčajný význam: normálny, izo, sekundárny a terciárny. Stereochemia pre aminokyseliny je (S), ak nie je uvedené inak.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Zlúčeniny všeobecného vzorca I



v ktorom

R^1 predstavuje H, $C(O)R^{11}$, $SiR^{12}R^{13}R^{14}$ alebo C_{1-6} alkyl, pričom posledne uvedená skupina môže byť substituovaná alebo zakončená jedným alebo viacerými substituentami vybranými zo OR^{15} alebo $(CH_2)_qR^{16}$,

R^{12} , R^{13} a R^{14} nezávisle od seba predstavujú H, fenyl alebo C_{1-6} alkyl,

R^{16} predstavuje C_{1-4} alkyl fenyl, OH, $C(O)OR^{17}$ alebo $C(O)N(H)R^{18}$,

R^{18} znamená H, C_{1-4} alkyl alebo $CH_2C(O)OR^{19}$,

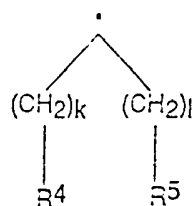
R^{15} a R^{17} nezávisle od seba znamenajú H, C_{1-6} alkyl alebo C_{7-9} alkylfenyl,

R^{11} a R^{19} nezávisle od seba predstavujú H alebo C_{1-4} alkyl a

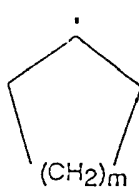
q znamená 0, 1 alebo 2,

R^2 a R^3 nezávisle od seba znamenajú H, C_{1-4} alkyl, cyklohexyl alebo fenyl,

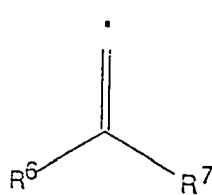
R^X predstavuje štruktúrny fragment vzorca IIa, IIb alebo IIc



IIa



IIb



IIc

v ktorom

k , l a m nezávisle od seba znamenajú 0, 1, 2, 3 alebo 4

R^4 a R^5 nezávisle od seba predstavujú H, $\text{Si}(\text{Me})_3$, 1- alebo 2-naftyl, polycyklickú uhľovodíkovú skupinu, $\text{CHR}^{41}\text{R}^{42}$ alebo $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$ (pričom posledne menovaná skupina je prípadne substituovaná jedným alebo viacerými atómami fluóru) alebo $\text{C}_{3-8}\text{cykloalkyl}$, fenyl, metyléndioxyfenyl, benzodioxanyl, benzofuranyl, dihydrobenzofuranyl, benzotiazolyl, benzoxazolyl, benzimidazolyl, kumaranonyl, kumarinyl alebo dihydrokumarinyl (pričom posledných dvanásť skupín je prípadne substituovaných jedným alebo viacerými zvyškami vybranými zo skupiny ako je $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$, (ktorý môže byť prípadne substituovaný jedným alebo viacerými substituentami zvolenými z halogénu), $\text{C}_{1-4}\text{alkoxy}$, halogén, hydroxyskupina, kyanoskupina, nitroskupina, SO_2NH_2 , $\text{C}(\text{O})\text{OH}$ alebo $\text{N}(\text{H})\text{R}^{43}$),

R^{41} a R^{42} nezávisle od seba predstavujú cyklohexyl alebo fenyl,

R^6 a R^7 nezávisle od seba predstavujú H, $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$, $\text{C}_{3-8}\text{cykloalkyl}$, fenyl (pričom posledne uvedená skupina je prípadne substituovaná jedným alebo viacerými zvyškami vybranými zo skupiny ako je $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$, (ktorý môže byť prípadne substituovaný jedným alebo viacerými substituentami zvolenými z halogénu), $\text{C}_{1-4}\text{alkoxy}$, halogén, hydroxyskupina, kyanoskupina, nitroskupina, SO_2NH_2 , $\text{C}(\text{O})\text{OH}$ alebo $\text{N}(\text{H})\text{R}^{44}$), alebo spolu s atómom uhlíka na ktorý sú viazané tvoria $\text{C}_{3-8}\text{cykloalkylový}$ kruh,

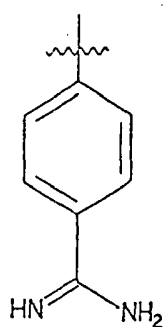
R^{43} a R^{44} , predstavujú nezávisle od seba H alebo $\text{C}(\text{O})\text{R}^{45}$, a

R^{45} znamená H, $\text{C}_{1-4}\text{alkyl}$ alebo $\text{C}_{1-4}\text{alkoxy}$,

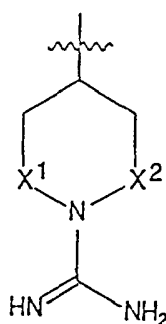
Y predstavuje CH_2 , $(\text{CH}_2)_2$, $\text{CH}=\text{CH}$, $(\text{CH}_2)_3$, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}$ alebo $\text{CH}=\text{CHCH}_2$, pričom posledne tri menované skupiny sú prípadne substituované skupinou C_{1-4} alkyl, metylén, oxo alebo hydroxy,

n znamená 0, 1, 2, 3 alebo 4 a

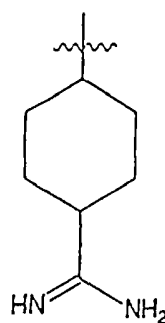
B predstavuje štruktúrny fragment vzorca IVa, IVb alebo IVc



IVa



IVb



IVc

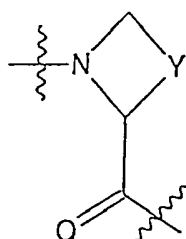
v ktorom

X^1 a X^2 nezávisle od seba predstavujú jednoduchú väzbu alebo CH_2 ,

alebo ich farmaceuticky prijateľné soli.

2. Zlúčenina vzorca I, podľa nároku 1, kde ak n predstavuje 2 a B znamená štruktúrny fragment vzorca IVb, X^1 a X^2 obidva nepredstavujú CH_2 .
3. Zlúčenina vzorca I podľa nároku 1 alebo 2, kde R^1 znamená prípadne substituovaný C_{1-6} alkyl alebo atóm vodíka.
4. Zlúčenina vzorca I podľa nároku 3, kde R^1 znamená atóm vodíka.
5. Zlúčenina vzorca I podľa ktoréhokoľvek z predchádzajúcich nárokov, kde R^x znamená štruktúrny fragment vzorca IIa.
6. Zlúčenina vzorca I podľa ktoréhokoľvek z predchádzajúcich nárokov, kde Y znamená CH_2 alebo $(\text{CH}_2)_2$.

7. Zlúčenina vzorca I podľa nároku 1 alebo podľa ktoréhokoľvek z nárokov 3 až 6, kde n znamená 1.
8. Zlúčenina vzorca I podľa nároku 1 alebo ktoréhokoľvek z nárokov 3 až 7, kde B predstavuje štruktúrny fragment vzorca IVa.
9. Zlúčenina vzorca I podľa ktoréhokoľvek z predchádzajúcich nárokov, kde fragment



je v S konfigurácii.

10. Zlúčenina vzorca I podľa nároku 1, ktorou je
- (R)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 - (S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 - (R)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 - (S)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 - (R,S)-3,4-dimetoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 - (R)-2-naftyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 - (S)-2-naftyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 - (R)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pig,
 - (S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pig,
 - (R,S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Pro-(R,S)-Hig,
 - (R)-2,5-dimetoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 - (S)-2,5-dimetoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 - (S)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 - (R)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 - (R,S)-3-aminofenylyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,

(R)-3-(metylamino)fenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-3-(metylamino)fenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-PhCH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R,S)-3,5-dimetylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 (S)-3-(trifluórmetyl)fenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R)-3-(trifluórmetyl)fenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R,S)-3-hydroxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R)-(3-chlór-5-metylfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-(3-chlór-5-metylfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-3-fluórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R)-3-fluórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-3-chlórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R)-3-chlórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R,S)-3,5-dimetylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-3,5-bis(trifluórmetyl)fenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R)-3,5-bis-(trifluórmetyl)fenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R,S)-3-metoxi-5-metylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R,S)-(2,5-dimetoxifenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R,S)-(3,5-dimetoxifenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R,S)-3,4-(metylendioxyfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-3-(2-naftyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R)-3-(2-naftyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R,S)-3,5-dimetoxifenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 (R,S)-2-chlór-5-aminofenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 (R)-3-metylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 (S)-3-metylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 (R)-2,5-dimetylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-2,5-dimetylfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R)-3-metoxi-4-hydroxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-3-metoxi-4-hydroxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R)-3,5-dichlórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-3,5-dichlórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,

(R)-2,3-dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-2,3-dimetoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R)-3-metoxy-5-chlórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-3-metoxy-5-chlórfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R)-2-metyl-5-metoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-2-metyl-5-metoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R,S)-Ph-C(Me)-CH(CH₂OMe)-C(O)-Pro-Pab,
 (R)-2-chlór-3-metoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 (S)-2-chlór-3-metoxyfenyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab,
 (R)-2,3-(metylendioxyfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (S)-2,3-(metylendioxyfenyl)-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab,
 (R,S)-Ph-C(Me)-CH(CH₂OMe)-C(O)-Aze-Pab

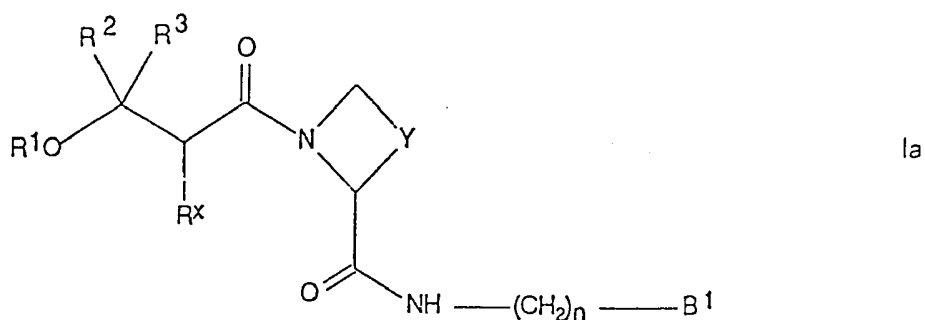
alebo ich farmaceuticky prijateľné soli.

11. Zlúčenina vzorca I podľa nároku 1, kde ak R^x predstavuje štruktúrny fragment vzorca IIa, potom R⁴ a/alebo R⁵ (podľa potreby) nepredstavuje/nepredstavujú fenyl substituovaný halogén substituovaným C₁₋₆ alkylom.
12. Zlúčenina vzorca I podľa nároku 1, kde ak R^x znamená štruktúrny fragment vzorca IIa, potom R⁴ a/alebo R⁵ (podľa potreby) nepredstavuje/nepredstavujú metyléndioxyfenyl, benzodioxanyl, benzofuranyl, dihydrobenzofuranyl, benzotiazolyl, benzoxazolyl, benzimidazolyl, kumaranoyl, kumarinyl alebo dihydrokumarinyl.
13. Zlúčenina vzorca I podľa nároku 1, kde ak R^x znamená štruktúrny fragment vzorca IIc, potom R⁶ a/alebo R⁷ (podľa potreby) predstavuje/predstavujú nesubstituovaný fenyl.
14. Zlúčenina vzorca I podľa nároku 1, kde ak R^x znamená štruktúrny fragment vzorca IIa, potom R⁴ a/alebo R⁵ (podľa potreby) predstavuje/predstavujú fenyl substituovaný halogén substituovaným C₁₋₆ alkylom.
15. Zlúčenina vzorca I podľa nároku 1, kde ak R^x znamená štruktúrny fragment vzorca IIa, potom R⁴ a/alebo R⁵ (podľa potreby) predstavuje/predstavujú mety-

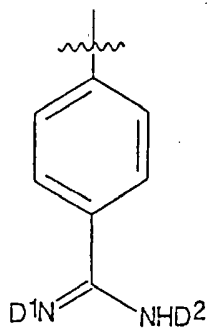
lëndioxyfenyl, benzodioxanyl, benzofuranyl, dihydrobenzofuranyl, benzotiazolyl, benzoxazolyl, benzimidazolyl, kumaranonyl, kumarinyl alebo dihydrokumarinyl.

16. Zlúčenina vzorca I podľa nároku 1, kde ak R^x znamená štruktúrny fragment vzorca IIc, potom R^6 a/alebo R^7 (podľa potreby) predstavuje/predstavujú substituovaný fenyl.

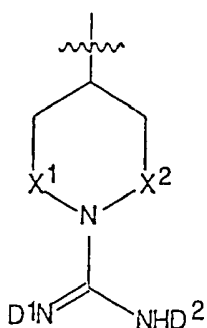
17. Zlúčeniny vzorca Ia



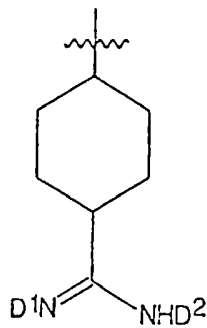
v ktorom B^1 predstavuje štruktúrny fragment vzorca IVd, IVe alebo IVf



IVd



IVe

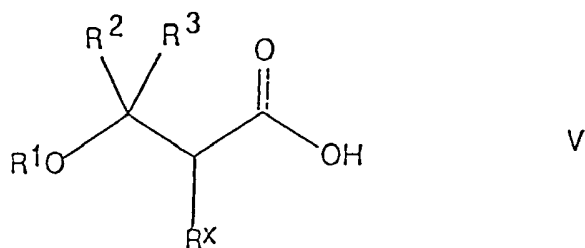


IVf

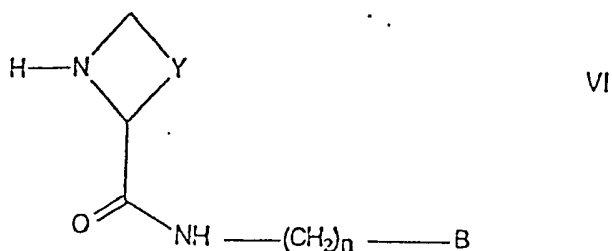
kde D^1 a D^2 nezávisle od seba predstavujú H, OH, OR^a , $OC(O)R^b$, $OC(O)OR^c$, $C(O)OR^d$, $C(O)R^e$, a $(O)R^b$, a R^a , R^b , R^c , R^d a R^e , nezávisle od seba znamenajú fenyl, benzyl, $(CH_2)_2OC(O)CH_3$ alebo C_{1-6} alkyl, pričom naposledy menovaná skupina je prípadne prerušená kyslíkom, a R^1 , R^2 , R^3 , R^x , Y, n a X^1 a X^2 sú definované v nároku 1, alebo ich farmaceuticky prijateľné soli, za predpokladu, že D^1 a D^2 obidva neznamenujú atóm vodíka.

18. Zlúčenina vzorca I podľa nároku 17, kde D^1 predstavuje atóm vodíka a D^2 znamená OH, OCH_3 , $OC(O)R^b$, alebo $C(O)OR^d$ a R^b a R^d sú definované v nároku 17.
19. Zlúčenina podľa nároku 17, ktorou je
- (R,S)-Ph-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab-OH,
 (R)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab-OH,
 (S)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Aze-Pab-OH,
 (S)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab-(Z),
 (R)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab-(Z),
 (S)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab-OH,
 (R)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab-OH,
 (S)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab-OC(O)Et,
 (R)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab-OC(O)Et,
 (S)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab-OC(O)CH₃,
 (R)-3-metoxifynyl-CH(CH₂OH)-C(O)-Pro-Pab-OC(O)CH₃,
 (R,S)-3-Ph-C(Me)(CH₂OMe)-C(O)-Pro-Pab-(Z) alebo
 (R,S)-3-metylfenyl-CH(CH₂OAc)-C(O)-Pro-Pab-OMe,
 alebo ich farmaceuticky prijateľné soli.
20. Farmaceutická formulácia, vyznačujúca sa tým, že zahŕňa zlúčeninu podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 19 alebo jej farmaceuticky prijateľnú soľ, v zmesi s farmaceuticky prijateľnou pomocnou látkou, riedidlom alebo nosičom.
21. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 19 alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ na použitie ako farmaceutický prostriedok.
22. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 19 alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ na použitie pri liečbe stavov, pri ktorých sa požaduje inhibícia trombínu.
23. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 19 alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ na použitie pri liečbe trombózy.

24. Zlúčenina podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 19 alebo jej farmaceuticky prijateľná soľ na použitie ako antikoagulačný prostriedok.
25. Použitie zlúčeniny I podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 19 alebo jej farmaceuticky prijateľnej soli na použitie ako účinnej zložky pri výrobe liečiva na liečenie stavov, pri ktorých sa požaduje inhibícia trombínu.
26. Použitie podľa nároku 25, pri ktorom stavom jej trombóza.
27. Použitie zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 19 alebo jej farmaceuticky prijateľnej soli, ako účinnej zložky pri výrobe antikoagulačného prostriedku.
28. Použitie zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 17, 18 alebo 19 ako prekursora.
29. Spôsob prípravy zlúčeniny vzorca I, vyznačujúci sa tým, že zahrňuje
- (a) kondenzáciu zlúčeniny vzorca V,

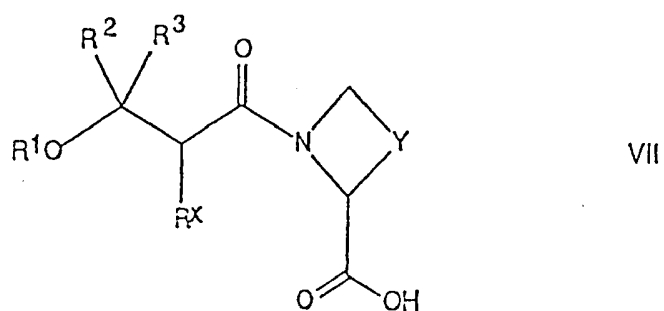


kde R^1 , R^2 , R^3 a R^x sú definované v nároku 1, so zlúčeninou vzorca VI,

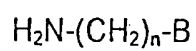


kde Y, n a B sú definované v nároku 1, alebo

(b) kondenzáciu zlúčeniny vzorca VII,



kde R^1 , R^2 , R^3 , R^x a Y sú definované v nároku 1, so zlúčeninou vzorca VIII,



kde n a B sú definované v nároku 1.