

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **02.07.2001**
(32) Datum podání prioritní přihlášky: **06.07.2000 22.01.2001**
(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/0016684 2001/0101584**
(33) Země priority: **GB GB**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu:
(Věstník č: 3/2004)
(86) PCT číslo: **PCT/IB2001/001205**
(87) PCT číslo zveřejnění: **WO 2002/002513**

(21) Číslo dokumentu:

2002-4167

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁷ :
C 07 C 237/22 C 07 D 207/14
C 07 C 233/58 C 07 D 213/71
C 07 C 233/58 C 07 D 213/75
C 07 C 233/60 A 61 P 15/00
C 07 C 275/52
C 07 C 237/24
C 07 D 317/58
C 07 D 207/27

(71) Přihlašovatel:

PFIZER INC., New York, NY, US

(72) Původce:

Barber Christopher Gordon, Sandwich, GB
Cook Andrew Simon, Sandwich, GB
Maw Graham Nigel, Sandwich, GB
Pryde David Cameron, Sandwich, GB
Stobie Alan, Sandwich, GB

(74) Zástupce:

Matějka Jan JUDr., Národní 32, Praha, 11000

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Deriváty glutaramidu substituované
cyklopentylskupinou jako inhibitory neutrální
endopepsidasy**

(57) Anotace:

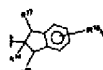
Sloučeniny obecného vzorce I, kde R¹ představuje popřípadě substituovanou C₁₋₆alkylskupinu, popřípadě substituovanou C₃₋₇cykloalkylskupinu, popřípadě substituovanou arylskupinu nebo popřípadě substituovaný heterocyklyl; a Y představuje skupinu -NR¹⁸S(O)_n, R¹⁹ nebo skupinu vzorce a, b nebo c.



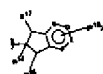
(a)



(b)



(c)



(d)

Deriváty glutaramidu substituované cyklopentylskupinou jako inhibitory neutrální endopeptidasy

Oblast techniky

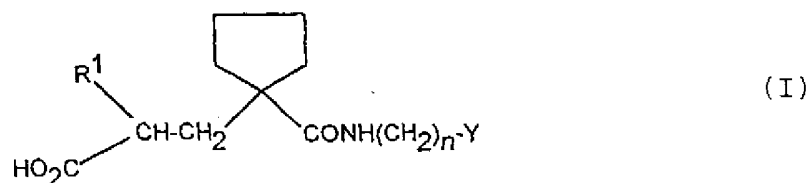
Vynález se týká inhibitorů enzymu neutrální endopeptidasy (NEP), jejich použití, způsobů jejich výroby, meziproduktů, kterých se při těchto způsobech používá a kompozic na bázi takových inhibitorů. Tyto inhibitory jsou užitečné v celé řadě oblastí, jako je léčení sexuální dysfunkce u žen, zejména poruchy sexuální vzrušivosti u žen (FSAD).

Dosavadní stav techniky

Inhibitory NEP jsou popsány ve WO 91/07386 a WO 91/10644.

Podstata vynálezu

Předmětem vynálezu je tedy použití sloučenin obecného vzorce I



kde

R^1 představuje C_{1-6} alkylskupinu, která je popřípadě substituována jedním nebo více substituenty, které mohou být stejné nebo různé, zvolenými ze souboru sestávajícího z halogenu, hydroxyskupiny, C_{1-6} alkoxyskupiny, C_{2-6} hydroxyalkoxy, C_{1-6} alkoxy(C_{1-6} alkoxy)skupiny, C_{3-7} cykloalkylskupiny, C_{3-7} cykloalkenylskupiny, arylskupiny, aryloxyskupiny, (C_{1-4} alkoxy)aryloxyskupiny, heterocyklylskupiny,

heterocyklyloxyskupiny, skupiny $-NR^2R^3$, $-NR^4COR^5$, $-NR^4SO_2R^5$, $-CONR^2R^3$, $-S(O)_pR^6$, $-COR^7$ a $-CO_2(C_{1-4}alkyl)$; nebo R^1 představuje C_{3-7} cykloalkylskupinu, arylskupinu nebo heterocyklylskupinu, z nichž každá je popřípadě substituována jedním nebo více substituenty zvolenými z uvedeného souboru, přičemž tyto substituenty mohou být stejné nebo různé, a tento soubor dále zahrnuje C_{1-6} alkylskupinu; nebo R^1 představuje C_{1-6} alkoxyskupinu, $-NR^2R^3$ nebo $-NR^4SO_2R^5$; kde

R^2 a R^3 představuje každý nezávisle vodík, C_{1-4} alkylskupinu, C_{3-7} cykloalkylskupinu (popřípadě substituovanou hydroxyskupinou nebo C_{1-4} alkoxyskupinou), arylskupinu, $(C_{1-4}alkyl)aryl$ skupinu, C_{1-6} alkoxyarylskupinu nebo heterocyklylskupinu; nebo R^2 a R^3 dohromady s atomem uhlíku, k němuž jsou připojeny, tvoří pyrrolidinyl-, piperidino-, morfolino-, piperazinyl- nebo $N-(C_{1-4}alkyl)piperazinyl$ skupinu;

R^4 představuje vodík nebo C_{1-4} alkylskupinu;

R^5 představuje C_{1-4} alkylskupinu, CF_3 , arylskupinu, $(C_{1-4}alkyl)aryl$ skupinu, $(C_{1-4}alkoxy)aryl$ skupinu, heterocyklylskupinu, C_{1-4} alkoxyskupinu nebo skupinu $-NR^2R^3$, kde R^2 a R^3 mají výše uvedený význam;

R^6 představuje C_{1-4} alkylskupinu, arylskupinu, heterocyklylskupinu nebo skupinu NR^2R^3 , kde R^2 a R^3 mají výše uvedený význam; a

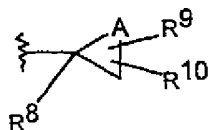
R^7 představuje C_{1-4} alkylskupinu, C_{3-7} cykloalkylskupinu, aryl nebo heterocyklylskupinu;

p představuje číslo 0, 1, 2 nebo 3;

n představuje číslo 0, 1 nebo 2;

spojovací skupina $-(CH_2)_n-$ je popřípadě substituována C_{1-4} alkylskupinou, C_{1-4} alkylskupinou substitutovanou jedním nebo více atomy fluoru nebo fenylskupinou, C_{1-4} alkoxy- skupinou, hydroxyskupinou, hydroxy(C_{1-3} alkyl)skupinou, C_{3-7} cykloalkylskupinou, arylskupinou nebo heterocyklylskupi- nou;

Y představuje skupinu vzorce

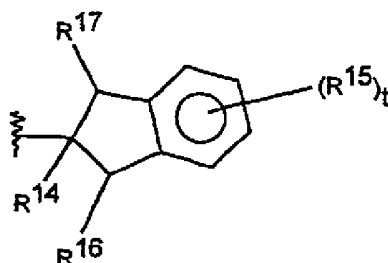


kde

A představuje skupinu $-(CH_2)_q-$, kde q představuje číslo 1, 2, 3 nebo 4 tak, aby doplňovala 3- až 7-členný karbocyk- lický kruh, který může být nasycený nebo nenasycený; R^8 představuje vodík, C_{1-6} alkylskupinu, $-CH_2OH$, fenylskupinu, fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu nebo $CONR^{11}R^{12}$; každý z R^9 a R^{10} představuje nezávisle vodík, skupinu $-CH_2OH$, $-C(O)NR^{11}R^{12}$, C_{1-6} alkylskupinu, fenylskupinu (popřípadě substituovanou C_{1-4} alkylsklupinou, halogenem nebo C_{1-4} alkoxyskupinou), nebo fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu (jejíž fenyllová část je popřípadě substituována C_{1-4} alkylskupinou, halogenem nebo C_{1-4} alkoxyskupinou), nebo R^9 a R^{10} dohromady tvoří dioxolan; R^{11} a R^{12} , které mohou být stejné nebo různé představují vodík, C_{1-4} alkylskupinu, skupinu R^{13} nebo $S(O)_rR^{13}$, kde r představuje číslo 0, 1 nebo 2, a R^{13} představuje fenylskupinu nebo fenyl C_{1-4} alkylskupinu, přičemž fenyl je popřípadě substituován C_{1-4} alkylskupinou; nebo

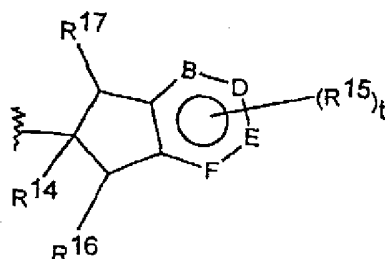
Y představuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$, kde R^{11} a R^{12} mají výše uvedený význam s tím rozdílem, že R^{11} a R^{12} oba současně nepředstavují vodík; nebo

Y představuje skupinu vzorce



kde R^{14} představuje vodík, skupinu CH_2OH nebo $C(O)NR^{11}R^{12}$ kde R^{11} a R^{12} mají výše uvedený význam; R^{15} , pokud je přítomen, může mít stejný význam jako jiný R^{15} nebo může mít rozdílný význam než jiný R^{15} a je zvolen z hydroxyskupiny, C_{1-4} alkylskupiny, C_{1-4} alkoxyskupiny, halogenu a CF_3 ; t představuje číslo 0, 1, 2, 3 nebo 4; a R^{16} a R^{17} představují nezávisle vodík nebo C_{1-4} alkyl; nebo

Y představuje skupinu vzorce



kde jeden nebo dva z B, D, E a F představují dusík a zbývající představují uhlík; a R^{14} až R^{17} a t mají výše uvedený význam; nebo

Y představuje popřípadě substituovaný 5- až 7-členný heterocyklický kruh, který může být nasycený, nenasycený nebo aromatický a obsahuje dusík, kyslík nebo síru a popřípadě jeden, dva nebo tři další kruhové atomy dusíku a je popřípadě anelovaný s benzoskupinou a popřípadě substituovaný:

C_{1-6} alkoxyskupinou; hydroxyskupinou; oxoskupinou; aminoskupinou; mono- nebo di(C_{1-4} alkyl)aminoskupinou; C_{1-4} alkanoylaminoskupinou; nebo

C_{1-6} alkylskupinou, která je popřípadě substituována jedním nebo více substituenty, které mohou být stejné nebo různé, zvolenými ze souboru sestávajícího z C_{1-6} alkoxyskupiny, C_{1-6} halogenalkoxyskupiny, C_{1-6} alkylthioskupiny, halogenu, C_{3-7} cykloalkylskupiny, heterocyklylskupiny a fenylskupiny; nebo

C_{3-7} cykloalkylskupinou, arylskupinou nebo heterocyklylskupinou, z nichž každá je popřípadě substituována jedním nebo více substituenty, které mohou být stejné nebo různé, zvolenými ze souboru sestávajícího z C_{1-6} alkylskupiny, C_{1-6} alkoxyskupiny, C_{1-6} haloalkoxyskupiny, C_{1-6} alkylthioskupiny, halogenu, C_{3-7} cykloalkylskupiny, heterocyklylskupiny a fenylskupiny;

příčemž v případě oxosubstituce na heterocyklickém kruhu tento kruh obsahuje jeden nebo dva atomy dusíku a oxosubstituce je v sousední poloze vzhledem ke kruhovému atomu dusíku; nebo

- Y představuje skupinu $-NR^{18}S(O)_uR^{19}$, kde R^{18} představuje vodík nebo C_{1-4} alkylskupinu; R^{19} představuje arylskupinu, aryl C_{1-4} alkylskupinu nebo heterocyklylskupinu (přednostně pyridylskupinu); a u představuje číslo 0, 1, 2 nebo 3;

a jejich farmaceuticky vhodných solí a solvátů, polymorfů a proléčiv těchto entit, při výrobě léčiva pro léčení ženské sexuální dysfunkce.

Některé ze sloučeniny obecného vzorce I jsou popsány ve WO 91/10664 a WO 91/07386. V těchto dokumentech však není uvedeno, že by tyto sloučeniny mohly být užitečné při léčení ženské sexuální dysfunkce. Zbývající sloučeniny obecného vzorce I jsou nové.

Předmětem vynálezu jsou tedy také nové sloučeniny obecného vzorce I, kde R^1 , n a Y mají výše uvedený význam, přičemž však Y nepředstavuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$ a když R^1 představuje propylskupinu nebo fenylethylskupinu, potom R^{14} nepředstavuje skupinu $-CH_2OH$, jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

Dále jsou předmětem vynálezu nové sloučeniny obecného vzorce I, kde R^1 , n a Y mají výše uvedený význam, přičemž však Y nepředstavuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$ a R^{14} nepředstavuje vodík nebo skupinu $-CH_2OH$, jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

Alkylskupiny ve výše uvedené definici, které obsahují alespoň 3 atomy uhlíku, mohou mít řetězec přímý nebo rozvětvený, pokud není uvedeno jinak. Pod pojmem "aryl" se rozumí skupina odvozená od aromatického uhlovodíku, jako fenylskupina nebo naftylskupina, která je popřípadě substituovaná například jedním nebo více substituenty zvolenými ze souboru sestávajícího z hydroxyskupiny, skupiny CN, CF_3 , C_{1-4} alkylskupiny, C_{1-4} alkoxyskupiny, halogenu, karbamoylskupiny, aminosulfonylskupiny, aminoskupiny, mono- a di(C_{1-4} alkyl)amino skupiny a (C_{1-4} alkanol)amino skupiny.

Pod pojmem "halogen" se rozumí fluor, chlor, brom nebo jod.

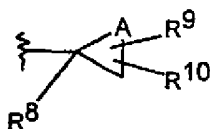
Pod pojmem "heterocyklyl" se ve výše uvedené definici, pokud není uvedeno jinak, rozumí pěti- nebo šestičlenná heterocyklická skupina obsahující dusík, kyslík nebo síru, která může být nasycená, nenasycená nebo aromatická a popřípadě obsahuje další kyslík nebo 1 až 3 kruhové atomy dusíku a je popřípadě anelovaná s benzoskupinou nebo substituovaná například jedním nebo více substituenty zvolenými ze souboru sestávajícího z halogenu, C_{1-4} alkylskupiny, hydroxyskupiny, karbamoylskupiny, benzylskupiny, oxoskupiny, aminoskupiny a mono- a di(C_{1-4} alkyl)aminoskupiny a (C_{1-4} alkanoyl)aminoskupiny. Jako konkrétní příklady heterocyklů je možno uvést pyridyl-, pyridonyl-, pyrazinyl-, pyrimidinyl-, pyridazinyl-, pyrrolyl-, imidazolyl-, pyrazolyl-, triazolyl-, tetrazolyl-, furyl-, tetrahydrofuryl-, tetrahydropyranyl-, dioxanyl-, thienyl-, oxazolyl-, isoxazolyl-, thiazolyl-, oxadiazolyl-, thiadiazolyl-, indolyl-, isoindolinylyl-, chinolyl-, isochinolyl-, chinoxalinylyl-, chinazolinyl- a benzimidazolylskupinu, z nichž každá je popřípadě substituována výše popsáním způsobem.

Jako přednostní substituenty R^1 je možno uvést C_{1-6} alkylskupinu, C_{1-6} alkoxyskupinu, C_{1-6} alkoxy(C_{1-3})alkylskupinu, C_{1-6} alkoxy C_{1-6} alkoxy C_{1-3} alkylskupinu nebo C_{1-6} alkylskupinu substituovanou arylskupinou.

Jako výhodnější substituenty R^1 je možno uvést C_{1-6} alkylskupinu, C_{1-6} alkoxyskupinu, C_{1-6} alkoxy(C_{1-3})alkylskupinu (přednostně methoxyethylskupinu) nebo C_{1-6} alkoxy C_{1-6} alkoxy C_{1-3} alkylskupinu (přednostně methoxyethoxymethylskupinu).

Jako ještě výhodnější substituenty R^1 je možno uvést C_{1-4} alkylskupinu (přednostně propylskupinu) nebo C_{1-6} alkoxy(C_{1-3})alkylskupinu (přednostně methoxyalkylskupinu, výhodněji methoxyethylskupinu).

Když Y představuje skupinu



a karbocyklický kruh je zcela nasycený, potom přednostně jeden z R^9 a R^{10} představuje skupinu $-\text{CH}_2\text{OH}$; $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$; C_{1-6} alkylskupinu; fenylskupinu popřípadě substituovanou C_{1-4} alkylskupinou; nebo fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu, jejíž fenylová část je popřípadě substituována C_{1-4} alkylskupinou. Ve výhodnějším provedení je karbocyklický kruh 5-, 6- nebo 7-členný, kde jeden z R^9 a R^{10} představuje skupinu $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$, a druhý představuje C_{1-6} alkylskupinu; fenylskupinu popřípadě substituovanou C_{1-4} alkylskupinou; nebo fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu, jejíž fenylová část je popřípadě substituována C_{1-4} alkylskupinou. Ve výhodnějším provedení jsou R^9 a R^{10} připojeny k sousedním kruhovým atomům uhlíku. Ve výhodnějším provedení R^8 představuje skupinu CH_2OH .

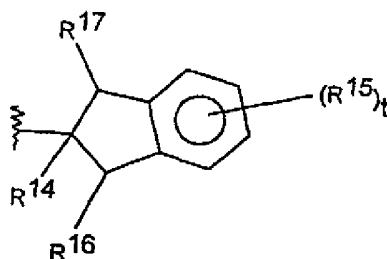
Když Y představuje skupinu $-\text{NR}^{18}\text{S}(\text{O})_u\text{R}^{19}$, R^{18} přednostně představuje vodík. Ve výhodnějším provedení R^{19} představuje benzylskupinu nebo fenylskupinu. Ve výhodnějším provedení u představuje číslo 2.

Y přednostně představuje popřípadě substituovaný 5- až 7-členný heterocyklický kruh. Ve výhodnějším provedení je kruhem popřípadě substituovaný aromatický kruh, zejména pyridyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, pyridazinyl, pyrazolyl, triazolyl, tetrazolyl, oxadiazolyl, thiazolyl, thiadiazolyl, oxazolyl, isoxazolyl, indolyl, isoindolyl, chinolyl, isochinolyl, pyridonyl, chinoxalinylny nebo chinazolinylny [zvláště oxadiazol (přednostně 1,2,5- nebo 1,3,4-oxadiazol), pyridon (přednostně 2-pyridon) nebo thiadiazol (přednostně 1,3,4-thiadiazol)], z nichž každý je popřípadě substituován

způsobem uvedeným v definici obecného vzorce I. V přednostním provedení je heterocyklický kruh substituován jedním nebo více substituenty zvolenými z C_{1-6} alkylskupiny, fenylskupiny a fenyl C_{1-4} alkylskupiny, výhodněji C_{1-4} alkylskupiny a benzylskupiny. Přednostně Y představuje N-substituovaný pyridon, kde substituentem je přednostně benzylskupina nebo C_{1-4} alkylskupina.

Y přednostně představuje laktam vázaný na dusíku.

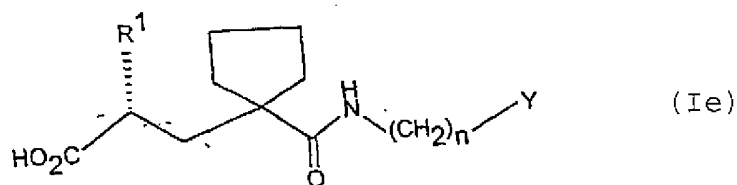
Y přednostně představuje skupinu vzorce



kde R^{14} přednostně představuje skupinu CH_2OH nebo $C(O)NR^{11}R^{12}$, zejména $C(O)NR^{11}R^{12}$.

R^{16} a R^{17} přednostně představují vodík. Parametr t přednostně představuje číslo 0.

Přednost se dává sloučeninám obecného vzorce Ie



Jako sloučeniny podle vynálezu, kterým se dává zvláštní přednost, lze uvést

2-[(1-{[(1-benzyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridinyl)amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]-4-methoxybutanovou kyselinu (příklad 35);

2-[(1-({[3-(2-oxo-1-pyrrolidinyl)propyl]amino}karbonylcyklopentyl)methyl]-4-fenylbutanovou kyselinu (příklad 40);

(+)-2-{[1-({[2-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyklopentyl)methyl]-4-fenylbutanovou kyselinu (příklad 44);

2-[(1-{[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]-4-fenylbutanovou kyselinu (příklad 43);

cis-3-(2-methoxyethoxy)-2-[(1-{[(4-{[(fenylsulfonyl)amino]karbonyl}cyklohexyl)amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]propanovou kyselinu (příklad 38);

(+)-2-{[1-({[2-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyklopentyl)methyl]pentanovou kyselinu (příklad 31);

(2R)-2-[(1-{[(5-ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]pentanovou kyselinu nebo (-)-2-[(1-{[(5-ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)-methyl]pentanovou kyselinu (příklad 29);

(2S)-2-[(1-{[(5-ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]pentanovou kyselinu nebo (+)-2-[(1-{[(5-ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)-methyl]pentanovou kyselinu (příklad 30);

2-[(1-{[(3-benzylanilino)karbonyl]cyklopentyl)methyl]pentanovou kyselinu (příklad 21);

2-[(1-{[(1-benzyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridinyl)amino]-
karbonyl}cyklopentyl)methyl]pentanovou kyselinu (příklad 22);

2-{[1-({[(1R,3S,4R)-4-(aminokarbonyl)-3-butylcyklohexyl]-
amino}karbonyl)cyklopentyl)methyl}pentanovou kyselinu (příklad
9);

trans-3-[1-({[2-(4-chlorfenyl)cyklopropyl]amino}karbonyl)-
cyklopentyl]-2-(methoxymethyl)propanovou kyselinu (příklad
46);

trans-3-[1-({[2-(4-methoxyfenyl)cyklopropyl]amino}karbo-
nyl)cyklopentyl]-2-(methoxyethyl)propanovou kyselinu (příklad
47);

trans-3-[1-({[2-pentylcyklopropyl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-
-2-(methoxyethyl)propanovou kyselinu (příklad 48);

3-[1-({[5-benzyl[1,3,4]-thiadiazol-2-yl]amino}karbonyl)cyklo-
pentyl]-2-(methoxyethyl)propanovou kyselinu (příklad 49);

3-[1-({[4-butylpyridin-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-
-(methoxyethyl)propanovou kyselinu (příklad 50);

3-[1-({[4-fenylpyridin-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-
-(methoxyethyl)propanovou kyselinu (příklad 51);

3-[1-({[1-hydroxymethyl-3-fenylcyklopentyl]amino}karbonyl)-
cyklopentyl]-2-(methoxyethyl)propanovou kyselinu (příklad 52);

2-{[1-({[2-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]amino}-
karbonyl)cyklopentyl)methyl]-4-methoxybutanovou kyselinu
(příklad 53);

trans-3-[1-({[2-fenylcyklopropyl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-
-2-(methoxyethyl)propanovou kyselinu (příklad 54);

(R)-2-{[1-({[2-(hydroxymethyl)-2, 3-dihydro-1H-inden-2-yl]-
amino}karbonyl)cyklopentyl]methyl}-4-methoxybutanovou kyselinu
(příklad 55); a

(S)-2-{[1-({[2-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-
amino}karbonyl)cyklopentyl]methyl}-4-methoxybutanovou kyselinu
(příklad 56).

Abychom se vyhnuli jakýmkoliv pochybnostem uvádíme, že
pod pojmem "substituovaný" se rozumí substituovaný jedním nebo
více uvedenými substituenty, pokud není uvedeno jinak. V
případě volby substituentů ze souboru alternativních skupin,
zvolené skupiny mohou být stejné nebo různé.

Pod pojmem "nezávisle" se v souvislosti s volbou většího
počtu substituentů ze souboru možných substituentů rozumí, že
tyto substituenty mohou být stejné nebo různé.

Jako farmaceuticky nebo veterinárně vhodné soli slouče-
nin obecného vzorce I, které obsahují centra bazicity, je
například možno uvést netoxické adiční soli s kyselinami, jako
anorganickými kyselinami, jako kyselinou chlorovodíkovou,
bromovodíkovou, jodovodíkovou, sírovou a fosforečnou; karboxy-
lovými kyselinami nebo organickými sulfonovými kyselinami.
Jako příklady takových solí lze uvést hydrochloridy, hydro-
bromidy, hydrojodidy, sulfáty, hydrogensulfáty, nitráty,
fosfáty nebo hydrogenfosfáty, acetáty, benzoáty, sukcináty,
sacharáty, fumaráty, maleáty, laktáty, citráty, tartráty,
glukonáty, kafersulfonáty, methansulfonáty, ethansulfonáty,
benzensulfonáty, p-toluensulfonáty a pamoáty. Sloučeniny podle

vynálezu také mohou tvořit farmaceuticky nebo veterinárně vhodné soli s kovy, zejména netoxické soli s alkalickými kovy nebo kovy alkalických zemin, jako bázemi. Jako příklady takových solí je možné uvést soli sodíku, draslíku, hliníku, vápníků, hořčíku, zinku, diolaminové, olaminové, ethylendi-aminové, tromethaminové, cholinové, megluminové a diethanol-aminové soli. Přehled farmaceuticky vhodných solí lze nalézt v publikacích Berge et al., J. Pharm. Sci., 66,1 až 19,1977; P. L. Gould, International Journal of Pharmaceutics, 33 (1986), 201 až 217; a Bighley et al., Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Marcel Dekker Inc., New York 1996, sv. 13, str. 453 až 497. Přednost se dává sodným solím.

Do rozsahu farmaceuticky vhodných solvátů sloučenin podle vynálezu spadají také hydráty.

Sloučeniny, jejich farmaceuticky vhodné soli a solváty a polymorfy těchto entit definované v rámci kteréhokoliv aspektu tohoto vynálezu (kromě meziproductů při chemických postupech) jsou dále označovány jako "sloučeniny podle vynálezu".

Sloučeniny podle vynálezu mohou obsahovat jedno nebo více center chiralit, a mohou se tudíž vyskytovat v řadě stereo-isomerních forem. Do rozsahu tohoto vynálezu spadají všechny stereoisomery a jejich směsi. Racemické sloučeniny je možno separovat za použití preparativní HPLC a sloupce s chirální stacionární fází nebo je opticky štěpit na jednotlivé enantio-mery za použití postupů, které jsou odborníkům v tomto oboru známy. Kromě toho je také při výrobě chirálních sloučenin podle vynálezu možno podrobit optickému štěpení chirální meziproducty, kterých se pak při této výrobě použije.

V případě, že se sloučeniny podle vynálezu vyskytují jako E a Z isomery, do rozsahu vynálezu spadají jak tyto jednotlivé isomery, tak i jejich směsi.

V případě, že se sloučeniny podle vynálezu vyskytují ve formě tautomerů, do rozsahu vynálezu spadají jak jednotlivé tautomery, tak i jejich směsi.

V případě, že se sloučeniny podle vynálezu vyskytují ve formě optických isomerů, do rozsahu vynálezu spadají jak jednotlivé optické isomery, tak i jejich směsi.

V případě, že se sloučeniny podle vynálezu vyskytují ve formě diastereoisomerů, do rozsahu vynálezu spadají jak jednotlivé diastereomery, tak i jejich směsi.

Diastereomery a E a Z isomery je možno separovat obvyklými postupy, například frakční krystalizací, chromatografií nebo vysokotlakou kapalinovou chromatografií, HPLC (viz příklady 29 a 30). Individuální enantiomery sloučenin podle vynálezu nebo meziproductů lze připravovat z odpovídajících opticky čistých meziproductů nebo optickým štěpením, jako vysokotlakou kapalinovou chromatografií odpovídajícího racemátu za použití vhodného chirálního nosiče nebo frakční krystalizací diastereoisomerních solí, které odpovídající racemát tvoří s vhodnou opticky aktivní bází. Přednostní opticky aktivní bází je pseudoefedrin (viz preparativní postup 2).

Sloučeniny podle vynálezu se mohou vyskytovat ve jedné nebo více tautomerních formách. Do rozsahu vynálezu spadají všechny tautomery a jejich směsi. Například do rozsahu 2-hydroxypyridinylskupiny také spadá její tautomerní forma, α -pyridonylskupina.

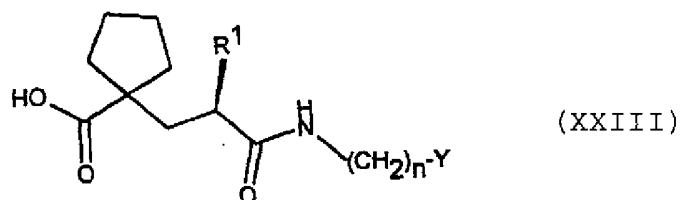
Odborníkům v tomto oboru bude zřejmé, že některé chráněné deriváty sloučenin podle vynálezu, které lze získat před provedením stupně závěrečné deprotektce, nemusí vykazovat farmakologickou aktivitu jako takové, ale v některých případech mohou být například po perorálním nebo parenterálním podání v organismu metabolizovány na sloučeniny podle vynálezu, které farmakologicky aktivní jsou. Takové deriváty se uvádějí jako "proléčiva". Některé sloučeniny podle vynálezu mohou být proléčivý jiných sloučenin podle vynálezu.

Do rozsahu vynálezu spadají všechny chráněné deriváty a proléčiva sloučenin podle vynálezu. Příklady proléčiv vhodných pro sloučeniny podle vynálezu lze nalézt v publikacích *Drugs of Today*, sv. 19, č. 9, 1983, str. 499 až 538 *Topics in Chemistry*, kapitola 31, str. 306 až 316 a "Design of Prodrugs", H. Bundgaard, Elsevier, 1985, kapitola 1 (které jsou citovány náhradou za přenesení jejich obsahu do tohoto textu).

Odborníkům v tomto oboru také bude zřejmé, že naa vhodné funkční skupiny, pokud jsou ve sloučeninách podle vynálezu přítomny, lze zavést určité zbytky, známé jako "pro-zbytky", které jsou například popsány v publikaci "Design of Prodrugs", H. Bundgaard, Elsevier, 1985 (která je zde citována náhradou za přenesení celého jejího obsahu do tohoto textu).

Jako přednostní proléčiva sloučenin podle vynálezu lze uvést estery, karbonátové estery, hemiestery, fosfátové estery, nitroestery, sulfátové estery, sulfoxidy, amidy, karbamáty, azosloučeniny, fosfamidy, glykosidy, ethery, acetal a ketal.

Při metabolických studiích se ukázalo, že sloučeniny obecného vzorce I mohou in vivo tvořit sloučeniny obecného vzorce XXIII



což jsou také inhibitory NEP. Zejména jsme zjistili, že (2R)-2-[(1-{[(5-ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]pentanová kyselina (příklad 29) in vivo tvoří (2R)-1-(2-{[(5-ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}-pentyl)cyklopentankarboxylovou kyselinu.

Do rozsahu vynálezu také spadají isotopové varianty sloučenin podle vynálezu. Isotopová varianta je definována jako varianta, v níž je alespoň jeden atom nahrazen atomem se stejným atomovým číslem, ale s atomovou hmotností odlišnou od atomové hmotnosti s jakou se obvykle nachází v přírodě. Jako příklady isotopů, které je možno začlenit do sloučenin podle vynálezu, je možno uvést isotopy vodíku, uhlíku, dusíku, kyslíku, fosforu, síry, fluoru a chloru, jako je ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F a ^{36}Cl . Určité isotopově značené varianty podle vynálezu, například značené radioaktivními isotopy, jako ^3H nebo ^{14}C , jsou užitečné při zkouškách distribuce léčiva nebo substrátu v tkáních. Zvláštní přednost se dává tritiovým isotopům tj. ^3H , a ^{14}C isotopům, jelikož je lze snadno připravovat a detekovat. Nahrazením těžšími isotopy, jako deuteriem, tj. ^2H , je možno dosáhnout určitých terapeutických výhod vyplývajících z vyšší metabolické stability, například prodloužení poločasu in vivo nebo snížení potřebných dávek, čemuž se za určitých okolností může

dávat přednost. Isotopové varianty sloučenin podle vynálezu lze obecně připravovat obvyklými způsoby, jako způsoby popsanými v příkladech provedení a preparativních postupech, za použití vhodných isotopových variant vhodných reagentů.

Sloučeniny podle vynálezu jsou inhibitory zinek-dependentní neutrální endopeptidasy EC.3.4.24.11 a má se za to, že za použití sloučenin podle vynálezu je možno léčit chorobné stavy uvedené dále. Tento enzym se štěpením vazeb v aminovém místě hydrofobních aminokyselinových zbytků podílí na odbourávání několika biologicky aktivních oligopeptidů. Jako metabolizované peptidy je možno uvést atriální natriuretické peptidy (ANP), bombesin, bradykinin, peptid odvozený od genu pro kalcitonin, endotheliny, enkefaliny, neurotensin, látku P a vasoaktivní intestinální peptid. Některé z těchto peptidů vykazují silné vasodilatační a neurohormonální působení, diuretickou a natriuretickou aktivitu nebo zprostředkovávají behaviorální účinky. Sloučeniny podle vynálezu tedy tím, že inhibují neutrální endopeptidasu EC.3.4.24.11, mohou potenco-
vat biologické účinky bioaktivních peptidů.

Sloučeniny podle vynálezu jsou tudíž užitečné při léčení rady poruch, jako hypertenze, srdečního selhání, anginy, renální insuficience, akutního selhání ledvin, cyklického edému, Menièrovu chorobu, hyperaldosteronismus (primární a sekundární) a hyperkalciurii. Vzhledem ke schopnosti potencio-
vat účinky ANF jsou sloučeniny podle vynálezu také užitečné při léčení glaukomu. Díky své schopnosti inhibovat neutrální endopeptidasu EC.3.4.24.11 sloučeniny podle vynálezu mohou být účinné v jiných terapeutických oblastech, například při léčení menstruačních poruch, předčasného porodu, preeklampsie, endometriosy a reprodukčních poruch (zejména mužské nebo ženské neplodnosti, syndromu polycystických vaječníků, nidačního selhání). Sloučeniny podle vynálezu by také měly být užitečné

při léčení astmatu, zánětů, leukémie, bolesti, epilepsie, afektivních poruch, demence a stařecké zmatenosti, obezity a gastrointestinálních poruch (zejména diarey a syndromu dráždivého střeva), při hojení ran (zejména diabetických a bércových vředů a dekubitů), léčení septického šoku, modulaci sekrece žaludeční kyseliny, hyperreninémie, cystické fibrosy, restenozy, komplikací diabetu a aterosklerosy. Přednostně jsou sloučeniny podle vynálezu užitečné při léčení sexuální dysfunkce u žen (FSD), přednostně FSAD.

Pod pojmem "léčení" se rozumí kurativní, paliativní a profylaktické léčení.

Zjistili jsme, že sloučeniny podle vynálezu inhibují enzym neutrální endopeptidasu. Předmětem vynálezu je tedy také použití sloučenin podle vynálezu při výrobě léčiva pro léčení nebo profylaxi stavu, u něhož lze kladné terapeutické odpovědi dosáhnout inhibicí neutrální endopeptidasy.

FSD lze definovat jako obtížné dosahování sexuálního uspokojení nebo neschopnost jeho dosažení. FSD je souhrnný pojem pro různé ženské sexuální poruchy (Leiblum, S. R. (1998). Definition and classification of female sexual disorders. Int. J. Impotence Res., 10, S104-S106; Berman, J. R., Berman, L. & Goldstein, I. (1999). Female sexual dysfunction: Incidence, pathophysiology, evaluations and treatment options. Urology, 54, 385-391). Žena může trpět nedostatkem libida, obtížným dosažením vzrušení nebo orgasmu, bolestí při styku nebo kombinací těchto problémů. FSD může vyvolávat několik typů chorob, léčiv, poranění nebo psychologických problémů. Vyvíjená léčení jsou zaměřena na léčení specifických podtypů FSD, převážně poruch libida a vzrušivosti.

Kategorie FSD lze nejlépe definovat jejich přiřazením k fázím normální ženské sexuální odpovědi: touze, vzrušení a orgasmu (Leiblum, S. R. (1998). Definition and classification of female sexual disorders. Int. J. Impotence Res., 10, S104-S106). Touha či libido jsou pohonem pro sexuální chování a jeho projevy jsou často sexuální představy za přítomnosti zainteresovaného partnera nebo při vystavení jiným erotickým stimulům. Oproti tomu, sexuální vzrušení představuje vaskulární reakci na sexuální stimulaci, jejíž důležitou složkou je prokrvení genitálií a dalšími složkami jsou zvýšená lubrikace a prodloužení vagíny a zvýšená citlivost genitálií. Orgasmus představuje uvolnění sexuální tenze, která kulminuje během vzrušení.

FSD se tedy obvykle vyskytuje u žen, které neadekvátně nebo neuspokojivě reagují ve kterémkoliv z těchto fází, obvykle ve fázi touhy, vzrušení nebo orgasmu. Jako kategorie FSD je možno uvést snížené libido, poruchu sexuální vzrušivosti, orgastickou poruchu a bolestivé sexuální poruchy. Ačkoliv sloučeniny podle vynálezu zlepšují genitální reakci na sexuální stimulaci (jako při poruše sexuální vzrušivosti u žen), mohou v rámci toho také snižovat bolest, tíseň nebo diskomfort, které souvisí se stykem, a tak léčit jiné sexuální poruchy u žen.

Předmětem vynálezu je tedy dále použití sloučenin podle vynálezu při výrobě léčiva pro léčení nebo profylaxi hypoaktivní poruchy sexuální touhy, poruchy sexuální vzrušivosti, orgastické poruchy a sexuální bolestivé poruchy, výhodněji pro léčení nebo profylaxi poruchy sexuální vzrušivosti, orgastické poruchy a bolestivé sexuální poruchy, nejvýhodněji pro léčení nebo profylaxi poruchy sexuální vzrušivosti.

Hypoaktivní poruchou sexuální touhy trpí ženy, které po sexu netouží, nebo touží jen málo, a nemají nebo téměř nemají žádné sexuální představy či fantazie. Tento typ FSD může být vyvolán nízkými hladinami testosteronu, buď kvůli přirozené nebo chirurgicky navozené menopauze. Jako jiné příčiny lze uvést choroby, medikaci, únavu, depresi a úzkost.

Pro poruchu sexuální vzrušivosti u žen (FSAD) je charakteristická neadekvátní odpověď genitálií na sexuální stimulaci. Nedochází k překrvení genitálií, které je příznačné pro normální sexuální vzrušení. Stěny vagíny jsou málo lubrikovány, takže styk je bolestivý. Dosažení orgasmu je ztíženo. Porucha vzrušivosti může být vyvolána sníženou hladinou estrogenu při menopauze nebo po porodu a během laktace, a také onemocněním, které také postihuje vaskulaturu, jako je diabetes a atherosklerosa. Jiné příčiny mohou být spojeny s léčením diuretiky, antihistaminiky, antidepresivy, například SSRI, nebo antihypertenzivními činidly.

Pro bolestivé sexuální poruchy (které zahrnují dyspareunii a vaginismus) je charakteristická bolest vyvolaná penetrací. Tyto poruchy mohou být vyvolány medikací, která snižuje lubrikaci, endometriosou, zánětlivou chorobou pánve, zánětlivou chorobou střev nebo problémy s močovým traktem.

Prevalenci FSD je obtížné odhadnout, jelikož tento pojem pokrývá několik typů problémů, z nichž některé jsou nesnadno měřitelné a jelikož zájem léčit FSD vznikl relativně nedávno. Mnoho sexuálních problémů u žen je spojeno buď přímo s procesem jejich stárnutí nebo s chronickým onemocněním, jako diabetes nebo hypertenzí.

Jelikož FSD tvoří několik podtypů, které odpovídají symptomům v oddělených fázích cyklu sexuální odpovědi, jediná

terapie neexistuje. Současné způsoby léčení FSD jsou zaměřeny především na psychologické nebo vztahové problémy. Léčení FSD se postupně vyvíjí jako kliničtější a zkoumání tohoto problému jsou věnovány základní vědecké studie. Sexuální potíže u žen nejsou z hlediska patofyziologie vždy psychologické, zejména u těch žen, na jejichž celkovém sexuálním problému se může podílet složka vaskulogenetické dysfunkce (například FSAD). V současnosti neexistují žádné povolené léky pro léčení FSD. Empirická farmakoterapie zahrnuje podávání estrogenu (topicky nebo jako hormonální substituci), androgenů nebo léčiv ovlivňujících náladu, jako je buspiron nebo trazodon. Tyto léčebné možnosti jsou vzhledem k nízké účinnosti nebo nepříjemným vedlejším účinkům často neuspokojivé.

Jelikož zájem léčit FSD farmakologicky je relativně nový, terapie sestává z psychologického poradenství, volně prodejných sexuálních lubrikantů a dosud nevyzkoušených potenciálních léčiv, kterými mohou být léčiva schválená pro jiné stavy. Takovou medikaci mohou představovat hormonální činidla, testosteron nebo kombinace estrogenu a testosteronu, a nedávno vyvinutá vaskulární léčiva s ověřenou účinností na erektilní dysfunkci u mužů. Neprokázano se však, že by některé z těchto činidel bylo příliš účinné při léčení FSD.

Jak již bylo uvedeno výše, sloučeniny podle vynálezu jsou zvláště užitečné při léčení poruchy sexuální vzrušivosti u žen (FSAD).

Diagnostický a statistický manuál (DSM) IV Americké psychiatrické asociace definuje poruchu sexuální vzrušivosti u žen (FSAD) takto:

"... trvalá nebo přechodná neschopnost dosáhnout adekvátní odezvy pohlavního vzrušení, která spočívá v lubrikaci a

zbytnění, nebo neschopnost ji udržet až do konce sexuální aktivity. Porucha musí vyvolávat značnou tíseň nebo interpersonální potíže."

Sexuální vzrušení je tvořeno vasokongescí v pánvi, lubrikací vagíny a zvětšením a zbytněním vnějších genitálií. Porucha vyvolává značnou tíseň a/nebo interpersonální problémy.

FSAD je sexuální poruchou s vysokou prevalencí u pre-, peri a postmenopausálních ($\pm$ HRT) žen. Je spojena s dalšími průvodními poruchami, jako jsou deprese, kardiovaskulární choroby, diabetes a UG poruchy.

Primárními následky FSAD jsou nedostatečné překrvení/zbytnění, nedostatečná lubrikace a nedostatek příjemného genitálního počitku. Druhotnými následky FSAD jsou snížené libido, bolest během styku a obtížné dosahování orgasmu.

Nedávno byla navržena hypotéza, že alespoň u části pacientů se symptomy FSAD má tato porucha vaskulární bázi (Goldstein et al., Int. J. Impot. Res., 10, S84 S90, 1998) a tento názor podporují údaje získané na zvířatech (Park et al., Int. J. Impot. Res., 9,27-37, 1997).

Léčivý, která přicházejí v úvahu pro léčení FSAD, jejichž účinnost se v současné době zkoumá, jsou primárně léčiva pro léčení mužské erektilní dysfunkce, která zvyšují prokrvení mužských genitálií. Takovou terapii tvoří dva typy formulací, perorální nebo sublinguální medikace (apomorfin, fentolamin, inhibitory fosfodiesterasy typu 5 (PDE5), například sildenafil), a prostaglandin (PGE_1), který se mužům podává injekčně nebo transuretrálně, a ženám topicky na genitálie.

V tomto textu se pojmu "žena" používá jako souhrnného pojmu pro označení pohlaví u člověka či jiného živočicha, pokud není uvedeno jinak. Do jeho rozsahu tedy spadá i pojem "samice". Podobný vztah je také mezi pojmy "muž" a "samec". Výše uvedené se také vztahuje na přívlastky "ženský" - "samičí", "mužský" - "samčí" apod.

Sloučeniny podle vynálezu jsou výhodné, jelikož poskytují prostředek umožňující obnovení normální odpovědi sexuální vzrušivosti - totiž zvýšeného prokrvení genitálií, které vede k překrvení vagíny, klitoris a labií. Toto překrvení vyústí ve zvýšenou lubrikaci vagíny transsudací plasmy, zvýšenou poddajnost vagíny a zvýšenou citlivost genitálií. Sloučeniny podle vynálezu tedy poskytují prostředky jak obnovit nebo potencovat normální sexuální vzrušivost.

Bez vazby na jakoukoliv teorii máme za to, že neuropeptidy, jako vasoaktivní intestinální peptid (VIP) jsou hlavními potenciálními neurotransmitery, které se podílejí na regulaci odpovědi sexuální vzrušivosti u žen, zejména na regulaci prokrvení genitálií. VIP a jiné neuropeptidy jsou degradovány/metabolizovány neutrální endopeptidasou EC3.4.24.11. Inhibitory NEP tedy budou potencovat endogenní vasorelaxační účinek VIP uvolněného během vzrušení. To povede k léčení FSAD, jako léčení prostřednictvím zvýšeného prokrvení a následného překrvení genitálií. Zjistili jsme, že inhibitory NEP EC 3.4.24.11 zvyšují vzrůst prokrvení vagíny a klitoris vyvolané stimulací pelvického nervu a indukované vasoaktivním intestinálním peptidem. Kromě toho selektivní inhibitory NEP zvyšují nervově zprostředkovanou relaxaci izolované stěny vagíny.

Tento vynález je výhodný, jelikož poskytuje prostředek umožňující obnovení normální odpovědi sexuální vzrušivosti - totiž zvýšeného prokrvení genitálií, které vede k překrvení

vagíny, klitoris a labií. Toto překrvení vyústí ve zvýšenou lubrikaci vagíny transsudací plasmy, zvýšenou poddajnost vagíny a zvýšenou citlivost genitálií. Sloučeniny podle vynálezu tedy poskytují prostředky jak obnovit nebo potencovat normální sexuální vzrušivost.

Základní poznatky o NEP zveřejnili Victor A. McKusick et al. na <http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/searchomim.htm>. Následující informace týkající se NEP jsou výňatkem z tohoto zdroje.

"Obecný antigen akutní lymfocytové leukémie (common ALLa, CALLA) je důležitým buněčným povrchovým markerem při diagnóze lidské akutní lymfoblastové leukémie (ALL). Je přítomen na leukemických buňkách pre-B fenotypu, což představuje 85 % případů ALL. CALLA se však neomezuje na leukemické buňky, a lze ho nalézt u řady normálních tkání. CALLA je glykoprotein, který je zvláště hojný v ledvinách, kde je přítomen na kartáčovém lemu proximálních tubulů a na glomeruálním epitelu. Letarte et al. (1988) klonovali cDNA kódující CALLA a ukázali, že aminokyselinová sekvence dedukovaná z cDNA sekvence je identická se sekvencí lidské neutrální endopeptidasy asociované s membránami (NEP; EC 3.4.24.11), známé také jako enkefalinasa. NEP štěpí peptidy v aminovém místě hydrofobních zbytků a inaktivuje několik peptidových hormonů, jako glukagon, enkefaliny, látku P, neurotensin, oxytocin a bradykinin. Transfekční analýzou cDNA Shipp et al. (1989) potvrdili, že CALLA je funkční neutrální endopeptidasou typu, který byl dříve uváděn jako enkefalinasa. Barker et al. (1989) doložili, že CALLA gen, který kóduje 100kD transmembránový glykoprotein typu II existuje v jediné kopii o více než 45 kb, které u malignit exprimujících CALLA na povrchu buněk není přeskupen. Gen byl lokalizován na lidském chromozomu 3 studií hybridních somatických buněk a in situ hybridizací lokalizován na 3q21-

q27. Tran-Paterson et al. (1989) za použití Southernovy analýzy DNA z hybridních lidských-hlodavčích buněk lokalizovali tento gen na chromosomu 3. D'Adamio et al. (1989) doložili, že gen CALLA má rozsah více než 80 kb a je tvořen 24 exony."

- 1 Barker, P. E.; Shipp, M. A.; D'Adamio, L.; Masteller, E. L.; Reinherz, E. L. The common acute lymphoblastic leukemia antigen gene maps to chromosomal region 3 (q21-q27). J. Immun. 142: 283-287, 1989.
- 2 D'Adamio, L. ; Shipp, M. A.; Masteller, E. L.; Reinherz, E. L. : Organization of the gene encoding common acute lymphoblastic leukemia antigen (neutral endopeptidase 24.11): multiple minixons and separate 5-prime untranslated regions. Proc. Nat. Acad. Sci. 86 : 7103-7107, 1989.
- 3 Letarte, M.; Vera, S.; Tran, R.; Addis, J. B. L.; Onizuka, R. J.; Quackenbush, E. J.; Jongeneel, C. V.; Mcinnes, R. R.: Common acute lymphocytic leukemia antigen is identical to neutral endopeptidase. J. Exp. Med. 168: 1247-1253, 1988.
- 4 Shipp, M. A.; Vijayaraghavan, J.; Schmidt, E. V.; Masteller, E. L. ; D'Adamio, L.; Hersh, L. B.; Reinherz, E. L.: Common acute lymphoblastic leukemia antigen (CALLA) is active neutral endopeptidase 24.11 ('enkephalinase') : direct evidence by cDNA transfection analysis. Proc. Nat. Acad. Sci. 86: 297-301, 1989.
- 5 Tran-Paterson, R.; Willard, H. F.; Letarte, M.: The common acute lymphoblastic leukemia antigen (neutral

endopeptidase-3.4.24.11) gene is located on human chromosome 3. Cancer Genet. Cytogenet. 42: 129-134, 1989.

"Genitální (ženské) orgány jsou tvořeny orgány vnitřními a vnějšími. Vnitřní orgány jsou umístěny v pánvi a tvoří je vaječníky, vejcovody, děloha a vagína. Vnější orgány jsou povrchové vzhledem k urogenitálnímu diafragmatu a nacházejí se pod pánevním obloukem. Tvoří je hrma, velké stydké pysky a malé stydké pysky, klitoris, vestibulum, bulbus vestibuli a velké vestibulární žlázy". (Grayova Anatomie, C. D. Clemente, 13. americké vydání)

Sloučeniny podle vynálezu nacházejí použití v následujících podsouborech pacientů s FSD: u mladých žen, starších žen, premenopauzálních žen, perimenopauzálních žen, postmenopauzálních žen, u kterých je popřípadě prováděna hormonální substituční terapie.

Sloučeniny podle vynálezu nacházejí použití u pacientů s FSD

i) s vaskulogenní etiologií, tj. například vyvolanou kardiovaskulárními nebo atherosklerotickými chorobami, hypercholesterolémií, kouřením cigaret, diabetem, hypertenzí, ozářením nebo traumatem hráze, traumatickým poškozením iliohypogastrického pudendálního vaskulárního systému,

ii) s neurogenní etiologií, tj. například vyvolanou poraněním míchy nebo chorobami centrálního nervového systému, jako je roztroušená sklerosa, diabetes, Parkinsonismem, cerebrovaskulárními příhodami, periferními neuropatiemi, traumatem nebo radikální operací pánve,

iii) s hormonální/endokrinní etiologií, tj. například vyvolanou dysfunkcí osy hypothalamus-hypofýza-gonády nebo dysfunkcí vaječníků, dysfunkcí slinivky břišní, chirurgickou nebo farmakologickou kastrací, deficitem androgenů, vysokou cirkulační hladinou prolaktinu, například hyperprolaktinemií, přirozenou menopauzou, předčasnou ztrátou funkce vaječníků, hyper- a hypothyroidismem,

iv) s psychogenní etiologií, tj. například vyvolané depresí, obsedantně kompulzivní poruchou, úzkostnou poruchou, poporodní depresí, emočními a vztahovými problémy, úzkostí ze selhání, manželskými neshodami, dysfunkčními vztahy, sexuálními fobiemi, religiozním zablokováním nebo traumatickými zkušenostmi,

v) indukovanou farmakologicky, tj. například vyvolanou selektivními inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRi) a jinými antidepresivy (tricyklickými antidepresivy a velkými trankvilizéry), antihypertenziivy, sympatolytiky nebo dlouhodobě podávanými antikoncepčními činidly.

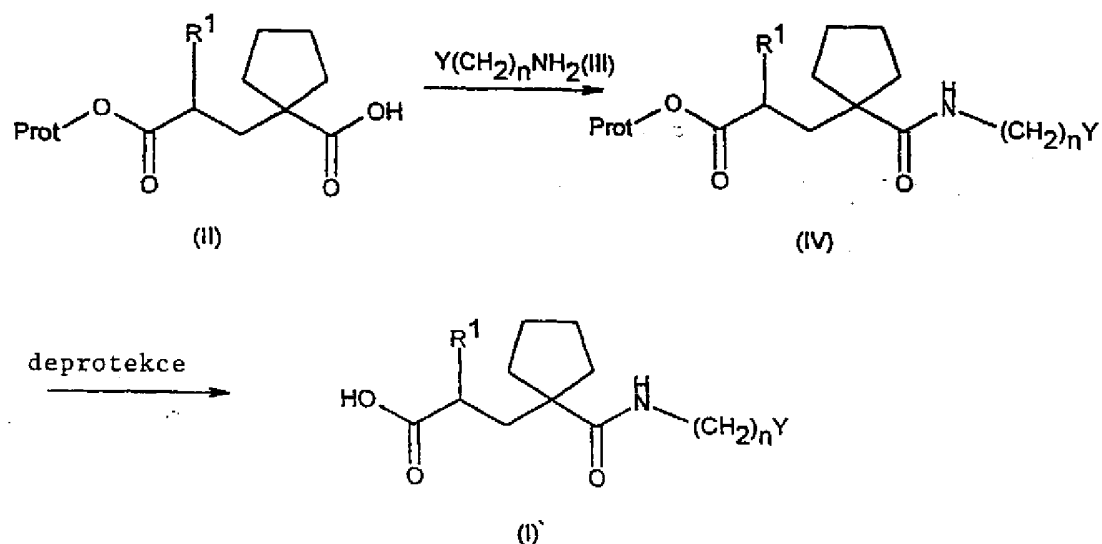
Sloučeniny podle vynálezu je možno připravovat za použití různých známých způsobů. V následujících reakčních schématech a dalším textu mají obecné symboly R^1 , n a Y význam uvedený v definici obecného vzorce I, pokud není uvedeno jinak. Tyto způsoby jsou dalšími předměty vynálezu.

V tomto popisu jsou obecné vzorce číslovány pomocí římských číslic I, III, IV atd. Podmnožiny těchto obecných vzorců jsou uváděny jako Ia, Ib, Ic atd., ... IVa, IVb, IVc atd.

Sloučeniny obecného vzorce I je možno připravovat způsobem znázorněným v reakčním schématu 1 tak, že se

sloučenina obecného vzorce II (kde Prot představuje vhodnou chránicí skupinu) nechá reagovat s primárním aminem obecného vzorce III, čímž se získá sloučenina obecného vzorce IV. Po její deprotekci se získá sloučenina obecného vzorce I.

S c h e m a 1



Stupeň kopulace aminu s kyselinou je možno provádět tak, že se sloučenina obecného vzorce II nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce III (nebo její aminovou solí) za přítomnosti kopulačního činidla, popřípadě katalyzátoru a nadbytku akceptoru kyseliny, ve vhodném rozpouštědle. V typickém provedení se směs sloučenin obecného vzorce II a sloučenin obecného vzorce III nechá reagovat za přítomnosti kopulačního činidla (například dicyklohexylkarbodiimidu (DCC), 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (WSCDI), benzotriazol-1-yl-diethylfosfátu, oxychloridu fosforečného, chloridu titaničitého, sulfurylchloridemfluoridem, Lawesonovým činidlem, PPACA, PYBOP nebo Mukaiyamovým činidlem) popřípadě za přítomnosti terciární aminové báze (například triethylaminu, Hunigovy báze, pyridinu nebo NMM) po dobu až 24 hodin při teplotě -78 až 100°C. Za přednostních reakčních podmínek se reakce provádí tak, že se sloučenina obecného vzorce II (1 až 1,5 ekv.) nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce III

(nebo jejími solemi, 1 - 1,5 ekv.) za přítomnosti hydrochloridu 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (WSCDI) nebo N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu (DCC) (1,1 až 1,3 ekv.), hydrátu 1-hydroxybenzotriazolu (HOBT) nebo dimethylaminopyridinu (DMAP) (1,05 až 1,2 ekv.), N-methylmorpholinu nebo triethylaminu (DMAP) v dimethylformamidu nebo dichlormethanu při teplotě od teploty místnosti do 90°C po dobu 16 až 18 hodin.

Alternativně se stupeň kopulace kyseliny s aminem možno provádět přes aktivovaný meziprodukt) (jako acylimidazolid, směsný anhydrid nebo chlorid kyseliny) za přítomnosti nadbytku akceptoru kyseliny ve vhodném rozpouštědle. Jako typické podmínky lze uvést reakci sloučeniny obecného vzorce II s aktivačním činidlem (například N,N'-karbonyldiimidazolem, N,N'-karbonylbis(3-methylimidazolium)trifluormethansulfonátem, thionylchloridem nebo oxalylchloridem) popřípadě za přítomnosti terciární aminové báze (například triethylaminu, Hunigovy báze, pyridinu nebo NMM) po dobu až 24 hodin a následnou reakci se sloučeninou obecného vzorce III (nebo její soli) popřípadě za přítomnosti katalyzátoru (například 4-dimethylaminopyridinu) nebo přídavné látky (například hydroxybenzotriazolu) ve vhodném rozpouštědle (například dichlormethanu, tetrahydrofuranu, ethylacetátu, acetonitrilu, DMF nebo toluenu) popřípadě za přítomnosti přídavné aminové báze při teplotě od -78 do 150°C po dobu až 48 hodin.

Jako přednostní reakční podmínky lze uvést reakci chloridu kyseliny sloučeniny obecného vzorce II (1 až 1,1 ekv.) ve sloučeninou obecného vzorce III (nebo její soli, 1 až 1,5 ekv.) za přítomnosti triethylaminu nebo N-methylmorpholinu (1,4 až 10 ekv.) v dichlormethanovém rozpouštědle při teplotě místnosti po dobu 24 hodin. Alternativně je sloučeniny obecného vzorce II možno převádět na chlorid kyseliny in situ

reakcí s oxalylchloridem v dichlormethanu za přítomnosti katalytického množství dimethylformamidu během 2 hodin při teplotě místnosti nebo tak, že se sloučenina obecného vzorce II nechá reagovat s thionylchloridem ve směsi dichlormethanu a pyridinu při -10°C po dobu 3 hodin, načež se přidá triethylamin, 4-dimethylaminopyridin a sloučenina obecného vzorce III a směs se nechá reagovat 48 hodin při 20°C .

Sloučeniny obecného vzorce I je možno připravovat deprotekci sloučenin obecného vzorce IV. Způsoby deprotektce skupiny kyseliny závisí na chránící skupině. Příklady vhodné metodologie zavádění a odstraňování ochrany lze nalézt v publikaci "Protective groups in Organic synthesis", T. W. Greene a P. G. M. Wutz.

Například když Prot představuje terc-butylskupinu, deprotekční podmínky zahrnují reakci sloučeniny obecného vzorce IV se směsí trifluoroctové kyseliny a dichlormethanu (1 : 1 až 1,5 objemově) prováděnou při teplotě místnosti po dobu 2 až 18 hodin, popřípadě za přítomnosti zachycovače karbokationtu, například anisolu (10 ekv.). Když Y obsahuje hydroxyskupinu, může být nutné provést bázičnou hydrolýzu intermeriárního esteru trifluoroctové kyseliny. V případě, že Prot představuje terc-butylskupinu, je deprotekci možno provádět tak, že se sloučenina obecného vzorce IV nechá reagovat s kyselinou chlorovodíkovou v dichlormethanu při teplotě místnosti po dobu 3 hodin. terc-Butylskupina ve významu Prot však představuje pouhý příklad, a vynález se na terc-butylskupinu neomezuje.

Když Prot představuje terc-butylskupinu, je deprotekci možno provádět také tak, že se sloučenina obecného vzorce IV nechá reagovat se silnou kyselinou (například s plynným chlorovodíkem nebo koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou, kyselinou bromovodíkovou, kyselinou fosforečnou, kyselinou

dusičnou nebo kyselinou sírovou, kyselinou trifluoroctovou, kyselinou chloroctovou, kyselinou p-toluensulfonovou, kyselinou trifluormethansulfonovou nebo ledovou kyselinou octovou) v množstvích v rozmezí od katalytického množství do nadbytku, popřípadě za přítomnosti vhodného rozpouštědla (například toluenu, dichlormethanu, diethyletheru, ethanolu, tetrahydrofuranu nebo hexanu) a popřípadě za přítomnosti vody, při teplotě od asi 20 do asi 150°C po dobu až 48 hodin.

Jako přednostní deprotekční podmínky lze v případě, že Prot představuje terc-butylskupinu, uvést reakci sloučeniny obecného vzorce IV s desetinasobným nadbytkem trifluoroctové kyseliny v dichlormethanu prováděnou při teplotě místnosti po dobu 24 hodin.

Když Prot představuje benzylskupinu, deprotekční podmínky zahrnují reakci sloučeniny obecného vzorce IV s palladiem na uhlíku (5 až 10%) ve vodném ethanolu (40 až 95%) za tlaku 103,5 až 412,2 kPa prováděnou při teplotě místnosti po dobu 2 hodin až 3 dnů.

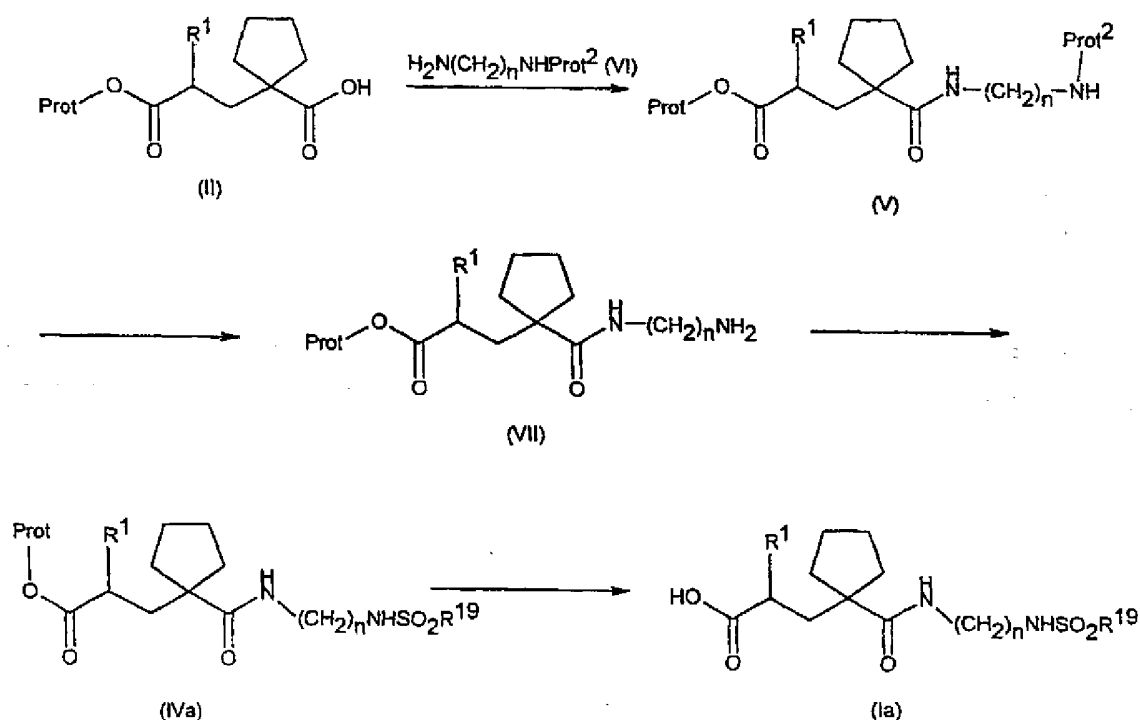
Tyto způsoby představují další aspekty tohoto vynálezu.

Sloučeniny obecného vzorce IV jsou nové a jsou dalším předmětem tohoto vynálezu.

Sloučeniny obecného vzorce Ia, tj. sloučeniny obecného vzorce I, kde Y představuje skupinu $-NHSO_2R^{19}$, je možno připravovat způsobem znázorněným v reakčním schematu 2. Nejprve se připraví sloučenina obecného vzorce V tak, že se sloučenina obecného vzorce II nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce VI, kde Prot² představuje vhodnou chránicí skupinu aminu. Přednostní reakční podmínky jsou podobné podmínkám popsaným výše v souvislosti s prováděním stupně kopulace

kyseliny a aminu podle schematu 1. Selektivní deprotekcí aminu sloučenin obecného vzorce V se získá sloučenina obecného vzorce VII. Sloučenina obecného vzorce VII se nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce $R^{19}SO_2Cl$ za přítomnosti akceptoru kyseliny ve vhodném rozpouštědle za vzniku sloučeniny obecného vzorce IVa. Deprotekcí sloučeniny obecného vzorce IVa prováděnou za podobných podmínek, jaké jsou popsány v souvislosti s deprotekcí stupně způsobu podle schematu 1 se získá sloučenina obecného vzorce Ia.

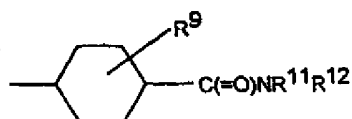
S c h e m a 2



Způsoby deprotekcí aminové skupiny jsou závislé na chránící skupině. Příklady vhodné metodologie zavádění a odstraňování ochrany lze nalézt v publikaci "Protective groups in Organic synthesis", T. W. Greene a P. G. M. Wutz. Například když $Prot^2$ představuje benzoyloxykarbonylskupinu, deprotekcí podmínky zahrnují reakci sloučeniny obecného vzorce V s palladiem na uhlíku (10%) v ethanolu prováděnou při teplotě místnosti po dobu 18 hodin.

V přednostním provedení se sloučeniny obecného vzorce IVa připravují tak, že se sloučenina obecného vzorce VII nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce $R^{13}SO_2Cl$ (1 ekv.) za přítomnosti triethylaminu (1,5 až 2,5 ekv.) v dichlormethanu při teplotě místnosti po dobu 2 až 3 dnů.

Sloučeniny obecného vzorce Ib, tj. sloučeniny obecného vzorce I, kde n představuje číslo 0 a Y představuje skupinu vzorce

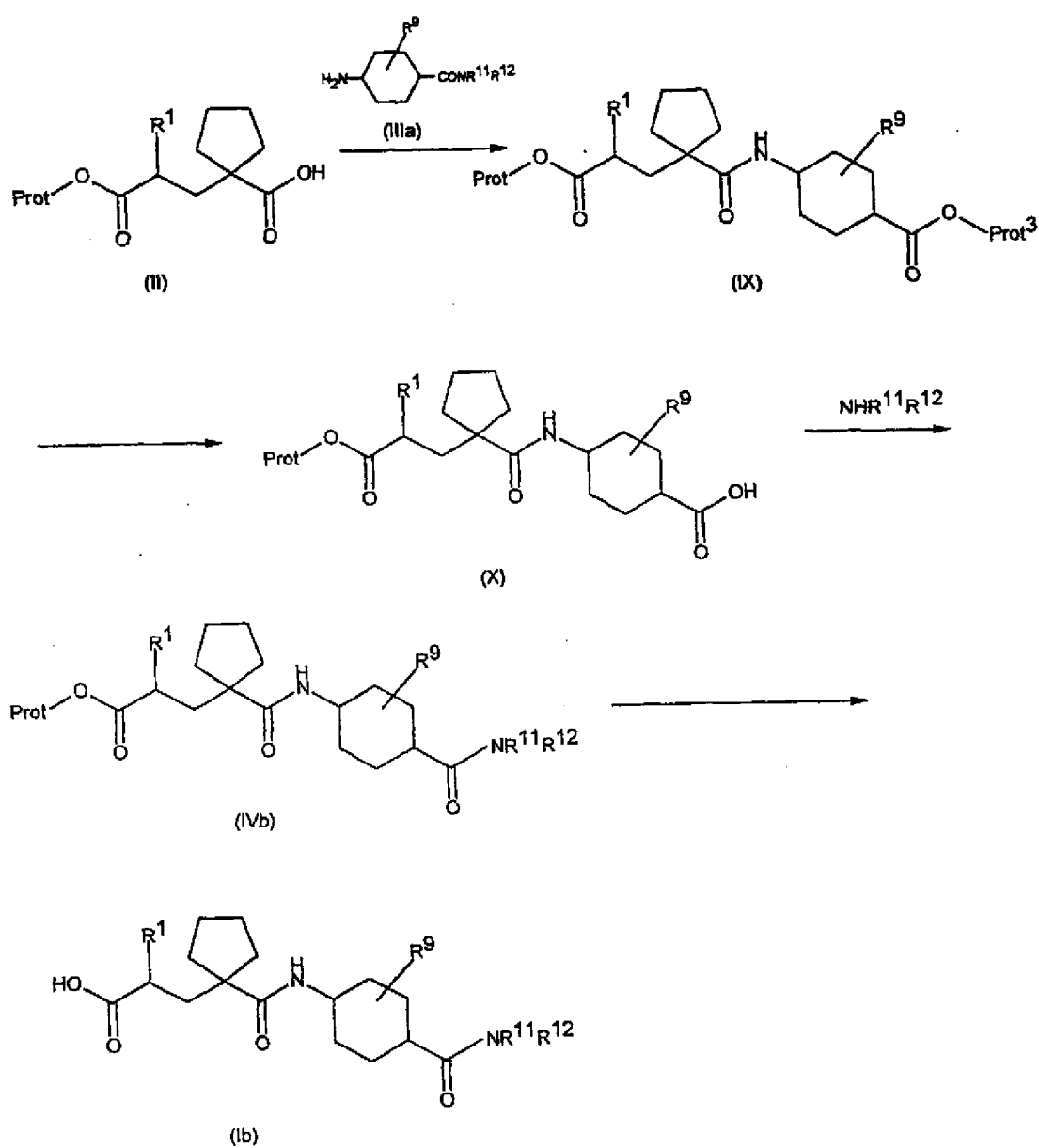


je možno připravovat způsobem znázorněným ve schematu 3. Sloučenina obecného vzorce II se nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce IIIa za podobných podmínek, jakých se používá ve stupni kopulace kyseliny s aminem při způsobu podle schematu 1, čímž se získá sloučenina obecného vzorce IX, kde $Prot^3$ představuje chránicí skupinu, kterou je za přítomnosti chránicí skupiny $Prot$ možno selektivně odstranit. Jako přednostní chránicí skupiny $Prot^3$ je možno uvést skupiny esterů labilních vůči působení bází. Reakcí sloučeniny obecného vzorce IX za bážických podmínek se získá sloučenina obecného vzorce X. Sloučenina obecného vzorce X se nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce $NHR^{11}R^{12}$ za podobných podmínek, jakých se používá ve stupni kopulace kyseliny s aminem při způsobu podle schematu 1, čímž se získá sloučenina obecného vzorce IVb. Deprotekci sloučeniny obecného vzorce IVb lze provádět za podobných podmínek, jakých se používá ve stupni deprotektce způsobu podle schematu 1, čímž se získá sloučenina obecného vzorce Ib.

Jako přednostní podmínky pro odstraňování chránicí skupiny $Prot^3$ ze sloučenin obecného vzorce IVb lze uvést

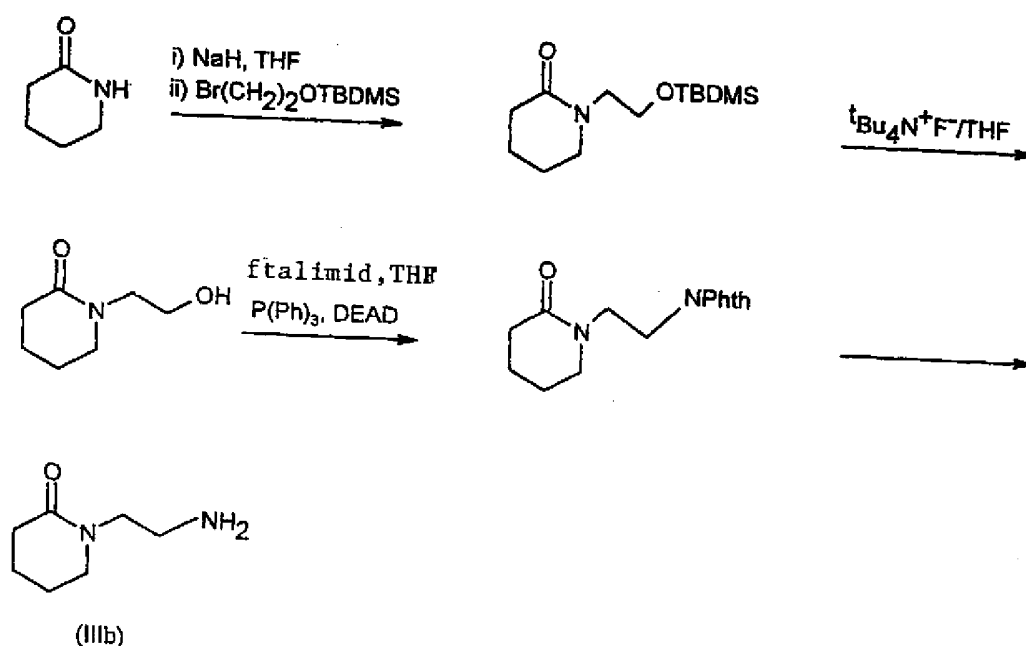
reakci sloučeniny obecného vzorce IVb s hydroxidem sodným (1M)
v methanolu prováděnou při teplotě místnosti po dobu 22 hodin.

S c h e m a 3



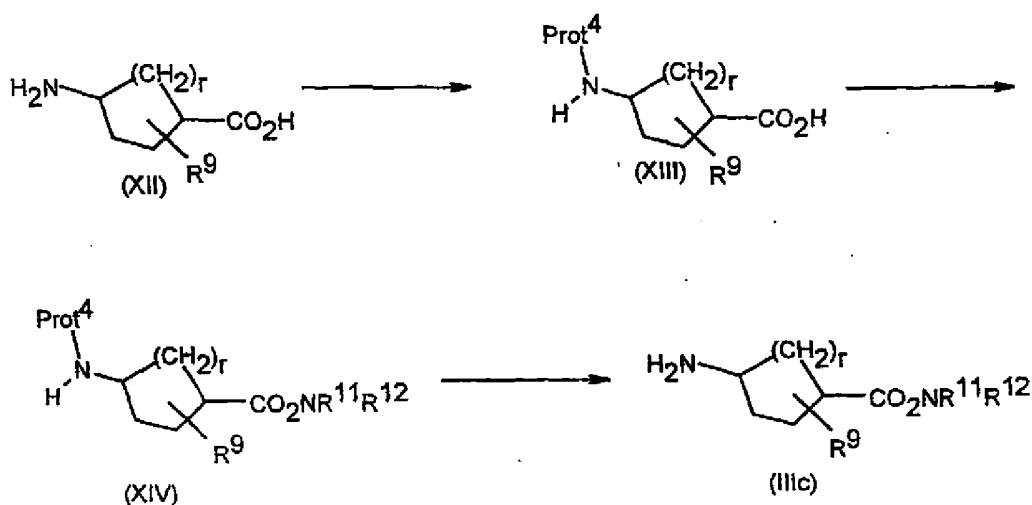
Sloučeniny obecného vzorce IIIb, tj. sloučeniny obecného vzorce III, kde n představuje číslo 2 a Y představuje 2-oxo-piperidinoskupinu, je možno připravovat způsobem znázorněným ve schématu 4.

S c h e m a 4



Sloučeniny obecného vzorce IIIc, kde r představuje číslo 1 nebo 2, je možno připravovat způsobem znázorněným ve schématu 5. Sloučeniny obecného vzorce XII se na aminovém zbytku chrání vhodnou chránicí skupinou Prot^4 za vzniku sloučenin obecného vzorce XIII. Jako přednostní chránicí skupinu lze uvést terc-butyloxykarbonylskupinu. Sloučenina obecného vzorce XIII se za typických podmínek pro kopulaci kyseliny s aminem nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce $\text{NHR}^{11}\text{R}^{12}$ za vzniku sloučeniny obecného vzorce XIV, z níž se deprotekcí získá sloučenina obecného vzorce IIIc.

S c h e m a 5



Jako typické podmínky pro zavádění terc-butyloxykarbo-
nylové chránicí skupiny lze uvést reakci sloučeniny obecného
vzorce XII s (terc-butyloxykarbonyl)₂O v dioxanu a 2M
hydroxidu sodném prováděnou při teplotě místnosti po dobu 18
hodin.

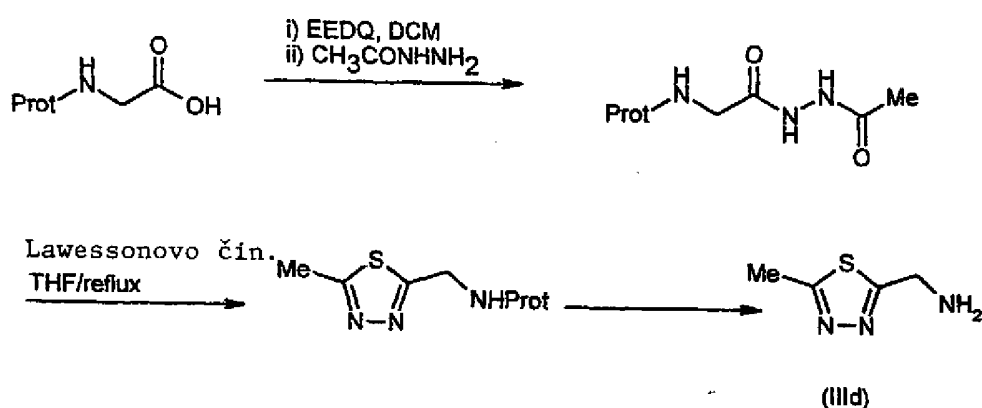
Jako typické podmínky pro kopulaci kyseliny s aminem lze
uvést reakci sloučenin obecného vzorce III a $\text{NHR}^{11}\text{R}^{12}$ za
použití benzotriazol-1-yloxytris(pyrrolidino)fosfoniumhexa-
fluorofosfátu (PYBOP), hydrátu 1-hydroxybenzotriazolu (HOBT),
Hunigovy báze, aminu (například triethylaminu) v dimethyl-
formamidu, prováděnou při teplotě místnosti po dobu 2 hodin.
Alternativně je reakci sloučeniny obecného vzorce XIII a
 $\text{NHR}^{11}\text{R}^{12}$ možno provádět za použití hydrochloridu 1-(3-dimethyl-
aminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu, HOBT, N-methylmorfolinu
(NMM) v dimethylformamidu po dobu 18 hodin při teplotě
místnosti.

Jako typické podmínky pro deprotekcii v případě, že Prot^4
představuje terc-butyloxykarbonylskupinu, lze uvést reakci
sloučeniny obecného vzorce XIV s kyselinou chlorovodíkovou

nebo kyselinou trifluoroctovou v dichlormethanu prováděnou při teplotě místnosti po dobu 2 až 4 hodin.

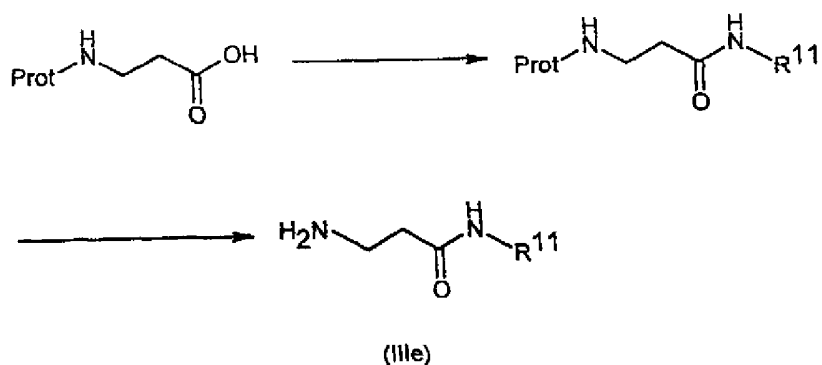
Sloučeniny obecného vzorce IIId lze připravovat způsobem znázorněným v reakčním schematu 6. Chránicí skupinou je přednostně terc-butyloxykarbonylskupina, kterou je možno odstraňovat za standardních podmínek popsaných výše.

S c h e m a 6



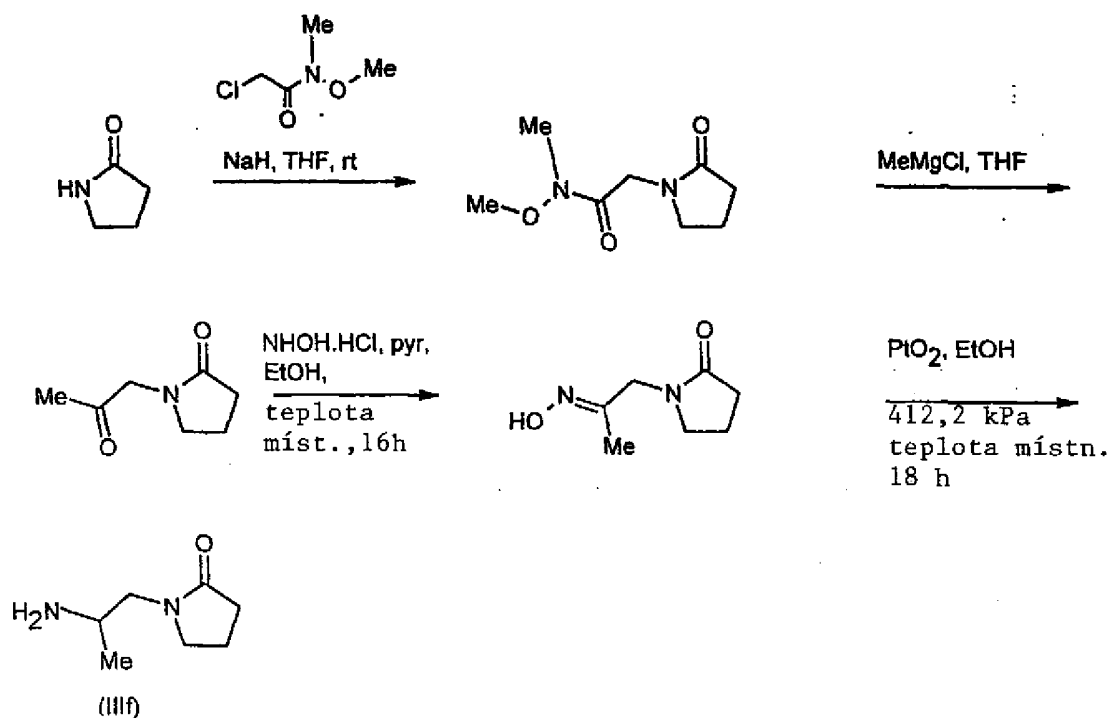
Sloučeniny obecného vzorce IIIe je možno připravovat způsobem znázorněným ve schematu 7 za použití standardních podmínek kopulační reakce kyseliny s aminem popsaných výše. Chránicí skupinou je přednostně benzyloxykarbonylskupina, kterou je možno odstraňovat za standardních podmínek, typicky za použití palladia na uhlíku (5 až 10%) v ethanolu při teplotě místnosti za tlaku 343,5 kPa po dobu 4 hodin.

S c h e m a 7



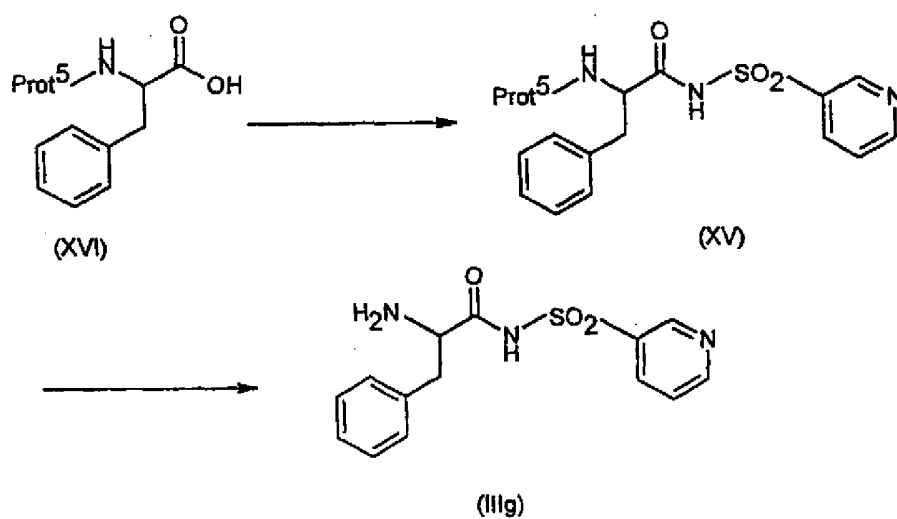
Sloučeniny obecného vzorce IIIf je možno připravovat způsobem znázorněným ve schématu 8.

S c h e m a 8



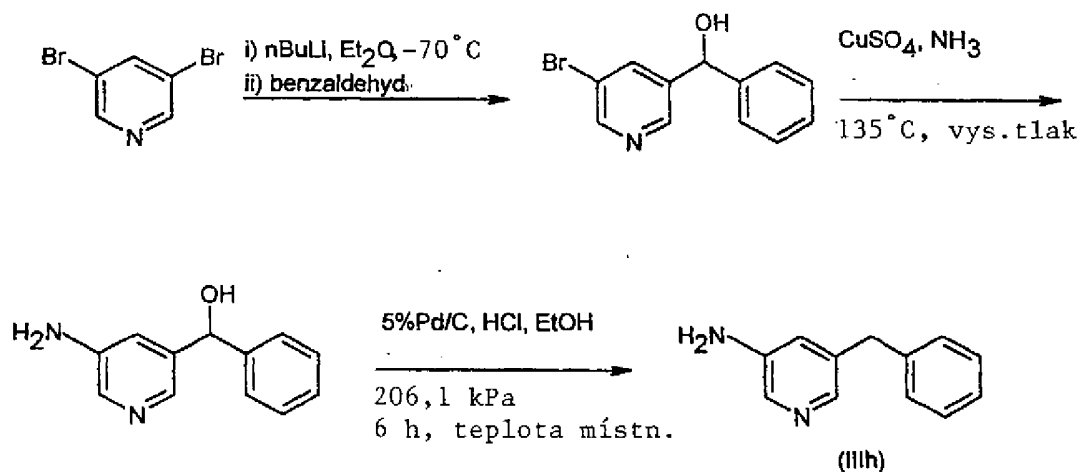
Sloučeniny obecného vzorce IIIg je možno připravovat ve dvou stupních způsobem znázorněným ve schématu 9. V prvním stupni je možno připravit sloučeninu obecného vzorce XV ze sloučeniny obecného vzorce XVI za použití standardních podmínek kopulace kyseliny s aminem, které jsou podobné jako podmínky kopulace kyseliny s aminem popsané ve způsobu podle schématu 1. Prot⁵ představuje vhodnou odstupující skupinu, přednostně terc-butoxykarbonylskupinu. Ve druhém stupni se odstraní chránicí skupina Prog⁵. Když Prot⁵ představuje terc-butoxykarbonylskupinu, přednostní reakční podmínky zahrnují působení kyseliny chlorovodíkové ve směsi diethyletheru a ethylacetátu po dobu 18 hodin při teplotě místnosti.

S c h e m a 9



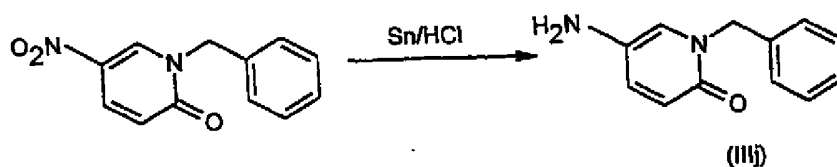
Sloučeniny obecného vzorce IIIh je možno připravovat ve tří stupních podle schématu 10.

S c h e m a 10



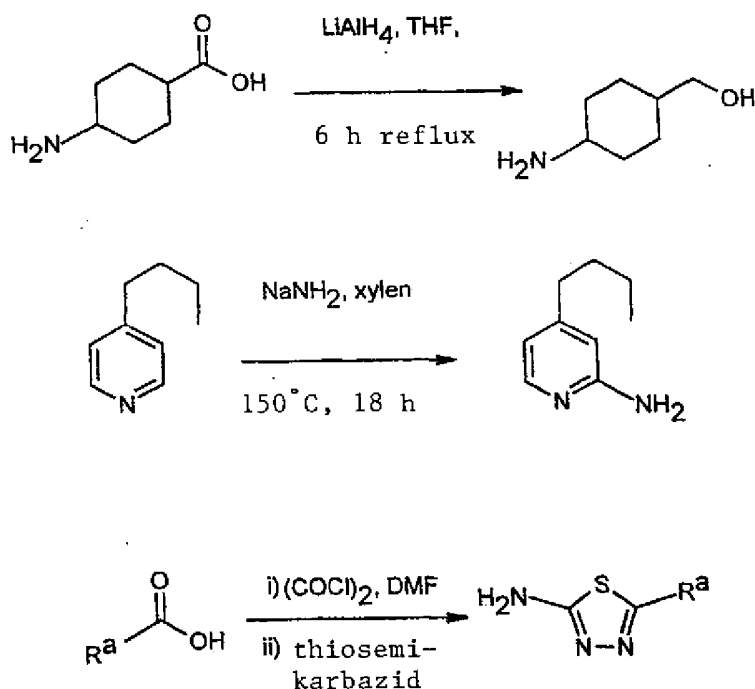
Sloučeniny obecného vzorce IIIj je možno připravovat redukcí nitroskupiny způsobem znázorněným v reakčním schématu 11.

S c h e m a 1 1



Další způsoby výroby sloučenin obecného vzorce III jsou znázorněny ve schématu 12, kde R^a představuje C_{1-6} alkylskupinu nebo alkoxyskupinu.

S c h e m a 1 2

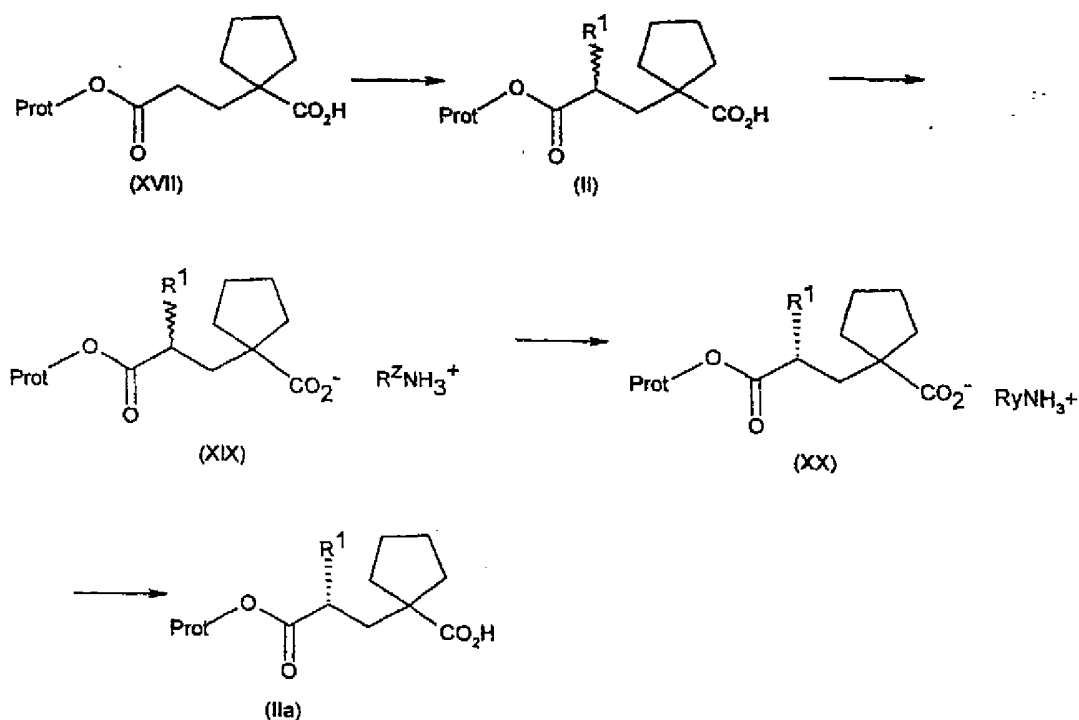


Sloučeniny obecného vzorce I obsahují centrum chiralitity na uhlíku připojeném k R^1 . Jednotlivé enantiomery sloučenin obecného vzorce I je možno získat různými způsoby, které jsou odborníkům v tomto oboru známy, jako je příprava z odpovídajících opticky čistých meziproductů nebo optické štěpení. Přednostním způsobem optického štěpení je příprava přes (+)-pseudoefedrinovou sůl (viz preparativní postup 2). Alternativně je možno připravovat chirální sloučeniny obecného vzorce I z chirálních sloučenin obecného vzorce II dále popsaným způsobem.

Řada sloučenin obecného vzorce II je známa (viz EP274234 B1 a WO 91/13054). Jiné sloučeniny obecného vzorce II lze připravovat podobným způsobem.

Chirální sloučeniny obecného vzorce IIa je možno připravovat ze sloučenin obecného vzorce XVI znázorněným ve schématu 13.

S c h e m a 13



Sloučeniny obecného vzorce II je možno připravovat tak, že se sloučenina obecného vzorce XVII nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce R^1-X^2 (kde X^2 představuje halogen) za silně báziických podmínek popřípadě za přítomnosti přídavného činidla v aprotickém rozpouštědle.

Při typických reakčních podmínkách se nejprve nechá reagovat sloučenina obecného vzorce XVII s alespoň dvojnásobným nadbytkem silné báze (například diisopropylamidu lithného, hexamethyldisilazidu lithného, sodného nebo draselného, alkyl-lithia, alkylmagnesia nebo fosfazanové báze) v aprotickém rozpouštědle (například tetrahydrofuranu, diethyletheru, hexanu, heptanu nebo ethylbenzenu nebo směsi těchto rozpouštědel), popřípadě za použití přídavného činidla (například TMEDA, DMPU nebo HMPA) při teplotě -78°C až teplotě místnosti a poté se při -78°C přidá sloučenina vzorce R^1-X^2 (například allylbromid, propylbromid nebo methyljodid) a vzniklá směs se přes noc míchá, přičemž se zahřeje na teplotu místnosti. Po vhodném zpracování se získá sloučenina obecného vzorce II.

Za přednostních reakčních podmínek přípravy sloučenin obecného vzorce II, kde R^1 představuje allylskupinu, se sloučenina obecného vzorce XVII (1 mol. ekv.) nechá reagovat s diisopropylamidem lithným (2,3 ekv.) ve směsi tetrahydrofuranu, n-heptanu a ethylbenzenu 4 hodiny při -10°C . Po přidavku allylbromidu (1,2 ekv.) při -10°C se reakční směs 2 hodiny míchá při -10°C , poté během 4 hodin nechá zahřát na 20°C a při 20°C míchá dalších 15 hodin.

Sloučeniny obecného vzorce IIb je možno získat přímo štěpením sloučenin obecného vzorce II. Přednost se však dává přípravě přes aminovou sůl obecného vzorce XIX (tj. $R^2-NH_3^+$), po níž následuje přečištění překrystalováním.

Jako typické soli je možno uvést triethylaminové, isopropylaminové, triethanolaminové nebo cyklohexylaminové soli. Za typických reakčních podmínek se sloučenina obecného vzorce II nechá reagovat s požadovaným aminem ve vhodném rozpouštědle (například hexanu, heptanu nebo toluenu) při zvýšené teplotě, která se během 24 hodin sníží, aby se indukovala krystalizace, a produkt se překrystaluje ze stejného nebo jiného rozpouštědla, popřípadě při zvýšené teplotě.

Přednostní solí je cyklohexylaminová sůl. Za přednostních reakčních podmínek se sloučenina obecného vzorce II (1 mol. ekv.) nechá reagovat s cyklohexylaminem (1 ekv.) při 20°C v heptanu a produkt se překrystaluje z ethylacetátu při teplotě 70°C, která se během 2 hodin sníží na 50°C, aby se indukovala krystalizace. Směs se poté během 2 hodin ochladí na 20°C a 0,5 hodiny míchá.

Sloučeniny obecného vzorce XX (kde $R^YNH_3^+$ představuje chirální kation) je možno připravovat ze sloučenin obecného vzorce XIX okyslením ve vhodném rozpouštědlovém systému, který popřípadě obsahuje vodu, za použití silné kyseliny a vzniklá karboxylová kyselina se poté podrobí klasickému optickému štěpení.

Za typických reakčních podmínek se sloučenina obecného vzorce XX ve dvoufázovém systému obsahujícím vodu a nemísitelné organické rozpouštědlo (například heptan, toluen, ethylacetát, diethylether nebo dichlormethan) nechá reagovat se silnou kyselinou (například kyselinou chlorovodíkovou, kyselinou sírovou, kyselinou p-toluensulfonovou, kyselinou trifluoroctovou nebo kyselinou fosforečnou) při teplotě 0 až 100°C za vzniku volné karboxylové kyseliny, na kterou se působí neracemickou chirální aminovou bází (například α -methyl-benzylaminem, pseudoefedrinem, efedrinem, norefedrinem,

alkaloidem chinovníku, esterem aminokyseliny, aminoalkoholem, jako 2-pyrrolidinmethanolem nebo chinuklidin-3-olem) popřípadě v rozpouštědle (například esteru, alkanu, aromatickém uhlovodíku, halogenalkanu, etheru nebo alkoholu) při teplotě 0 až 150°C, čímž se získá surová sůl. Tato sůl se poté jednou nebo vícekrát překrystaluje ze stejného nebo jiného rozpouštědla při teplotě 0 až 150°C, čímž se získá chirální sůl.

Přednostní soli je pseudoefedrinová sůl. Za přednostních reakčních podmínek se na suspenzi sloučeniny obecného vzorce XX ve směsi vody a n-heptanu při teplotě místnosti působí zředěnou kyselinou chlorovodíkovou, dokud pH vodné fáze nedosáhne hodnoty 3, čímž se získá volná kyselina. Tato karboxylová kyselina se poté nechá při 80°C reagovat s (1S,2S)-(+) -pseudoefedrinem (1 ekv.) v n-heptanu. Reakční směs se během 2 hodin ochladí na 45°C, aby se indukovala krystalizace, poté během 2 hodin ochladí na 20°C a 4 hodiny míchá. Poté následuje překrystalování z n-heptanu při 80°C, poté ochlazení během 2 hodin na 60°C, aby se indukovala krystalizace, a ochlazení na 20°C během 2 hodin a 1,5hodinové míchání.

Sloučeniny obecného vzorce IIa je možno připravovat ze sloučenin obecného vzorce XX okyselením ve vhodném rozpouštědlovém systému, který popřípadě obsahuje vodu, za použití silné kyseliny.

Typické reakční podmínky zahrnují reakci sloučeniny obecného vzorce XX ve dvoufázovém systému obsahujícím vodu a nemísitelné organické rozpouštědlo (například heptan, toluen, ethylacetát, diethylether nebo dichlormethan) a silné kyseliny (například kyseliny chlorovodíkové, kyseliny sírové, kyseliny p-toluensulfonové, kyseliny trifluoroctové nebo kyseliny

fosforečné) při teplotě od 0 do 100°C, čímž se získá sloučení-
na obecného vzorce IIa.

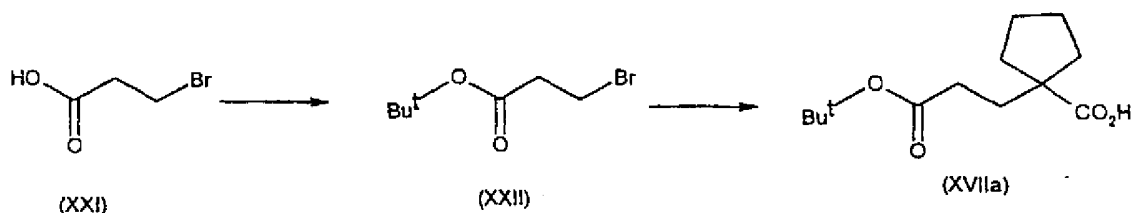
Za přednostních podmínek se na suspenzi sloučeniny obec-
ného vzorce XX ve směsi vody a n-heptanu působí zředěnou
kyselinou chlorovodíkovou při teplotě místnosti, dokud pH
vodné fáze nedosáhne hodnoty 3, čímž se získá volná kyselina.

Sloučeniny obecného vzorce IIa je možno připravovat
hydrogenací odpovídající sloučeniny, kde R^1 je nenasycený.
Typické reakční podmínky zahrnují míchání pod atmosférou
vodíku ve vhodném rozpouštědle za přítomnosti katalyzátoru
(například palladia, platiny, niklu, iridia, rhodia nebo
ruthenia popřípadě naadsorbovaného na vhodném nosiči, jako
uhlíku, alumině, síranu barnatém, uhličitanu vápenatém nebo ve
formě soli, jako hydroxidu palladnaného nebo směsi solí, jako
 H_2PtCl_6 a $SnCl_2 \cdot 2H_2O$, nebo ve formě komplexu, jako je
Wilkinsonův katalyzátor, Crabtreeův katalyzátor, $Co_2(CO)_8$,
 $RhH(PPh_3)_4$ nebo $[Co(CN)_6]^{3-}$) při teplotě v rozmezí od teploty
místnosti do 150°C a za tlaku vodíku 206,1 až 1030,5 kPa.

Při přednostním způsobu je sloučeniny obecného vzorce
IIa, kde R^1 představuje propylskupinu, možno připravovat
hydrogenací odpovídající allylové sloučeniny. Přednostní
reakční podmínky zahrnují míchání ethanolického roztoku
nenasycené karboxylové kyseliny pod atmosférou vodíku za
přítomnosti 9 % hmotn. 5% palladia na uhlíku při teplotě
místnosti po dobu 24 hodin.

Sloučeniny vzorce XVIIa, tj. sloučeniny obecného vzorce
XVII, kde Prot představuje terc-butylskupinu, je možno
připravovat ve dvou stupních ze sloučenin vzorce XXI
dostupných na trhu způsobem znázorněným ve schématu 14.

S c h e m a 1 4



Sloučeniny vzorce XXII je možno připravovat ze sloučenin vzorce XXI tak, že se sloučenina vzorce XXI uvede do styku se zdrojem terc-butylového kationtu nebo terc-butoxidem za použití vhodného katalyzátoru a/nebo dehydratačního činidla ve vhodném bezvodém rozpouštědle popřípadě při zvýšené teplotě, nebo aktivací karboxylové kyseliny a následnou reakcí s terc-butanolem.

Typické reakční podmínky zahrnují reakci sloučeniny vzorce XXI s katalytickými množstvími kyseliny (například kyseliny fosforečné, kyseliny chlorovodíkové, kyseliny sírové, kyseliny dusičné, kyseliny p-toluensulfonové nebo kyseliny trifluoroctové) za přítomnosti isobutylenu, terc-butanolu, terc-butylhalogenidu nebo terc-butyletheru ve vhodném rozpouštědle (například dichlormethanu, tetrahydrofuranu nebo toluenu) při teplotě -20 až 150°C po dobu až 48 hodin.

Alternativní reakční podmínky zahrnují reakci sloučeniny vzorce XXI s kombinací terciární aminové báze (například triethylaminu, Hunigovy báze, pyridinu nebo NMM) a dehydratačního činidla (například dicyklohexylkarbodiimidu, alkylchlorformiátu, fenylchlorfosfátu, 2-chlor-1,3,5-trinitrobenzenu, di-2-pyridylkarbonátu, 1,1'-karbonyldiimidazolu, (trimethylsilyl)ethoxyacetyleny, N,N'-karbonylbis(3-methylimidazolium)-trifluormethansulfonátu nebo azodikarboxylátu) a trifenyl-

fosfinu a následný přídavek terc-butanolu, popřípadě za přítomnosti katalyzátoru, jako 4-dimethylaminopyridinu ve vhodném rozpouštědle (například dichlormethanu, tetrahydrofuranu nebo toluenu) při teplotě -20 až 150°C po dobu až 48 hodin.

Ještě další reakční podmínky zahrnují převedení sloučeniny vzorce XXI na chlorid kyseliny za použití thionylchloridu, oxalylchloridu nebo Ghosezova činidla popřípadě za přítomnosti terciární aminové báze (například triethylaminu, Hunigovy báze, pyridinu nebo NMM) a následné působení terc-butanolu, popřípadě za přítomnosti katalyzátoru, jako 4-dimethylaminopyridinu ve vhodném rozpouštědle (například dichlormethanu, tetrahydrofuranu nebo toluenu) při teplotě -20 až 150°C po dobu až 48 hodin.

Přednostní reakční podmínky zahrnují reakci sloučeniny vzorce XXI s isobutylenem (5 ekv.), koncentrovanou kyselinou sírovou (0,15 ekv.) a terc-butanolem (0,16 ekv.) v dichlormethanu za míchání při -10 až 25°C po dobu 24 hodin.

Sloučeniny vzorce XVIIa je možno připravovat ze sloučenin vzorce XXII působením cyklopentankarboxylové kyseliny za silně bázických podmínek v aprotickém rozpouštědle, popřípadě za přítomnosti přídavného činidla.

Typické podmínky zahrnují reakci cyklopentankarboxylové kyseliny s alespoň dvojnásobným nadbytkem silné báze (například diisopropylamidu lithného, hexamethyldisilazidu lithného, sodného nebo draselného, alkyllithia, alkalmagnesia nebo fosfazenové báze) v aprotickém rozpouštědle (například tetrahydrofuranu, diethyletheru, hexanu, heptanu nebo ethylbenzenu nebo jejich směsi) popřípadě za přítomnosti přídavného činidla (například TMEDA, DMPU nebo HMPA) při teplotě -78 až 50°C po dobu až 24 hodin a následný přídavek

sloučeniny v zorce XXII a reakci prováděnou při -20°C po dobu až 24 hodin a vhodné zpracování.

Přednostní reakční podmínky zahrnují reakci cyklopentan-karboxylové kyseliny s diisopropylamidem lithným (2,15 ekv.) ve směsi tetrahydrofuranu, n-heptanu a ethylbenzenu prováděnou při -15°C o dobu 3 hodin, následnou reakci s terc-butyl-3-brompropionátem (1,06 ekv.) v tetrahydrofuranu prováděnou při -15°C po dobu 15 hodin a následně zahřátí na teplotu místnosti.

Sloučeniny obecného vzorce II jsou dostupné na trhu, známé z dosavadního stavu techniky nebo je možno je připravovat ze známých sloučenin za použití způsobů, které jsou známé nebo které jsou popsány v tomto dokumentu (viz příklady provedení a preparativní postupy).

Farmaceuticky vhodné soli sloučenin obecného vzorce I je možno snadno připravovat tak, že se smísí roztok sloučenin obecného vzorce I a podle potřeby požadované kyseliny nebo báze. Sůl je z roztoku možno vysrážet a shromáždit filtrací nebo ji lze izolovat odpařením rozpouštědla.

Sloučeniny podle vynálezu je při léčení FSD možno kombinovat s jedním nebo více činidly, kterými jsou

1) jeden nebo více z přirozených nebo syntetických prostaglandinů nebo jejich esterů; jako vhodné prostaglandiny je možno uvést sloučeniny jako alprostadil, prostaglandin E_1 , prostaglandin E_0 , 13,14-dihydroprostaglandin E_1 , prostaglandin E_2 , eprostinol, přirozené, syntetické a polosyntetické prostaglandiny a jejich deriváty, jako jsou sloučeniny popsány ve WO00/033825 a/nebo US 6 037 346, vydaném 14. března 2000, které jsou citovány náhradou za přenesení jejich obsahu do

tohoto textu, PGE_0 , PGE_1 , PGA_1 , PGB_1 , PGF_1 α , 19-hydroxy PGA_1 , 19-hydroxy- PGB_1 , PGE_2 , PGB_2 , 19-hydroxy- PGA_2 , 19-hydroxy- PGB_2 , $\text{PGE}_3\alpha$, karboprost tromethamin, dinoprost tromethamin, dinoprostun, lipoprost, gemeprost, metenoprost, sulproston, tiaprost a moxisylát;

2) jedna nebo více z látek, které jsou antagonisty α -adrenergického receptoru, také známé jako α -adrenoceptory či α -receptory či α -blokátory; jako vhodné sloučeniny tohoto typu je možno uvést blokátory α -adrenergického receptoru, jak jsou popsány v PCT přihlášce WO99/30697, zveřejněné 14. června 1998, která je citována náhradou za přenesení jejího obsahu týkajícího se α -adrenergických receptorů do tohoto textu, jako jsou selektivní blokátory α_1 -adrenoceptoru nebo α_2 -adrenoceptoru a neselektivní blokátory adrenoceptoru, jako je fentolamin, fentolamin mesylát, trazodon, alfuzosin, indoramin, naftopidil, tamsulosin, dapiprazol, fenoxymetazolin, idazoxan, efaraxan, yohimbin, alkaloid rauwolfie, Recordati 15/2739, SNAP 1069, SNAP 5089, RS17053, SL 89.0591, doxazosin, terazosin, abanokvil a prazosin; α_2 -blokátory z US 6 037 346 (14. března 2003) dibenarnin, tolazolin, trimazosin a dibenarnin; α -adrenergické receptory popsané v US patentech 4 188 390; 4 026 894; 3 511 836; 4 315 007; 3 527 761; 3 997 666; 2 503 059; 4 703 063; 3 381 009; 4 252 721 a 2 599 000, které jsou citovány náhradou za přenesení jejich obsahu do tohoto textu; blokátory α_2 -adrenoreceptorů, jako clonidin, papaverin, papaverin hydrochlorid, popřípadě za přítomnosti popřípadě za přítomnosti kariotonického činidla, jako pirxaminu);

(3) jednou nebo více z NO-donorních (NO-agonistických) sloučenin (jako vhodné NO-donorní sloučeniny pro použití podle tohoto vynálezu lze uvést organické nitráty, jako mono-, di- nebo trinitráty nebo estery kyseliny dusičné, jako je glyceryl

trinitrát (také známý jako nitroglycerin), isosorbid-5-mono-nitrát, isosorbid dinitrát, pentaerythritol tetranitrát, erythrityl tetranitrát, nitroprusid sodný (SNP), 3-morfolinosydnonimin molsidomin, S-nitroso-N-acetylpenicilliamin (SNAP), S-nitroso-N-glutathion (SNO-GLU), N-hydroxy-L-arginin, amylnitrát, linsidomin, linsidomin chlorhydrát, (SIN-1) S-nitroso-N-cystein), diazenium dioláty, (NONOáty), 1,5-pentandinitrát, L-arginen, žen-šen, plody jujuby (*Ziziphus*), molsidomin, Re-2047, nitrosylované deriváty maxisylytu, jako NMI-678-11 a NMI-937, popsané v PCT přihlášce zveřejněné jako WO/0012075);

4) jedna nebo více z látek, které otevírají draslíkový kanál (jako vhodné látky otevírající draslíkový kanál je možno uvést nikorandil, kromokalim, levkromakalin, lemakalim, pinacidil, kliazoxid, minoxidil, charybdotoxin, glyburid, 4-aminipyridin, chlorid barnatý);

5) jedno nebo více u dopaminergických činidel, jako jsou přednostně apomorfin a selektivní D₂, D₃ nebo D₂/D₃ agonisty, jako pramipexol (jak jsou nárokovány ve WO00/23056), PNU95666 (jak je nárokován ve WO00/40226);

6) jedno nebo více z vasodilatačních činidel (jako vasodilatační činidla vhodná z hlediska tohoto vynálezu lze uvést nimodepin, pinacidil, cyklandelát, isoxsuprin, chlorprumazine, haloperidol, Rec 15/2739, trazodon);

7) jeden nebo více z agonistů thromboxanu A₂;

8) jedno nebo více z CNS aktivních činidel;

9) jeden nebo více z alkaloidů námele (jako vhodné alkaloidy námele je možno uvést látky popsané v US patentu

6 037 346, vydaném 14. 3. 2000, jako je acetergamin, brazer-golin, bromergurid, cianergolin, delorgotril, disulergin, ergonovin maleát, ergotamin tartrát, etisulergin, lergotril, lysergid, mesulergin, metergolin, metergotamin, cinergolin, pergolid, propisergid, protergurid a tergurid);

10) jedna nebo více ze sloučenin, které modulují působení atriálního natriuretického faktoru (také známého jako atriální natriuretický peptid), natriuretických faktorů typu B a C, jako jsou inhibitory neutrální endopeptidasy;

11) jedna nebo více ze sloučenin, které inhibují enzym konvertující angiotensin, jako enapril, a kombinovaných inhibitorů enzymu konvertujícího angiotensin a neutrální endopeptidasy, jako je omapatrilat;

12) jeden nebo více z antagonistů receptoru angiotensinu, jako je losartan;

13) jeden nebo více ze substrátů pro NO-synthasu, jako je L-arginin;

14) jeden nebo více z blokátorů vápníkového kanálu, jako je amlodipin;

15) jeden nebo více z antagonistů receptoru endothelinu a inhibitorů enzymu konvertujícího endothelin;

16) jedno nebo více z činidel snižujících cholesterol, jako jsou statiny (například atorvastatin/Lipitor®) a fibráty;

17) jedno nebo více z protidestičkových a anti-thrombotických činidel, jako jsou například tPA, uPA,

warfarin, hirudin a jiné inhibitory thrombinu, heparin, a inhibitory thromboplastinového aktivačního faktoru;

18) jedno nebo více z činidel zvyšujících citlivost na inzulin, jako je rezulin, a hypoglykemických činidel, jako je glypizid;

19) L-DOPA nebo karbidopa;

20) jeden nebo více z inhibitorů acetylcholinesterasy, jako je donezipil;

21) jedno nebo více ze steroidních nebo nesteroidních protizánětlivých činidel;

22) jeden nebo více z modulátorů receptoru estrogenu a/nebo agonistů estrogenu a/nebo antagonistů estrogenu, přednostně raloxifen nebo lasofoxifen, (-)-cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yloethoxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydraftýlen-2-ol a jeho farmaceuticky vhodné soli, které jsou podrobně popsány ve WO 96/1656;

23) jeden nebo více z modulátorů kanabinoidních receptorů;

24) jeden nebo více z inhibitorů neuropeptidu Y (NPY), konkrétněji inhibitor NPY1 nebo NPY5, přednostně inhibitor NPY1, přednostně inhibitorů NPY (včetně NPY1 a NPY5) s hodnotou IC_{50} méně než 100nM, výhodněji méně než 50nM (stanovení, kterým lze identifikovat inhibitory NPY je popsáno ve WO-A-98/52890, str. 96, ř. 2 až 28);

25) jedno nebo více činidel ze souboru zahrnujícího vasoaktivní intestinální protein (VIP), mimetika VIP, analoga

VIP, konkrétně zprostředkované jedním nebo více subtypy receptoru VIP VPAC1, VPAC2 nebo PACAP (hypofyzární peptid aktivující adenylát cykласu), jeden nebo více z agonistů receptorů VIP a analogů VIP (například Ro-125-1553) nebo fragmentů VIP, jeden nebo více z antagonistů α -adrenoceptoru v kombinaci s VIP (například Invicorp, Aviptadil);

26) jeden nebo více z agonistů nebo modulátorů receptoru melanokortinu nebo zesilovačů melanokortinu, jako jsou melatonin II, PT-14, PT-141 nebo sloučeniny nárokované ve WO-09964002, WO-00074679, WO-09955679, WO-00105401, WO-00058361, WO-00114879, WO-00113112, WO-09954358;"

27) jeden nebo více z agonistů, antagonistů a modulátorů receptoru serotoninu, konkrétněji agonistů, antagonistů nebo modulátorů receptorů 5HT1A (včetně VML 670), 5HT2A, 5HT2C, 5HT3 a/nebo 5HT6, jako jsou činidla popsaná ve WO-09902159, WO-00002550 a/nebo WO-00028993;

28) jedno nebo více z činidel pro substituci testosteronu (jako dehydroandrostendion), testosteron (Tostrelle) nebo testosteronový implantát,

29) jedno nebo více z činidel pro terapeutickou substituci estrogenu, estrogenu a medroxyprogesteronu nebo medroxyprogesteronacetátu (MPA) (tzn. v kombinaci) nebo estrogenu a methyltestosteronu (například HRT, zejména Premarin, Cenestin, Oestrofeminal, Equin, Estrace, Estrofem, Elleste Solo, Estring, Eastraderm, Eastraderm TTS, Eastraderm Matrix, Dermestril, Premphase, Prempro, Prempak, Premique, Estratest, Estratest HS, Tibolone);

30) jeden nebo více z modulátorů transportérů noradre-
nalinu, dopaminu a/nebo serotoninu, jako je bupropion, GW-
320659;

31) jeden nebo více z agonistů a/nebo modulátorů purin-
ergických receptorů;

32) jeden nebo více z antagonistů receptoru neurokininu
(NK), jako jsou antagonisty popsané ve WO-09964008;

33) jeden nebo více z agnístů, antagonistů nebo
modulátorů opioidního receptoru, přednostně agonisty receptoru
ORL-1;

34) jeden nebo více z agonistů nebo modulátorů receptorů
oxytocinu/vasopresinu, přednostně selektivních agonistů nebo
modulátorů oxytocinu;

35) jeden nebo více z inhibitorů PDE, konkrétněji
inhibitorů PDE2, 3, 4, 5, 7 nebo 8, přednostně inhibitorů PDE2
nebo PDE5, nejvýhodněji inhibitorů PDE5 (viz dále), přičemž
hodnota IC_{50} těchto inhibitorů proti odpovídajícímu enzymu je
méně než 100nM. Jako inhibitory cGMP PDE5, které se hodí pro
použití podle tohoto vynálezu je možno uvést:
pyrazol[4,3-d]pyrimidin-7-ony popsané v EP-A-0463756; pyrazol-
[4,3-d]pyrimidin-7-ony popsané v EP-A-0526004; pyrazol[4,3-d]-
pyrimidin-7-ony popsané v mezinárodní patentové přihlášce WO
93/06104; isomerní pyrazol[3,4-d]pyrimidin-4-ony popsané ve
zveřejněné mezinárodní patentové přihlášce WO 93/07149;
chinazolin-4-ony popsané ve zveřejněné mezinárodní patentové
přihlášce WO 93/12095; pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-ony popsané ve
zveřejněné mezinárodní patentové přihlášce WO 94/05661;
purin-6-ony popsané ve zveřejněné mezinárodní patentové
přihlášce WO 94/00453; pyrazol[4,3-d]pyrimidin-7-ony popsané

ve zveřejněné mezinárodní patentové přihlášce WO 98/49166; pyrazol[4,3-d]pyrimidin-7-ony popsané ve zveřejněné mezinárodní patentové přihlášce WO 99/54333; pyrazol [4,3d]-pyrimidin-4-ony popsané v EP-A-0995751; pyrazol [4,3-d]pyrimidin-7-ony popsané ve zveřejněné mezinárodní patentové přihlášce WO 00/24745; pyrazol[4,3-d]pyrimidin-4-ony popsané v EP-A-0995750; sloučeniny popsané ve zveřejněné mezinárodní přihlášce W095/19978; sloučeniny popsané ve zveřejněné mezinárodní přihlášce WO 99/24433 a sloučeniny popsané ve zveřejněné mezinárodní přihlášce WO 93/07124. Pyrazolo[4,3-d]-pyrimidin-7-ony popsané ve zveřejněné mezinárodní přihlášce WO 01/27112; pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-ony popsané ve zveřejněné mezinárodní přihlášce WO 01/27113; sloučeniny popsané v EP-A-1092718 a sloučeniny popsané v EP-A-1092719.

Jako další inhibitory PDE5, které jsou vhodné pro použití podle vynálezu lze uvést 5-[2-ethoxy-5-(4-methyl-1-piperazinylsulfonyl)fenyl]-1-methyl-3-n-propyl-1,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-on (sildenafil) také známý jako 1-([3-(6,7-dihydro-1-methyl-7-oxo-3-propyl-1H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-5-yl)-4-ethoxyfenyl]sulfonyl)-4-methylpiperazin (viz EP-A-0463756); 5-(2-ethoxy-5-morfolinoacetylphenyl)-1-methyl-3-n-propyl-1,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-on (viz EP-A-0526004); 3-ethyl-5-[5-(4-ethylpiperazin-1-ylsulfonyl)-2-n-propoxyfenyl]-2-(pyridin-2-yl)methyl-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-on (viz W098/49166); 3-ethyl-5-[5-(4-ethylpiperazin-1-ylsulfonyl)-2-(2-methoxyethoxy)pyridin-3-yl]-2-(pyridin-2-yl)methyl-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-on (viz W099/54333); (+)-3-ethyl-5-[5-(4-ethylpiperazin-1-ylsulfonyl)-2-(2-methoxy-1(R)-methylethoxy)pyridin-3-yl]-2-methyl-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-on, také známý jako 3-ethyl-5-{5-[4-ethylpiperazin-1-ylsulfonyl]-2-([1(R)-2-methoxy-1-methylethyl]oxy)pyridin-3-yl]-2-methyl-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-on (viz W099/54333) ;

5-[2-ethoxy-5-(4-ethylpiperazin-1-ylsulfonyl)pyridin-3-yl]-3-ethyl-2-[2-methoxyethyl]-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-on, také známý jako 1-{6-ethoxy-5-[3-ethyl-6,7-dihydro-2-(2-methoxyethyl)-7-oxo-2H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-5-yl]-3-pyridylsulfonyl}-4-ethylpiperazin (viz WO 01/27113, příklad 8); 5-[2-iso-butoxy-5-(4-ethylpiperazin-1-ylsulfonyl)pyridin-3-yl]-3-ethyl-2-(1-methylpiperidin-4-yl)-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-on (viz WO 01/27113, příklad 15); 5-[2-ethoxy-5-(4-ethylpiperazin-1-ylsulfonyl)pyridin-3-yl]-3-ethyl-2-fenyl-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-on (viz WO 01/27113, příklad 66); 5-(5-acetyl-2-propoxy-3-pyridinyl)-3-ethyl-2-(1-isopropyl-3-azetidiny)-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-on (viz WO 01/27112, příklad 124); 5-(5-acetyl-2-butoxy-3-pyridinyl)-3-ethyl-2-(1-ethyl-3-azetidiny)-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-on (viz WO 01/27112, příklad 132); (6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-hexahydro-2-methyl-6-(3,4-methylenedioxyfenyl)pyrazino[2',1':6,1]pyrido[3,4-b]indol-1,4-dion (IC-351), tj. sloučenin z příkladů 78 a 95 zveřejněné mezinárodní přihlášky W095/19978, jakož i sloučeniny z příkladů 1, 3, 7 a 8; 2-[2-ethoxy-5-(4-ethylpiperazin-1-yl-1-sulfonyl)fenyl]-5-methyl-7-propyl-3H-imidazo[5,1-f][1,2,4]triazin-4-on (varafenafil) také známý jako 1-[[3-(3,4-dihydro-5-methyl-4-oxo-7-propylimidazo[5,1-f]-as-triazin-2-yl)-4-ethoxyfenyl]sulfonyl]-4-ethylpiperazin, tj. sloučenina z příkladů 20, 19, 337 a 336 zveřejněné mezinárodní přihlášky W099/24433; a sloučenina z příkladu 11 zveřejněné mezinárodní přihlášky WO93/07124 (EISAI) ; a sloučeniny 3 a 14 z publikace Rotella, D. P., J. Med. Chem., 2000, 43, 1257.

Jako další vhodné inhibitory PDE5 je možno uvést 4-brom-5-(pyridylmethylamino)-6-[3-(4-chlorfenyl)propoxy]-3(2H)pyridazinon; monosodnou sůl 1-[4-[(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)amino]-6-chlor-2-chinozolinyl]-4-piperidinkarboxylové kyseliny; (+)-cis-5,6a,7,9,9,9a-hexahydro-2-[4-(trifluormethyl)-

fenylmethyl-5-methylcyklopent[4,5]imidazo[2,1-b]purin-4(1H)-on; furazlocillin; cis-2-hexyl-5-methyl-3,4,5,6a,7,8,9,9a-okso-5,6,7,8-tetrahydrocyklopent[4,5]imidazo[2,1-b]purin-4-on; 3-acetyl-1-(4-chlorbenzyl)-2-propylindol-6-karboxylát; 3-acetyl-1-(2-benzyl)-2-propylindol-6-karboxylát; 4-brom-5-(3-pyridylmethylamino)-6-(3-(4-chlorfenyl)propoxy)-3-(2H)pyridazin-2(1H)-on; methyl-5-(5-morfolinoacetyl-2-n-propoxyfeny)-3-n-propyl-1H-pyrazol(4,3-d)pyrimidin-7-on; monosodnou sůl 2-[(1,3-benzodioxol-5-ylmethyl)amino]-6-chlor-2-chinazolin-4-piperidinkarboxylové kyseliny; Pharmaprojects č. 4516 (Glaxo Wellcome); Pharmaprojects č. 5051 (Bayer); Pharmaprojects č. 5064 (Kyowa Hakko; viz WO 96/26940); Pharmaprojects č. 5069 (Schering Plough); GF-196960 (Glaxo Wellcome); E-8010 a E-4010 (Eisai); Bay-38-3045 & 38-945 (Bayer) a Sch-51866.

Pokud se účinná činidla podávají v kombinaci, je možné podávat současně, odděleně nebo posloupně.

Sloučeniny podle vynálezu je možno podávat samotné, obvykle se budou podávat ve formě farmaceutických kompozic, v nichž jsou například smíseny s vhodným farmaceutickým excipientem, ředidlem nebo nosičem zvoleným s ohledem na zamýšlený způsob podávání a standardní farmaceutickou praxi.

Sloučeniny podle vynálezu je například možno podávat perorálně, bukálně nebo sublinguálně ve formě tablet, tobolek (včetně měkkých želatinových tobolek), ovulí, elixírů, suspenzí, které mohou obsahovat aromatizační nebo jiné složky, činidla, určených pro okamžitou, odloženou nebo modifikovanou dodávku, dodávku s trvalým uvolňováním, duální dodávku, dodávku nebo dodávku s řízeným uvolňováním. Sloučeniny podle vynálezu lze také podávat ve formách s rychlým dispergováním nebo rychlým rozpouštěním.

Dávkovací formy s modifikovaným a pulsním uvolňováním mohou obsahovat takové excipienty, jaké jsou popsány u forem s okamžitým uvolňováním, spolu s přídatnými excipienty, které účinkují jako modifikátory rychlosti uvolňování, mohou být obaleny a/nebo začleněny do tělesa zařízení pro dodávku léčiva. Jako neomezující příklady modifikátorů rychlosti uvolňování je možno uvést hydroxypropylmethylcelulosu, methylcelulosu, sodnou sůl karboxymethylcelulosy, ethylcelulosu, acetát celulosy, polyethylenoxid, xanthanovou pryskyřici, karbomer, kopolymer amoniummethakrylátu, hydrogenovaný ricinový olej, karnaubský vosk, parafinový vosk, acetát ftalát celulosy, ftalát hydroxypropylmethylcelulosy, kopolymer methakrylové kyseliny a jejich směsi. Formy s modifikovaným a pulsním uvolňováním mohou obsahovat jeden excipient modifikující rychlost uvolňování nebo kombinaci takových excipientů. Tyto excipienty mohou být přítomny v dávkovací formě, tj. matrici, a/nebo na dávkovací formě, tj. na povrchu nebo obalu.

Formulace s rychlým dispergováním nebo rozpouštěním mohou obsahovat následující složky: aspartam, acesulfam draselný, kyselinu citronovou, sodnou sůl kroskarmelosy, krospovidon, kyselinu diaskorbovou, ethylakrylát, ethylcelulosu, želatinu, hydroxypropylmethylcelulosu, stearan hořečnatý, mannitol, methylmethakrylát, mátové aroma, polyethylenglykol, sublimovaný oxid křemičitý, oxid křemičitý, sodnou sůl škrobového glykolátu, stearyl-fumarát sodný, sorbitol a xylitol. Pojmy "dispergování" a "rozpouštění", kterých se používá při popisu výše uvedených formulací, jsou závislé na rozpustnosti použité léčivé látky, tzn. že když je látka nerozpustná, je možno připravit dávkovací formu s rychlým dispergováním a když je rozpustná, lze připravit dávkovací formu s rychlým rozpouštěním.

Sloučeniny podle vynálezu je také možno podávat přímými injekcemi. Kompozice mohou být formulovány pro parenterální, mukosální, intravenosní, subkutánní, okulární, intraokulární nebo transdermální podávání. V závislosti na potřebě se činidlo může podávat v dávce od 0,01 do 30 mg/kg tělesné hmotnosti, jako v dávce od 0,1 do 10 mg/kg tělesné hmotnosti, výhodněji v dávce od 0,1 do 1 mg/kg tělesné hmotnosti.

Do rozsahu pojmu "podávání" spadá dodávka za použití virových nebo nevirových postupů. Jako příklady virového mechanismu dodávky je například možno uvést použití adeno-virových vektorů, adenoasociovaných virových vektorů (AVV), herpesvirových vektorů, retrovirových vektorů, lentivirových vektorů a baculovirových vektorů. Jako příklady nevirového mechanismu dodávky lze uvést transfekci zprostředkovanou lipidy, použití liposomů, imunoliposomů, lipofektinu, kationtových faciálních amfifilů (CFA) a jejich kombinace. Těchto typů dodávky je možno používat při mukosálním nasálním, perorálním, parenterálním, gastrointestinálním, topickém nebo sublinguálním způsobu podávání.

Kromě toho, nebo alternativně, je kompozice (nebo jejich složky) podle vynálezu možno podávat přímými injekcemi. Kromě toho, nebo alternativně, je kompozice (nebo jejich složky) podle vynálezu možno podávat topicky (přednostně na genitálii). Kromě toho, nebo alternativně, je kompozice (nebo jejich složky) podle vynálezu možno podávat inhalačně. Kromě toho, nebo alternativně, je kompozice (nebo jejich složky) podle vynálezu možno podávat jedním nebo více z následujících způsobů: mukosálně, například jako nosní sprej nebo aerosol k inhalaci nebo jako požitelný roztok, jako perorálně, nebo parenterálně - injekčně, rektálně, oftalmicky (včetně podávání do sklivce nebo oční komory), nasálně, topicky (jako bukalně a sublinguálně), intrauterálně, vaginálně nebo parenterálně

(jako subkutánně, intraperitoneálně, intramuskulárně, intravenosně, intradermálně, intrakraniálně, intratracheálně a epidurálně), transdermálně, intraperitoneálně, intrakraniálně, intracerebroventrikulárně, intracerebrálně, intravaginálně, intrauterálně nebo parenterálně (například intravenosně, intraspinálně, subkutánně, transdermálně nebo intramuskulárně).

Farmaceutickou kompozici podle vynálezu je například možno podávat v souladu s režimem jednou až desetkrát za den, jako jednou nebo dvakrát za den. Konkrétní výše dávek a frekvence podávání kterémukoliv konkrétnímu pacientu může kolísat a bude záviset na řadě faktorů, jako je účinnost použité sloučeniny, její metabolická stabilita a délka působení, věk, tělesná hmotnost, celkový zdravotní stav, pohlaví a strava pacienta, způsob a doba podávání, rychlost vylučování, lékové kombinace, závažnost konkrétního stavu a individuální průběh léčení.

Do rozsahu pojmu "podávání" však nespadá pouze mukosální podávání, například ve formě nasálního spreje nebo aerosolu k inhalaci nebo ve formě požitelného roztoku; parenterální podávání, při němž se využívá injekcí podávaných například intravenosně, intramuskulárně nebo subkutánně.

Tablety mohou obsahovat excipienty, jako mikrokrystallickou celulosu, laktosu, citran sodný, uhličitan vápenatý, dibázický fosforečnan vápenatý a glycin, rozvolňovadla, jako škrob (přednostně kukuřičný, bramborový nebo tapiokový škrob), sodnou sůl škrobového glykolátu, sodnou sůl kroskarmelosy a některé komplexní silikáty, a granulační pojiva, jako polyvinylpyrrolidon, hydroxypropylmethylelulosu (HPMC), hydroxypropylelulosu (HPC), sacharosu, želatinu a klovatinu. Kromě toho mohou obsahovat také lubrikační činidla, jako

stearan hořečnatý, kyselinu stearovou, glycerylbehenát a mastek.

Pevné kompozice podrobného typu je také možno použít jako náplně želatinových tobolek. Takové kompozice jako excipienty přednostně obsahují laktosu, škrob, celulosu, laktosu nebo vysokomolekulární polyethylenglykoly. Ve vodných suspenzích mohou být činidla v kombinaci s různými sladidly nebo aromatickými činidly, barvicími látkami nebo barvivy, emulgačními a/nebo suspenzními činidly, a ředidly, jako vodou, ethanolem, propylenglykolem a glycerinem nebo jejich kombinacemi.

Sloučeniny podle vynálezu je také možno podávat parenterálně. Jako příklady takového podávání možno uvést intravenózní, intraarteriální, intraperitoneální, intracévní, intraventrikulární, intrauretrální, intrasternální, intrakraniální, intramuskulární nebo subkutánní podávání a/nebo podávání za použití infúzních postupů. Kromě toho je možno je podávat ve formě implantátu. Pro parenterální podávání se nejlépe hodí sterilní vodné roztoky, které mohou obsahovat i jiné látky, například soli nebo glukosu v množství dostatečném pro isotonizaci roztoku vzhledem ke krvi. Vodné roztoky by v případě potřeby měly být vhodně pufovány (přednostně na pH 3 až 9). Odborník v tomto oboru je formulace vhodná pro parenterální podávání schopen snadno připravit za použití standardních farmaceutických postupů. Parenterální přípravky mohou mít formu s okamžitým, odloženým, modifikovaným, dlouhodobým, duálním, řízeným nebo pulzním uvolňováním.

Dále uvedené dávkování i jiné dávkování uvedené v tomto textu je určeno pro průměrného člověka o hmotnosti 65 až 70 kg. Odborník v tomto oboru bude snadno schopen stanovit dávkování pro subjekty, které do výše uvedeného rozmezí nespádají, jako jsou děti a starší osoby.

V případě perorálního podávání člověku denní dávka sloučeniny podle vynálezu nebo její soli nebo solvátu některé z těchto entit obvykle leží v rozmezí od 10 do 1000 mg. Denní dávku lze podat jednorázově nebo ve formě dílčích dávek.

Tablety nebo tobolky na bázi sloučenin podle vynálezu nebo jejich solí nebo solvátů těchto entit budou tedy obsahovat 5 až 1000 mg, jako 5 až 500 mg účinné látky pro podávání jedné, dvou nebo více jednotek najednou. Skutečné dávkování stanoví v každém konkrétním případě lékař tak, aby se dosáhlo optimálních výsledků u jednotlivých pacientů. Výše uvedené dávkování je tedy uvedeno jako příklad vhodný pro průměrný případ a je samozřejmé, že v některých případech bude vhodnější použít zvýšeného nebo sníženého dávkování. Všechny takové úpravy spadají do rozsahu tohoto vynálezu. Odborníkům v tomto oboru také bude zřejmé, že při léčení některých stavů (jako FSD) je sloučeniny možno podávat ve formě jediné dávky podávané podle potřeby (tj. "jak je nutné" nebo "jak je žádoucí").

Sloučeniny podle vynálezu je také možno podávat intranasálně nebo inhalačně. Při tom se účelně používá inhalátorů pro suché prášky nebo aerosolových sprejů uvolňovaných z tlakovky, pumpičky, spreje nebo rozmlžovače, popřípadě za použití vhodného hnacího plynu, například dichlordifluormethanu, trichlorfluormethanu, dichlortetrafluorethanu, hydrofluoralkanu, jako 1,1,1,2-tetrafluorethanu (HFA 134A^(R)) nebo 1,1,1,2,3,3,3-heptafluorpropanu (HFA 227EA^(R)), oxidu uhličitého nebo jiných vhodných plynů. V případě tlakových aerosolových balení může být jednotková dávka určena spuštěním ventilu uvolňujícího předem stanovené množství spreje. Tlakovky, pumpičky nebo rozmlžovače mohou obsahovat roztok nebo suspenzi účinné sloučeniny, například za použití směsi ethanolu a hnacího plynu jako rozpouštědla, a mohou přídatně obsahovat lubrikan-

ty, například sorbitantrioléát. Tobolky a patrony (které jsou například zhotoveny z želatiny) pro použití v inhalačním zařízení nebo insuflátoru mohou obsahovat práškovou směs sloučeniny podle vynálezu s vhodným práškovým základem, jako je laktosa nebo škrob.

Aerosolové nebo suché práškové formulace jsou přednostně upraveny tak, aby jedna dávka odměřená spuštěním ventilu obsahovala 1 až 50 mg sloučeniny podle vynálezu. Celková denní dávka za použití aerosolu by pak měla ležet v rozmezí od 1 mg do 50 mg. Podávání se může provádět jednorázově nebo, obvykleji, několikrát v průběhu dne.

Sloučeniny podle vynálezu je také možno alternativně podávat ve formě čípků nebo pesarů nebo je lze aplikovat topicky (přednostně na genitálie) ve formě gelů, hydrogelů, lotionů, roztoků, krémů, mastí nebo zásypů. Také je lze podávat dermálně a v úvahu taktéž přichází transdermální podávání, například za použití transdermálních náplastí. Lze je také podávat okulárně, pulmonárně nebo rektálně.

Za účelem oftalmického podávání je sloučeniny možno formulovat do podoby mikronizovaných suspenzí v isotonickém sterilním solném roztoku s upraveným pH nebo, přednostně, do podoby roztoků v isotonickém sterilním solném roztoku s upraveným pH, který popřípadě obsahuje konzervační činidlo, jako benzylalkoniumchlorid. Alternativně mohou mít formu masti, jako vazelinové masti.

Za účelem topické aplikace na kůži (přednostně na genitálie) je sloučeniny podle vynálezu možno zpracovávat do formy vhodných mastí, které obsahují účinnou sloučeninu suspendovanou nebo rozpuštěnou v minerálním oleji, kapalně vazelině, bílé vazelině, propylenglykolu, sloučenině polyoxyethylenu a

polyoxypropylen, emulgačním vosku a/nebo vodě. Alternativně je sloučeniny možno formulovat jako vhodné lotiony nebo krémy, v nichž jsou suspendovány nebo rozpuštěny například ve směsi jedné či více z následujících látek zvolených z minerálního oleje, sorbitan monostearátu, polyethylenglykolu, kapalného parafinu, polysorbate 60, cetylesteroých vosků, cetarylalkoholu, 2-oktyldodekanolu, benzylakoholu a vody.

Sloučenin podle vynálezu je také možno používat v kombinaci s cyklodextriny. O cyklodextrinech je známo, že s molekulami léčiv tvoří inklusní a neinklusní komplexy. Vytvoření komplexu léčivo-cyklodextrin může modifikovat rozpustnost, rychlost rozpouštění, biodostupnost a/nebo stabilitu molekuly léčiva. Takové komplexy jsou obvykle užitečné ve většině dávkovacích forem a při většině způsobů podávání. Jako alternativu k přímé tvorbě komplexů s léčivy je cyklodextrinu možno použít jako pomocného aditiva, například jako nosiče, ředidla nebo prostředku zlepšujícího rozpustnost. Vhodné příklady nejčastěji používaných alfa-, beta- a gamma-cyklodextrinů jsou uvedeny ve WO-A-91/11172, WO-A-94/02518 a WO-A-98/55148.

Sloučeniny podle vynálezu se přednostně podávat systemic-ky (jako perorálně, bukálně a sublinguálně), výhodněji perorálně. Přednostně se takového systemického podávání (nejvýhodněji perorálního podávání) používá při léčení sexuální dysfunkce u žen, přednostně FSAD.

Jako přednostní perorální formulace je možno uvést tablety s okamžitým uvolňováním; nebo formulace s rychlým dispergováním nebo rozpouštěním.

V dalším přednostním provedení se sloučeniny podle vynálezu podávají topicky, přednostně přímo na ženské genitálie, zejména vagínu.

Jelikož je NEP přítomen v celém těle, je velmi neočekávané, že sloučeniny podle vynálezu je možno podávat systemicky a dosáhnout terapeutické odpovědi v ženských genitáliích, aniž by došlo k provokačním nežádoucím vedlejším účinkům vyvolaným nesnášenlivostí. Při modelové zkoušce in vivo (na králících) sloučeniny podle vynálezu podávané systemicky po sexuální stimulaci (napodobené stimulací pelvického nervu) vyvolávaly zvýšené prokrvení genitálií, aniž by došlo k žádoucímu ovlivnění kardiovaskulárních parametrů, jako vyvolání významné hypotenze nebo hypertenze.

Sloučeniny podle vynálezu se přednostně podávají za účelem léčení FSD u sexuálně stimulovaného pacienta (přičemž sexuální stimulací se rozumí vizuální, sluchová nebo taktilní stimulace). Ke stimulaci může dojít před takovým podáním, po něm nebo během podání.

Sloučeniny podle vynálezu tedy posilují dráhy/mechanismy, které jsou základem sexuálního vzrušení v ženských genitáliích, přičemž obnovují nebo zlepšují odpověď vyjádřenou v podobě sexuálního vzrušení na sexuální stimulaci.

V přednostním provedení je předmětem vynálezu použití sloučeniny podle vynálezu pro výrobu léčiva pro léčení nebo profylaxi FSD u stimulovaných pacientů.

Při použití ve veterinární medicíně se sloučeniny podle vynálezu podávají ve formě vhodných formulací v souladu s normální veterinární praxí. Dávkovací režim a způsob podávání, které jsou nejvhodnější pro konkrétní zvíře, zvolí ošetřující lékař.

Dále jsou uvedeny neomezuující příklady některých formulací. Pod pojmem "účinná přísada" se rozumí sloučenina podle vynálezu.

Formulace 1

Tableta se připraví za použití následujících přísad:

	hmotnost (mg)
Účinná přísada	250
Mikrokrystalická celulóza	400
Sublimovaný oxid křemičitý	10
Kyselina stearová	5
Celkem	665

Tyto složky se smísí a lisují na tablety.

Formulace 2

Intravenosní formulaci je možno připravit z následujících přísad:

Účinná přísada	100 mg
Isotonický solný roztok	1000 ml

Dále jsou popsány typické formulace, kterých lze používat pro topické podávání sloučenin podle vynálezu na genitálie:

Formulace 3: Sprej

Účinná přísada (1,0 %) v isopropylalkoholu (30 %) a vodě.

Formulace 4: Pěna

Účinná přísada, ledová kyselina octová, kyselina benzoová, cetylalkohol, methylparahydroxybenzoát, kyselina fosforečná, polyvinylalkohol, propylenglykol, sodná sůl karboxymethylcelulosy, kyselina stearová, diethylsteramid, vonná látka van Dyke č. 6301, purifikovaná voda a isobutan.

Formulace 5: Gel

Účinná přísada, Docusate sodná sůl BP, isopropylalkohol BP, propylenglykol, hydroxid sodný, karbomer 934P, kyselina benzoová a purifikovaná voda.

Formulace 6: Krém

Účinná přísada, kyselina benzoová, cetylalkohol, levandule, sloučenina 13091, methylparaben, propylparaben, propylenglykol, sodná sůl karboxymethylcelulosy, laurylsíran sodný, kyselina stearová, triethanolamin, ledová kyselina octová, ricinový olej, hydroxid draselný, kyselina sorbová a purifikovaná voda.

Formulace 7: Pesar

Účinná přísada, cetomakrogol 1000 BP, kyselina citronová, PEG 1500 a 100 a purifikovaná voda.

Předmětem vynálezu jsou dále:

i) farmaceutická kompozice, jejíž podstata spočívá v tom, že obsahuje sloučeninu podle vynálezu a farmaceuticky vhodný excipient, ředidlo nebo nosič;

ii) sloučeniny podle vynálezu pro použití jako léčivo;

iii) způsob léčení FSD u savců, jehož podstata spočívá v tom, že se takovému savci podá účinné množství sloučeniny podle vynálezu;

iv) farmaceutická kompozice pro léčení FSD, jejíž podstata spočívá v tom, že obsahuje sloučeninu podle vynálezu a farmaceuticky vhodný excipient, ředilo nebo nosič;

v) sloučeniny podle vynálezu pro léčení FSD.

Vynález je blíže objasněn v následujících příkladech provedení. Tyto příklady mají výhradně ilustrativní charakter a rozsah vynálezu v žádném ohledu neomezují.

Dále jsou uvedeny významy zkratk, kterých se v příkladech provedení používá:

Boc	terc-butoxykarbonyl
CDI	karbonyldiimidazol
δ	chemický posun
d	dublet
Δ	teplo
DCCI	dicyklohexylkarbodiimid
DCM	dichlormethan
DMF	N,N-dimethylformamid
DMPU	1,3-dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinon
DMSO	dimethylsulfoxid
ES ⁺	ionizace elektrospřejem se záznamem kladných iontů
ES ⁻	ionizace elektrospřejem se záznamem záporných iontů
Př.	příklad
HMPA	hexamethylfosforamid
HOBT	1-hydroxybenzotriazol
HPLC	vysokotlaká kapalinová chromatografie
m/z	pík hmotnostního spektra

MS	hmotnostní spektrum
NMR	nukleární magnetická resonance
Prec	prekursor
Prep	preparativní postup
q	kvartet
s	singlet
t	triplet
Tf	trifluormethansulfonyl
TFA	trifluoroctová kyselina
THF	tetrahydrofuran
TLC	chromatografie na tenké vrstvě
TMEDA	N,N,N',N'-tetramethylethyldiamin
TS ⁺	ionizace termosprejem se záznamem kladných iontů
WSCDI	hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethyl- karbodiimidu

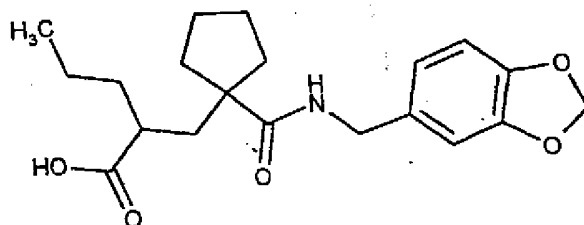
Spektra ^1H nukleární magnetické resonance (NMR) jsou ve všech případech v souladu s navrženou strukturou. Charakteristické chemické posuny (δ) jsou vyjádřeny v dílech na milion dílů směrem dolů od tetramethylsilanu a pro popis hlavních píků se používá obvyklých zkratk (například s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet, m = multiplet a br = široký). Pro označení obvyklých rozpouštědel se používá následujících zkratk: CDCl_3 = deuteriochloroform, DMSO = dimethylsulfoxid. Zkratkou LRMS se označuje hmotnostní spektroskopie s nízkým rozlišením. Pod pojmem chromatografie na tenké vrstvě (TLC) se rozumí chromatografie na deskách se silikagelem 60 F_{254} , přičemž R_f představuje podíl vzdálenosti, kterou urazila sloučenina a vzdálenosti, kterou urazilo čelo rozpouštědla na desce pro TLC.

Práškové rentgenové difrakční obrazce (PXRD) byly stanoveny za použití práškového rentgenového difraktometru Siemens D5000 vybaveného θ - θ goniometrem, automatic-

kými štěrbinami pro rozptyl, sekundárním monochromátorem a scintilačním čítačem. Vzorek rotuje, přičemž je ozařován rentgenovým zářením měď K-alfa1 (vlnová délka 0,15046 nm) filtrovaným přes grafitový monochromátor ($\lambda = 0,15405$ nm) a rentgenka pracuje při 40 kV/40 mA. U různých pevných forem jsou uvedeny hlavní píky (ve stupních 2θ) PXRD obrazců.

P ř í k l a d 1

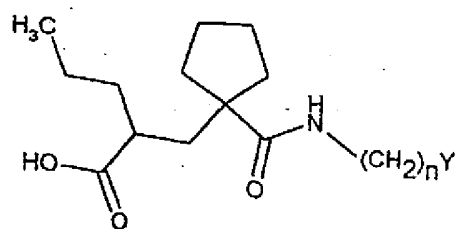
2-({1-[(1,3-Benzodioxol-5-ylamino)karbonyl]cyklopentyl}-
methyl)pentanová kyselina



Trifluorooctová kyselina (5 ml) se přidá k roztoku terc-butylesteru z preparativního postupu 34 (130 mg, 0,31 mmol) v dichlormethanu (5 ml). Výsledný roztok se 4 hodiny míchá při teplotě místnosti. Reakční směs se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s toluenem a dichlormethanem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě čirého oleje, 112 mg, ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,83 (t, 3H), 1,22-1,40 (m, 3H), 1,50-1,72 (m, 8H), 1,95 (m, 1H), 2,10 (m, 2H), 2,19 (m, 1H), 4,30 (m, 2H), 5,93 (s, 2H), 5,99 (bs, 1 H), 6,74 (m, 3H); LRMS: m/z 380 (MH^+).

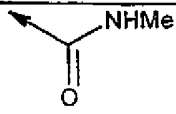
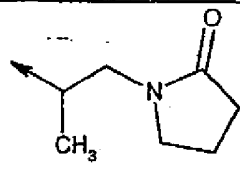
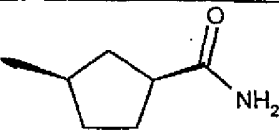
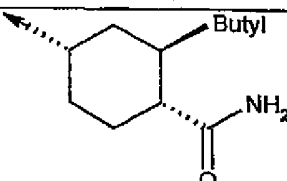
P ř í k l a d y 2 a ž 9

Sloučeniny obecného vzorce Ic, tj. sloučeniny obecného vzorce I, kde R^1 představuje propylskupinu, se připraví z odpovídajícího terc-butylesteru podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 1 za použití uvedených prekursorů.



(Ic)

Př.	Prec.	n	Y	Data
2 ¹	Prep. 35	0		¹ H NMR (CDCl ₃ , 400MHz) δ: 0,81 (s, 3H), 1,17-2,04 (m, 14H), 2,27-2,38 (m, 1H), 2,64-2,80 (m, 2H), 3,20-3,31 (m, 2H), 4,60-4,72 (m, 1H), 5,97 (d, 1H), 7,03-7,18 (m, 4H). LRMS : m/z 343,8 (M ⁺).
3 ^{2,3}	Prep. 36	0		¹ H NMR (CDCl ₃ , 400MHz) δ: 0,90 (t, 3H), 1,30-1,42 (m, 4H), 1,59-1,81 (m, 7H), 2,18 (m, 1H), 2,30 (m, 1H), 2,42 (m, 1H), 2,55 (m, 1H), 2,61 (s, 3H). LRMS : m/z 324 (MH ⁺). Mp 184-186° C; Anal.nalez. C, 55,50; H, 7,22; N, 12,61. C ₁₅ H ₂₃ N ₃ O ₃ S vypoč. C, 55,36; H, 7,14; N, 12,91%.
4 ³	Prep. 37	0		¹ H NMR (CDCl ₃ , 400MHz) δ: 0,92 (t, 3H), 1,35 (t, 3H), 1,25-1,80 (m, 11H), 2,20-2,50 (m, 4H), 2,95 (q, 2H), 12,10 (bs, 1H); LRMS : m/z 339,8 (MH ⁺) Anal.nalez. C, 56,46; H, 7,46; N, 12,36. C ₁₆ H ₂₅ N ₃ O ₃ S vypoč. C, 56,62; H, 7,44; N, 12,37%.
5 ²	Prep. 38	1		¹ H NMR (CDCl ₃ , 400MHz) δ: 0,80 (t, 3H), 1,20-1,70 (m, 11H), 1,90-2,20 (m, 3H), 2,25 (m, 1H), 2,70 (s, 3H), 4,75 (m, 2H), 7,10 (bs, 1H). LRMS : m/z 340,6 (MH ⁺)

	Prec.	n	Y	Data
6 ²	Prep. 39	2		¹ H NMR (CDCl ₃ , 400MHz) δ: 0,88 (t, 3H), 1,25-1,40 (m, 3H), 1,41-1,70 (m, 8H), 1,92 (m, 1H), 2,00-2,18 (m, 2H), 2,38 (m, 1H), 2,42 (t, 2H), 2,80 (d, 3H), 3,40-3,60 (m, 2H), 6,50 (bs, 1H), 6,74 (bs, 1H). LRMS : m/z 313,2 (MH ⁺)
7	Prep. 40	0		¹ H NMR (CDCl ₃ , 400MHz) δ: 0,85 (t, 3H), 1,19 (d, 3H), 1,21-1,69 (m, 11H), 1,89-2,10 (m, 5H), 2,30 (m, 1H), 2,41 (m, 2H), 2,95 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 3,63 (m, 2H), 4,20 (m, 1H), 6,58-6,70 (m, 1H). LRMS : m/z 353,1 (MH ⁺)
8	Prep. 41	0		¹ H NMR (CDCl ₃ , 400MHz) δ: 0,81 (t, 3H), 1,20-1,39 (m, 3H), 1,41-2,10 (m, 1H), 2,80 (m, 1H), 4,35 (m, 17H), 5,81 (d, 1H), 6,30 (bs, 0.5H), 6,43 (bs, 0.5H), 7,40 (bd, 0.5H), 7,61 (bd, 0.5H). LRMS : m/z 339,8 (MH ⁺)
9	Prep. 32	0		¹ H NMR (CDCl ₃ , 400MHz) δ: 0,84 (m, 6H), 1,08-2,08 (m, 29H), 4,29 (m, 1H), 5,95 (d, 1H), 6,43 (s, 1H), 7,80 (d, 1H). LRMS : m/z 409,5 (MH ⁺)

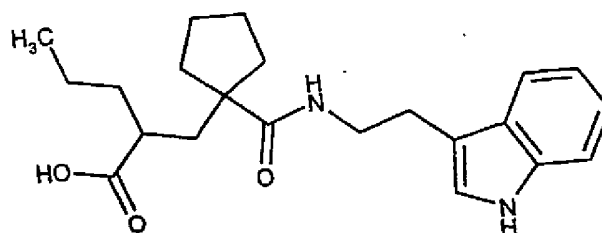
1 = navíc se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a pentanu jako elučního činidla

2 = navíc se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu jako elučního činidla

3 = překrystaluje se z etheru

P ř í k l a d 1 0

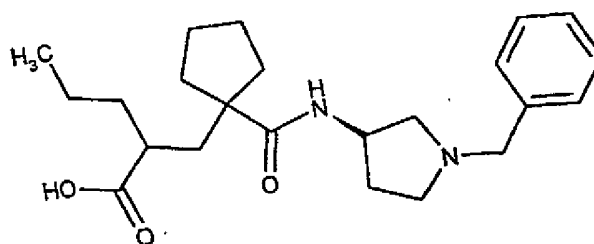
2-{[1-({[2-(1H-Indol-3-yl)ethyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]methyl}pentanová kyselina



Trifluorooctová kyselina (2,61 ml, 33,9 mmol) se přidá k roztoku terc-butylesteru z preparativního postupu 44 (482 mg, 1,13 mmol) a anisolu (1,23 ml, 11,3 mmol) v dichlormethanu (4 ml). Reakční směs se 4 hodiny míchá při teplotě místnosti, promyje vodou a poté vodným chloridem sodným, vysuší síranem hořečnatým, zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s toluenem. Hnědý olejovitý zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu (95 : 5) jako elučního činidla, opakovaně za použití elučního gradientu ethylacetát : pentan (30 : 70 až 50 : 50) Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě čiré pěny, 136 mg, 32%; ^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 0,82 (s, 3H), 1,16-1,77 (m, 12H), 1,78-2,03 (m, 2H), 2,36 (m, 1H), 2,97 (m, 2H), 3,61 (m, 2H), 5,83 (m, 1H), 7,04 (s, 1H), 7,09-7,23 (m, 2H), 7,39 (d, 1H), 7,61 (d, 1H), 8,15 (m, 1 H); LRMS: m/z 371,8 (MH^+).

P ř í k l a d 1 1

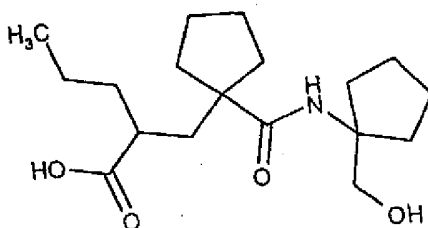
2-{[1-({[(3S)-1-Benzylpyrrolidiny]amino}karbonyl)-cyklopentyl]methyl}pentanová kyselina



Roztok terc-butylesteru z preparativního postupu 45 (70 mg, 0,16 mmol) v trifluoroctové kyselině (1 ml) a dichlormethanu (1 ml) se 2 hodiny míchá při teplotě místnosti, zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem. Zbytek se rozdělí mezi vodu (1 ml) a ethylacetát (5 ml) a pH vodné vrstvy se za použití roztoku hydrogenuhlíčitanu sodného upraví na 6. Vrstvy se oddělí, organická fáze se vysuší síranem sodným, odpaří za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě béžové pěny, 45 mg, 73 %; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,84 (t, 3H), 1,20 2,95 (m, 19H), 3,52 (m, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,95 (m, 1H), 4,25 (m, 1H), 4,45 (m, 1H), 6,96 (bs, 1H), 7,39 (m, 5H); LRMS: m/z 387 (MH^+); Analýza nalezeno: C, 61,11; H, 7,69; N, 6,00. $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ vypočteno C, 61,14; H, 7,70; N, 5,94 %.

P ř í k l a d 1 2

2-{[1-({[1-(Hydroxymethyl)cyklopentyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]methyl}pentanová kyselina

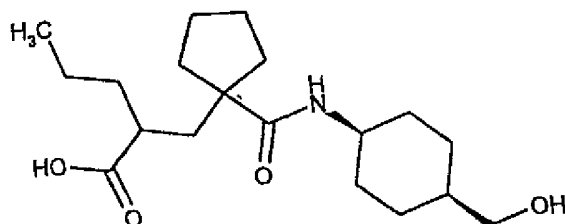


Roztok terc-butylesteru z preparativního postupu 33 (38 mg, 0,1 mmol) v trifluoroctové kyselině (2 ml) a dichlormethanu (2 ml) se 2 hodiny míchá při teplotě místnosti. Reakční směs se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s toluenem a poté dichlormethanem. Bezbarvá pryskyřice se suspenduje v roztoku uhličitanu draselného ((50 mg, 0,3 mmol) v methanolu. Výsledná směs se 2

hodiny míchá při teplotě místnosti. Methanol se odstraní za sníženého tlaku. Výsledný vodná směs se zředí vodou (20 ml) a za použití 2M kyseliny chlorovodíkové okyselí na pH 2. Vzniklý roztok se extrahuje ethylacetátem (2 x 20 ml). Spojené organické roztoky se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku na čistý olej, 32 mg, 97% ; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,88 (t, 3H), 1,20-1,40 (m, 3H), 1,41-1,90 (m, 17H), 2,01-2,20 (m, 2H), 2,40 (m, 1H), 3,71 (dd, 2H), 5,80 (bs, 1H); LRMS : m/z 326,1 (MH^+).

P ř í k l a d 1 3

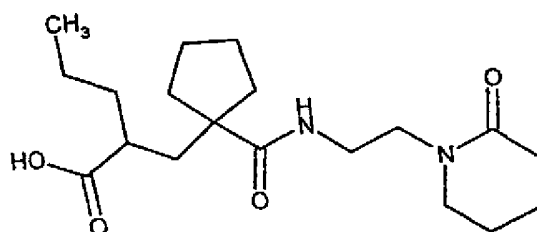
Cis-2-{[1-({[4-(Hydroxymethyl)cyklohexyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]methyl}pentanová kyselina



Titulní sloučenina se získá ve formě bezbarvé pryskyřice (68%), z terc-butylesteru z preparativního postupu 43, způsobem popsaným v příkladu 12, s tím rozdílem, že produkt se navíc přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu (95 : 5) jako elučního činidla; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,87 (t, 3H), 1,21-1,40 (m, 6H), 1,52-1,70 (m, 15H), 1,92-2,11 (m, 3H), 2,39 (m, 1H), 3,55 (d, 2H), 4,01 (m, 1H), 5,90 (m, 1H); LRMS: m/z 340,3 (MH^+).

P ř í k l a d 1 4

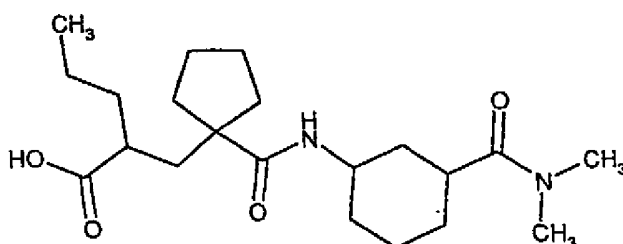
2- 1- ({[2- (2-Oxo-1-piperidiny]ethyl]amino}karbonyl)-
cyklopentyl]methyl}pentanová kyselina



Ledově chladným roztokem terc-butylesteru z preparativního postupu 47 (43 mg, 0,105 mmol) v dichlormethanu (10 ml) se 20 minut nechá probublávat plynný chlorovodík. Reakční roztok se poté 3 hodiny míchá při teplotě místnosti. Reakční směs se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem (3x). Získá se sklovitá pevná látka. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu dichlormethan : methanol (95 : 5 až 90 : 10) Získá se sloučenina uvedená v nadpisu, 6 mg ; $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,81 (t, 3H), 1,20-1,36 (m, 4H), 1,41-1,69 (m, 7H), 1,79 (m, 4H), 1,90-2,10 (m, 3H), 2,30 (m, 1H), 2,38 (t, 2H), 3,30-3,60 (m, 6H), 7,00 (bs, 1H); LRMS: m/z 351 ($\text{M}-\text{H}$) $^-$.

P ř í k l a d 1 5

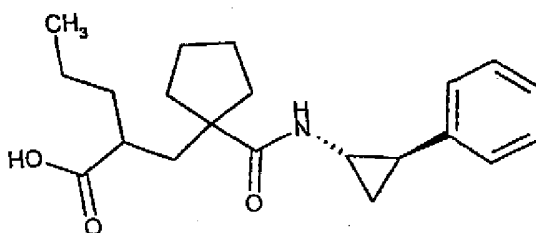
2- ({1- [{3- [(Dimethylamino)karbonyl]cyklohexyl}-
amino]karbonyl]cyklopentyl]methyl}pentanová kyselina



Titulní sloučenina se získá ve formě pevné látky v 85% výtěžku z terc-butylesteru z preparativního postupu 42, podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 14, s tím rozdílem, že se při chromatografii použije směsi dichlormethanu, methanolu a kyseliny octové (95 : 3 : 2) jako elučního činidla. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,89 (t, 3H), 1,09-1,76 (m, 12H), 1,80-2,17 (m, 10H), 2,37 (m, 1H), 2,68 (m, 1H), 2,95 (s, 3H), 3,04 (s, 3H), 3,83 (m, 1H), 6,06 (m, 1H); LRMS: m/z 381 (MH^+); Analýza nalezeno: C, 63,31; H, 9,17; N, 6,53. $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ vypočteno C, 63,29; H, 9,61; N, 7,03 %.

P ř í k l a d 1 6

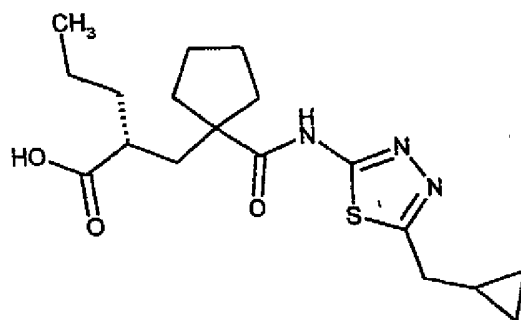
2-{[1-({[(1R,2R)-2-Fenylcyklopropyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]methyl}pentanová kyselina



Titulní sloučenina se získá kvantitativně ve formě oranžové pryskyřice z terc-butylesteru z preparativního postupu 46, podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 14; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,90 (t, 3H), 1,12-2,14 (m, 17H), 2,38 (m, 1H), 2,87 (m, 1H), 6,10 (s, 1H), 7,13 (m, 3H), 7,25 (m, 2H); LRMS: m/z 344,3 (MH^+).

P ř í k l a d 1 7

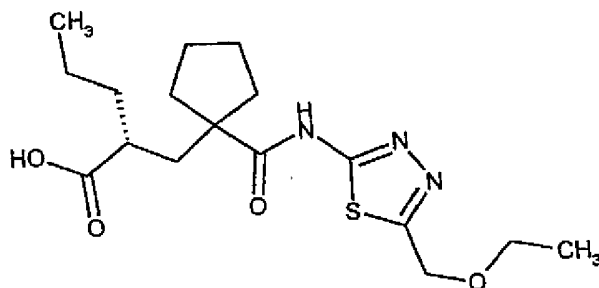
(2R)-2-{[1-({[5-(Cyklopropylmethyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]methyl}pentanová kyselina



Roztok terc-butylesteru z preparativního postupu 50 (63 mg, 0,15 mmol) v trifluoroctové kyselině (2 ml) a dichloromethanu (2 ml) se 2 hodiny míchá při teplotě místnosti. Výsledná směs se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu (95 : 5) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílé pěny, 46 mg, 83%; ^1H NMR (CD_3OD , 400MHz): δ 0,38 (m, 2H), 0,62 (m, 2H), 0,82 (t, 3H), 1,12 (m, 1H), 1,26 (m, 2H), 1,38 (m, 1H), 1,52 (m, 1H), 1,78-1,78 (m, 6H), 1,90 (m, 1H), 2,23 (m, 4H), 2,92 (d, 2H); LRMS: m/z 366,0 (MH^+); $[\alpha]_{\text{D}} = -7,75^\circ$ ($c = 0,08$, methanol)

P ř í k l a d 1 8

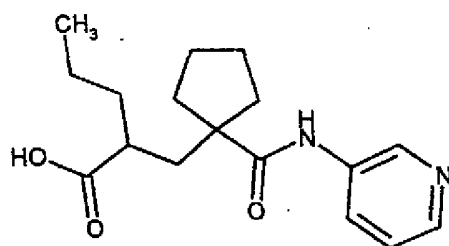
(2R)-2-{[1-([5-(Ethoxymethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl]amino)carbonyl]cyklopentyl)methyl]pentanová kyselina



Titulní sloučenina se získá ve formě bílé pěny v 62% výtěžku z terc-butylesteru z preparativního postupu 51, podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 17; ^1H NMR (CD_3OD , 400MHz) δ : 0,82 (t, 3H), 1,21-1,40 (m, 7H), 1,50 (m, 1 H), 1,60-1,77 (m, 7H), 1,88 (m, 1 H), 2,23 (m, 4H), 3,62 (q, 2H); $[\alpha]_D = -6,08^\circ$ ($c = 0,25$, methanol).

P ř í k l a d 1 9

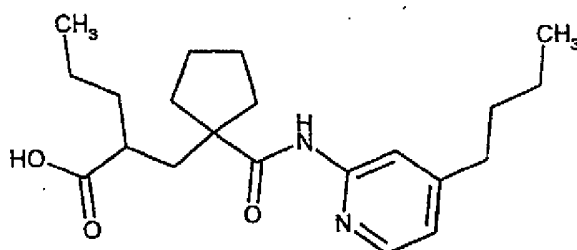
2-({1-[(3-Pyridinylamino)karbonyl]cyclopentyl}methyl).
pentanová kyselina



Směs benzylesteru z preparativního postupu 52 (130 mg, 0,33 mmol) a 10% palladia na uhlíku (20 mg) v 95% vodném ethanolu (3 ml) se 2 hodiny hydrogenuje za tlaku 103,5 kPa při teplotě místnosti. Reakční směs se přefiltruje přes Arbocel®, promyje ethanolem a filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Pryskyřičný zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu (95 : 5) jako elučního činidla Získá se sloučenina uvedená v nadpisu, 103 mg, 83 %; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,90 (t, 3H), 1,38 (m, 2H), 1,44 (m, 1H), 1,58-1,82 (m, 8H), 2,19 (m, 1H), 2,39 (m, 2H), 2,52 (m, 1H), 6,88 (m, 1H), 7,67 (m, 1H), 7,82 (d, 1H), 8,38 (d, 1H), 9,78 (s, 1H); LRMS: m/z 305 (MH^+).

P ř í k l a d 2 0

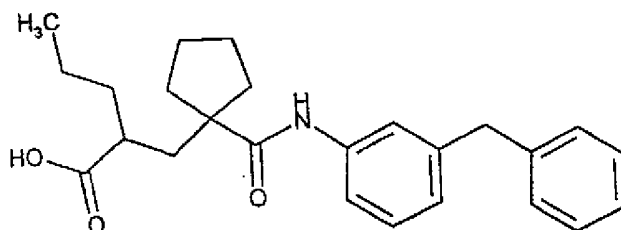
2-[(1-{[(4-Butyl-2-pyridinyl)amino]karbonyl}-
cyklopentyl)methyl]pentanová kyselina



Titulní sloučenina se získá v 92% výtěžku z benzylesteru z preparativního postupu 55, podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 19; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,90 (m, 6H), 1,28-1,50 (m, 5H), 1,58-1,81 (m, 10H), 2,20 (m, 1H), 2,40 (m, 2H), 2,58 (m, 3H), 6,70 (d, 1H), 7,68 (d, 1H), 8,22 (s, 1H), 9,90 (bs, 1H).

P ř í k l a d 2 1

2-({1-[(3-Benzylanilino)karbonyl]cyklopentyl)methyl}pentanová
kyselina

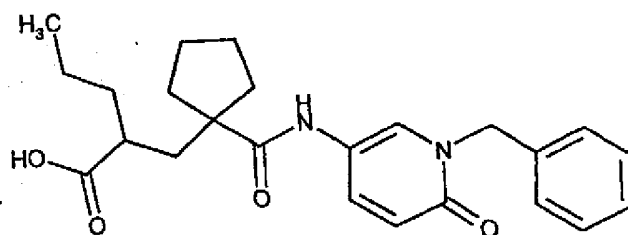


Směs benzylesteru z preparativního postupu 53 (1,3 mg, 2,47 mmol) a 5% palladia na uhlíku (130 mg) ve vodě (10 ml) a ethanolu (40 ml) se 2 hodiny hydrogenuje za tlaku 206,1 kPa

při teplotě místnosti. Reakční směs se přefiltruje přes Arbocel® a filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se trituruje s dichlormethanem. Získaná pryskyřice se trituruje s etherem a poté hexanem a vysuší při 50°C. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě pevné látky, 0,79 g, 81 %; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,95 (t, 3H), 1,24-1,51 (m, 3H), 1,58-1,80 (m, 7H), 1,88 (dd, 1H), 2,15 (m, 2H), 2,24 (m, 1H), 2,48 (m, 1H), 4,00 (s, 2H), 6,98 (d, 1H), 7,24 (m, 6H), 7,40 (m, 3H); Analýza nalezeno: C, 75,48; H, 7,76; N, 3,59. $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{NO}_3 \cdot 0,25\text{H}_2\text{O}$ vypočteno C, 75,44; H, 7,98; N, 3,51 %.

P ř í k l a d 2 2

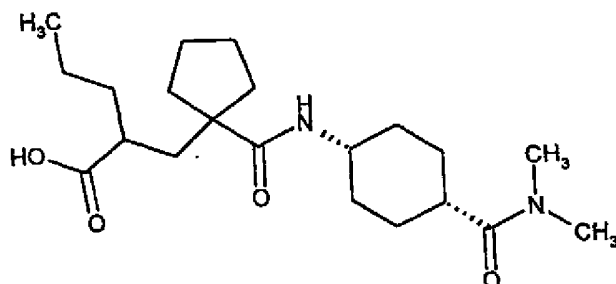
2-[(1-{[(1-Benzyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridinyl)amino]-karbonyl}cyklopentyl)methyl]pentanová kyselina



Titulní sloučenina se získá ve formě bílé pěny v 51 % výtěžku z benzylesteru z preparativního postupu 56, podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 21, s tím rozdílem, že se produkt přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu, za použití ethylacetátu jako elučního činidla; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,96 (t, 3H), 1,28-1,80 (m, 12H), 2,01 (m, 1H), 2,30-2,52 (m, 2H), 5,02 (dd, 2H), 6,60 (d, 1H), 7,27 (m, 5H), 7,70 (s, 1H), 8,34 (s, 1H); Analýza nalezeno: C, 69,52; H, 7,41; N, 6,51. $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0,25\text{H}_2\text{O}$ vypočteno C, 69,45; H, 7,41; N, 6,75.

P ř í k l a d 2 3

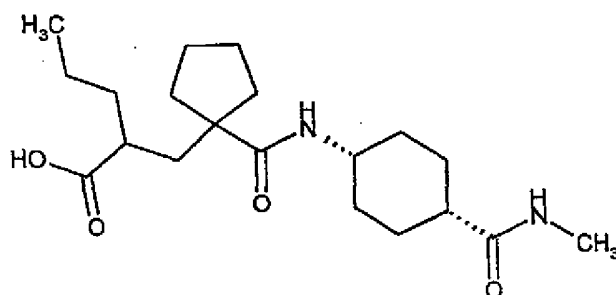
cis-2-({1-[(4-[(Dimethylamino)karbonyl]cyklohexyl)-amino]karbonyl}cyklopentyl)methylpentanová kyselina



Směs benzylesteru z preparativního postupu 58 (150 mg, 0,33 mmol) a 10% palladia na uhlíku (20 mg) ve vodě (0,3 ml) a ethanolu (3,5 ml) se 3 dny hydrogenuje za tlaku 103,5 kPa při teplotě místnosti. Reakční směs se přefiltruje přes Arbocel® a filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku. Pryskyřičný zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu (95 : 5) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu, 85 mg, 65%; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,84 (t, 3H), 1,29-1,96 (m, 18H), 2,01-2,23 (m, 4H), 2,37 (m, 1H), 2,62 (m, 1H), 2,96 (s, 3H), 3,03 (s, 3H), 3,96 (m, 1H), 5,98 (m, 1H); LRMS: m/z 381,8 (MH^+); Analýza nalezeno: C, 63,81; H, 9,58; N, 6,99. $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0,2\text{CH}_2\text{Cl}_2$ vypočteno C, 64,06; H, 9,23; N, 7,05 %.

P ř í k l a d 2 4

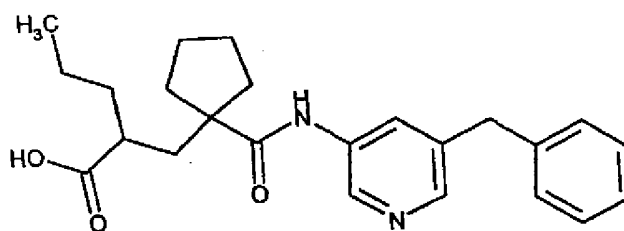
cis-2-({1-[(4-[(Methylamino)karbonyl]cyklohexyl)-amino]karbonyl}cyklopentyl)methylpentanová kyselina



Titulní sloučenina se získá ve formě bílé pevné látky v 34% výtěžku z benzylesteru z preparativního postupu 59, způsobem popsaným v příkladu 23; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,90 (t, 3H), 1,26-2,02 (m, 20H), 2,19 (m, 3H), 2,39 (m, 1H), 2,82 (d, 3H), 4,00 (m, 1 H), 5,69 (m, 1H), 6,00 (d, 1H); LRMS: m/z 365 ($\text{M}-\text{H}^-$).

P ř í k l a d 2 5

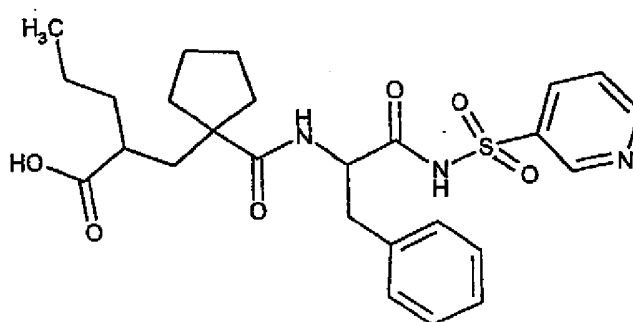
2-(1-{[(5-Benzyl-3-pyridinyl)amino]karbonyl}cyklopentyl)-methyllpentanová kyselina



Směs benzylesteru z preparativního postupu 54 (850 mg, 1,76 mmol) a 5% palladia na uhlíku (100 mg) ve 20% vodném ethanolu (30ml) se 2 hodiny hydrogenuje za tlaku 206,1 kPa při teplotě místnosti a poté přefiltruje přes Arbocel®. Zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě pěny, 0,63g; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,92 (t, 3H), 1,30-1,83 (m, 11H), 2,07 (m, 1H), 2,42 (m, 3H), 3,82 (s, 2H), 7,15-7,38 (5H), 7,80 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,62 (s, 1H); Analýza nalezeno: C, 72,29; H, 7,70; N, 6,90. $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 0,25\text{H}_2\text{O}$ vypočteno C, 72,24; H, 7,70; N, 7,02%.

P ř í k l a d 2 6

2-({1-[(1-Benzyl-2-oxo-2-oxo-2-[(3-pyridinylsulfonyl)-amino]ethyl)amino)karbonyl]cyklopentyl)methyl)pentanová kyselina

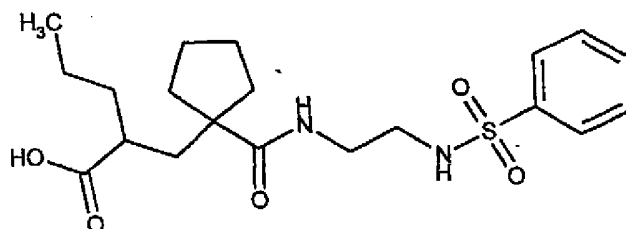


Směs benzylesteru z preparativního postupu 57 (918 mg, 1,52 mmol) a 10% palladia na uhlíku (90 mg) ve vodě (10 ml) a ethanolu (50 ml) se 4,5 hodiny hydrogenuje za tlaku 343,5 kPa při teplotě místnosti. Analýza pomocí TLC ukáže, že ve směsi je ještě přítomna výchozí látka. K reakční směsi se tedy přidá další katalyzátor (70 mg). Reakční směs se hydrogenuje dalších 18 hodin. Analýza pomocí TLC ukáže, že ve směsi je ještě přítomna výchozí látka. K reakční směsi se tedy přidá další katalyzátor (70 mg). Reakční směs se hydrogenuje dalších 6 hodin a poté přefiltruje přes Arbocel®. Filtrát se odpaří za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu dichlormethan : kyselina octová : ethanol (99 : 1 : 0 až 79,1 : 0,9 : 20). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílé pěny, 271 mg, 35%; ^1H NMR (DMSO-d_6 , 300MHz): δ 0,75 (m, 3H), 0,96-1,42 (m, 11 H), 1,61-1,99 (m, 4H), 2,75-3,02 (m, 2H), 4,45 (m, 1 H), 7,20 (m, 6H), 7,62 (m, 1H), 8,24 (m, 1H), 8. 83 (s, 1H), 9,01 (s, 1H), 11,98 (bs, 1H), 12,70 (bs, 1H);

IR (KBr disk) 1185, 1195 (m), 1455, 1515, 1640, 1704, 2870, 2930, 2960 (s).

P ř í k l a d 2 7

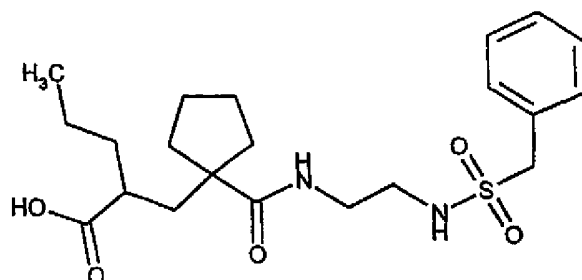
2-({1-[(2-[(Fenylsulfonyl)amino]ethyl)amino]karbonyl}-
cyklopentyl)methyl)pentanová kyselina



Sms aminu z preparativního postupu 61 (235 mg, 0,72mmol), benzensulfonylchloride (127 mg, 0,72 mmol) a triethylaminu (150 μ l, 1,08 mmol) v dichlormethanu (6 ml) se míchá 2 dny při teplotě místnosti. Výsledná směs se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a pentanu (30 : 70) jako elučního činidla. Čirý olejovitý zbytek se rozpustí v trifluoroctové kyselině (3 ml) a dichlormethanu (3 ml). Výsledný roztok se 6 hodin míchá při teplotě místnosti. Výsledná směs se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se dvakrát azeotropicky odpaří s toluenem. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a pentanu (30 : 70) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě čirého oleje, 204 mg, 69%; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ : 0,84 (t, 3H), 1,22-1,43 (m, 4H), 1,43-2,18 (m, 10H), 2,36 (m, 1H), 3,11 (m, 2H), 3,20-3,31 (m, 1H), 3,423,53 (m, 1H), 6,13-6,24 (m, 1H), 7,42-7,59 (m, 3H), 7,84 (m, 2H); LRMS: m/z 411. 8 (MH^+); Analýza nalezeno: C, 57,26; H, 7,40; N, 6,61. $\text{C}_{20}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ vypočteno C, 57,18; H, 7,22; N, 6,62 %.

P ř í k l a d 2 8

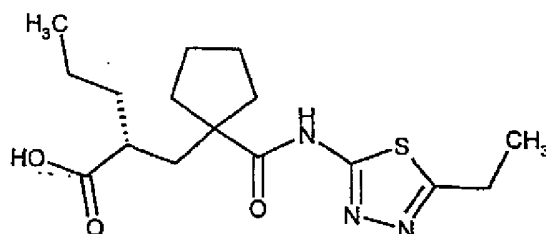
2-({1-[(2-[(Benzylsulfonyl)amino]ethyl)amino]karbonyl}-
cyklopentyl)methyl}pentanová kyselina



Titulní sloučenina se získá ve formě čirého oleje v 97% výtěžku z aminu z preparativního postupu 61, způsobem popsaným v příkladu 27. ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,87 (t, 3H), 1,19-1,72 (m, 11H), 1,80-1,96 (m, 1H), 2,00-2,16 (m, 2H), 2,27-2,38 (m, 1H), 2,92-3,21 (m, 3H), 3,23-3,39 (m, 1H), 4,25 (s, 2H), 5,80-6,06 (m, 1H), 6,38 (m, 1H), 7,29-7,43 (m, 5H); LRMS: m/z 425,8 (MH^+).

P ř í k l a d 2 9

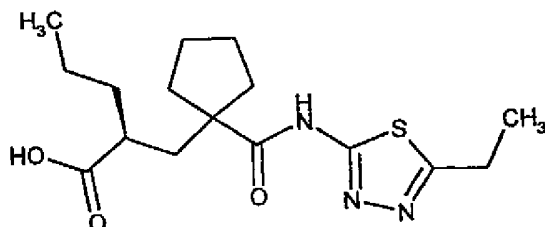
(2R)-2-[(1-[(5-Ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl)-
cyklopentyl)methyl}pentanová kyselina



a

P ř í k l a d 3 0

(2S)-2-[(1-{(5-Ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)aminokarbonyl}-cyklopentyl)methyl]pentanová kyselina



Kyselina z příkladu 4 (824 mg) se dále přečistí HPLC za použití sloupce AD a směsi hexanu, isopropylalkoholu a kyseliny octové (85 : 15 : 0,2) jako elučního činidla. Získá se sloučenina z příkladu 29 ve formě bílé pěny, 400 mg, 99,5% enantiomerní nadbytek, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,90 (t, 3H), 1,36 (m, 6H), 1,50-1,80 (m, 9H), 2,19 (m, 1H), 2,30 (m, 1H), 2,44 (m, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,98 (q, 2H), 12,10-12,30 (bs, 1H), LRMS: m/z 338 (MH^-), $[\alpha]_D = -9,0^\circ$ (c = 0,1, methanol) a titulní sloučenina z příkladu 30 ve formě bílé pěny, 386 mg, 99% enantiomerní nadbytek, $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,90 (t, 3H), 1,38 (m, 6H), 1,50-1,79 (m, 9H), 2,19 (m, 1H), 2,30 (m, 1H), 2,44 (m, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,98 (q, 2H), 12,10-12,27 (bs, 1H); LRMS: m/z 338 (MH^-); $[\alpha]_D = +3,8^\circ$ (c = 0,1, methanol).

Alternativně je sloučeninu z příkladu 29 možno připravit následujícím způsobem:

K roztoku produktu z preparativního postupu 51 (574 g, 1,45 mol) v dichlormethanu (2,87 litru) se během 50 minut za chlazení na 10°C přidá kyselina trifluoroctová (1,15 litru). Po dokončení přídávku se reakční směs během 24 hodin za míchání pod atmosférou dusíku nechá zahřát na teplotu okolí a přidá se k ní deionizovaná voda (2,6 litru). Reakční směs se promyje deionizovanou vodou (3 x 2,6 litru). Dichlormethanová

vrstva se zkoncentruje na objem asi 1 litr. Získá se surový produkt (439 g, 1,29 ml, 96% výtěžek) ve formě roztoku v dichlormethanu. Přečištěný vzorek titulní sloučeniny se získá za použití následujícího postupu: K dichlormethanovému roztoku (2,34 litru) surového produktu, z něhož se filtrací odstraní kontaminující částice, se přidá isopropylacetát (1,38 litru). Výsledná směs se destiluje za atmosférického tlaku za průběžného doplňování isopropylacetátu, dokud teplota roztoku nedosáhne 87°C. Zahřívání se ukončí a roztok se během 14 hodin za míchání nechá zchladnout na teplotu okolí, čímž se získá zakalený hnědý roztok. Rychlost míchání se zvýší a zahájí se krystalizace. Suspenze se nechá granulovat 12 hodin při teplotě okolí. Výsledná suspenze se 3,5 hodiny chladí na 0°C. Pevná látka se odfiltruje a filtrační koláč se promyje isopropylacetátem (2 x 185 ml a poté 2 x 90 ml). Pevná látka se 18 hodin suší za vakua při 40 až 45°C. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (602 g, 0,18 ml, 70% výtěžek) ve formě krémově zbarvené krystalické pevné látky o teplotě tání 130 až 136°C. LRMS (negativní APCI) : m/z $[M-H]^-$ 338; 1H -NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ 0,92 (t, 3H), 1,27-1,52 (m, 7H), 1,52-1,89 (m, 8H), 2,11-2,27 (m, 1H), 2,27-2,37 (m, 1H), 2,42-2,55 (m, 1H), 2,65 (dd, 2H), 3,00 (q, 2H), 12,25 (bs, 1H).

Sloučeninu z příkladu 29 je možno přečistit následujícím postupem: Titulní sloučenina z příkladu 29 se rozpouští v methanolu. K methanolickému roztoku se přidá methoxid sodný (1 ekv.) v methanolu (1 ml/g sloučeniny z příkladu 29). Vzniklá směs se 20 minut míchá při teplotě místnosti, načež se z ní za sníženého tlaku odstraní rozpouštědlo. Zbytek se azeotropicky odpaří s ethylacetátem. Ke hnědému zbytku se přidá ethylacetát. Roztok se odfiltruje a hnědá pevná látka se promyje terc-butylmethyletherem. Získá se surová sodná sůl sloučeniny z příkladu 29. Tento surový produkt (35 g) se rozdělí mezi vodu (200 ml) a ethylacetát (350 ml). Přídavkem koncentrované

kyseliny chlorovodíkové (asi 7 ml) se pH vodné vrstvy upraví na 2. Vodná fáze se promyje ethylacetátem (2 x 100 ml). Spojené vrstvy se vysuší síranem hořečnatým a za sníženého tlaku se z nich odstraní rozpouštědlo, čímž se získá světle hnědý zbytek (31 g). Ke zbytku se přidá ethylacetát (64 ml, 2 ml/g) a diisopropylether (155 ml, 5 ml/g). Výsledná směs se zahřívá na 68°C, dokud nevznikne čirý roztok (asi 30 minut). Po ochlazení na teplotu místnosti vykrystaluje volná kyselina. Po 30 minutách míchání při teplotě místnosti se produkt shromáždí filtrací a promyje diisopropyletherem. Produkt se přes noc suší ve vakuové sušárně při 50°C. Získá se 20,2 g produktu (izolační výtěžek 61 %, vztaženo na sodnou sůl) o teplotě tání 135°C (stanovené za použití zařízení Perkin Elmer DSC7 při rychlosti zahřívání 20°C/min).

V následující tabulce jsou uvedeny hlavní píky (od 2 do 40° 2- θ) PXRD obrazce. PXRD byla prováděna bez srovnání s vnitřním standardem (například silikonovým práškem). Polohy píků tedy podléhají možným chybám měřících přístrojů a úrovně vzorku.

Úhel 2 θ (°)	Intenzi- ta (%)	Úhel 2 θ (°C)	Intenzi- ta (%)	Úhel 2 θ (°C)	Intenzi- ta (%)
6,701	59,8	20,121	36,1	28,539	17,3
8,908	11,2	20,425	7,1	30,092	56,0
9,305	8,6	21,104	8,9	31,236	8,8
9,590	4,5	21,326	5,7	32,010	12,8
10,039	25,3	21,733	100,0	32,810	8,0
10,206	59,3	22,150	18,7	33,106	6,6
10,578	11,3	22,816	10,2	33,720	8,0
10,984	12,2	23,327	46,2	34,033	9,2
12,075	10,3	23,681	6,4	34,388	12,4
13,054	5,5	23,960	9,5	34,646	8,5
14,256	8,2	24,248	14,0	34,821	8,2
15,695	45,2	24,722	9,4	35,806	7,3
16,316	17,1	25,505	15,5	36,272	13,5
16,418	8,5	25,779	10,5	36,633	12,1
16,698	24,1	26,267	7,0	37,500	7,8
17,129	16,5	26,724	20,4	37,862	11,7
17,605	20,9	26,890	70,4	38,281	6,5
18,575	23,6	27,663	7,2	39,975	11,8
19,296	14,0	28,158	16,8		

Soli sloučeniny z příkladu 29

Sodné soli

a) Forma s nižší teplotou tání

Titulní produkt z příkladu 29 se rozpustí v methanolu (80 mg ve 2,5 ml, 33 ml/g). Ke vzniklému roztoku se přidá hydroxid sodný (0,024 ml 10M roztoku). Po odpaření methanolu vykrystaluje sodná sůl, které se používá bez dalšího přečištění. Získaná sůl se 5 hodin suší za vysokého vakua. Získá se 85 mg soli (kvantitativní výtěžek) o teplotě tání 214°C (stanovené za použití TA zařízení DSC2910 při rychlosti zahřívání 10°C/min).

V následující tabulce jsou uvedeny hlavní píky (od 2 do 40° 2-théta) PXRD obrazce. PXRD byla prováděna bez srovnání s vnitřním standardem (například silikonovým práškem). Polohy píků tedy podléhají možným chybám měřících přístrojů a úrovně vzorku.

Úhel 2-théta (°)	Intenzita (%)	Úhel 2-théta (°)	Intenzita (%)	Úhel 2-théta (°)	Intenzita (%)
7,748	92,8	15,814	14,0	25,995	15,4
8,380	17,8	16,496	43,9	26,753	18,4
8,950	14,3	17,349	40,9	28,085	20,4
9,515	8,9	17,687	100,0	28,883	19,9
10,043	11,7	18,229	35,3	29,737	19,7
11,000	13,2	18,736	40,9	30,227	21,6
11,829	17,5	19,754	37,5	31,204	28,1
12,258	17,3	20,258	50,3	31,729	20,6
13,087	19,0	20,498	93,1	34,825	19,7
13,464	22,3	21,719	47,4	35,394	24,2
13,808	13,4	22,499	35,5	36,018	22,9
14,840	14,3	23,310	29,9	37,722	24,5
15,197	27,1	24,111	19,5	39,304	20,6
15,489	21,4	25,165	19,1		

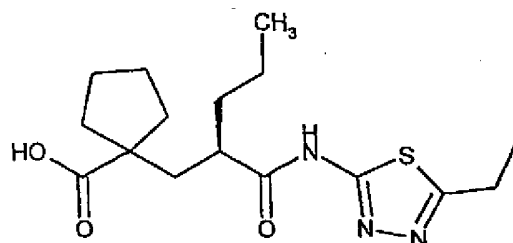
b) Forma s vyšší teplotou tání

Titulní produkt z příkladu 29 se rozpustí v methanolu (450 mg v 15 ml, 33 ml/g). Ke vzniklému roztoku se přidá hydroxidu sodný (1,33 ml 1M roztoku). Methanol se odežene za sníženého tlaku v rotačním odpařováku. Pryskyřičný zbytek se azeotropicky odpaří jednou s isopropylalkoholem (8 ml), aby se odstranilo zbytkové množství methanolu a vody, a přidá se k ní další dávka isopropylalkoholu (15 ml). Výsledná směs se zahřívá, dokud nevznikne homogenní směs. Po ochlazení vykrystaluje sodná sůl. Směs se 10 minut udržuje při teplotě místnosti. Sůl se odfiltruje, promyje isopropylalkoholem a 30 minut suší ve vakuové sušárně při 60°C. Izoluje se 200 mg sodné soli o teplotě tání 252°C (stanovené za použití TA zařízení DSC2910 při rychlosti zahřívání 10°C/min).

V následující tabulce jsou uvedeny hlavní píky (od 2 do 40° 2-théta) PXRD obrazce. PXRD byla prováděna bez srovnání s vnitřním standardem (například silikonovým práškem). Polohy píků tedy podléhají možným chybám měřících přístrojů a úrovně vzorku.

Úhel 2-théta (°)	Intenzita (%)	Úhel 2-théta (°)	Intenzita (%)	Úhel 2-théta (°)	Intenzita (%)
3,419	0,8	20,682	1,5	30,090	1,1
6,674	100,0	20,758	1,7	30,735	0,9
7,394	0,4	20,841	1,4	31,360	1,4
8,200	1,7	21,058	1,0	32,025	3,5
11,465	0,4	21,462	0,5	32,742	0,7
13,010	1,5	21,935	2,0	33,072	0,7
13,337	0,8	22,965	0,6	33,723	1,2
16,414	0,7	23,585	1,1	34,261	0,7
17,288	2,8	24,868	1,4	35,946	1,8
18,165	0,9	25,387	1,1	36,839	0,7
18,987	1,4	25,733	1,8	37,484	0,7
19,330	0,5	26,124	0,9	38,519	1,4
19,687	0,8	26,826	0,9	38,801	1,3
20,069	1,8	28,719	1,8		

Titulní sloučenina z příkladu 29 je metabolizována na (2R)-1-(2-{[(5-ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}pentyl)cyklopentankarboxylovou kyselinu.

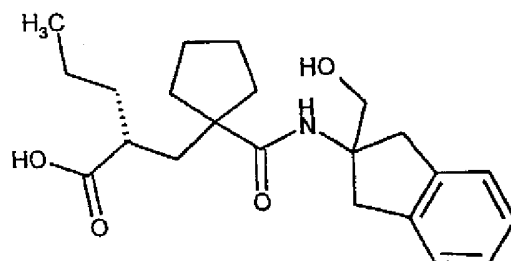


Tato sloučenina se připraví následujícím způsobem:

Produkt z preparativního postupu 102 (430 mg, 1 mmol) se vyjme do ethanolu (5 ml) a methanolu (1 ml). Vzniklá směs se 2 hodiny hydrogenuje za tlaku 206,1 kPa, poté přefiltruje přes Arbocel®. Žlutý olej se přečistí sloupcovou chromatografií za použití směsi dichlormethanu a methanolu (nejprve 19 : 1 a poté 9 : 1) jako elučního činidla. Získá se produkt ve formě čirého oleje (120 mg, 35 %). $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 0,88 (t, 3H), 1,20-1,88 (m, 13H), 1,90-2,03 (m, 1H), 2,24-2,38 (m, 1H), 2,43-2,72 (m, 2H), 2,95 (q, 2H); LRMS m/z 340,2 ($\text{M}+\text{H}$).

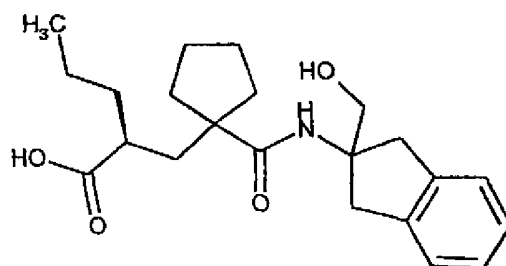
P ř í k l a d 3 1

(R)-2-{[1-({[2-(Hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]amino}karbonyl)cyclopentyl]methyl}pentanová kyselina a



P ř í k l a d 3 2

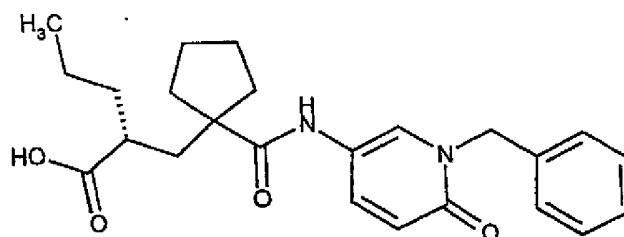
(S)-2-{[1-({[2-(Hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]amino}karbonyl)cyclopentyl]methyl}pentanová kyselina



2-{[1-({[2-(Hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyclopentyl]methyl}pentanová kyselina (WO 9110644, příklad 8) se dále přečistí HPLC na sloupci AD za použití směsi hexanu, isopropylalkoholu a kyseliny trifluor-octové (90 : 10 : 1) jako elučního činidla. Získá se titulní sloučenina z příkladu 31 (99% enantiomerní nadbytek), $[\alpha]_D = +10,4^\circ$ ($c = 0,067$, ethanol) a titulní sloučenina z příkladu 32 (99% enantiomerní nadbytek), $[\alpha]_D = -10,9^\circ$ ($c = 0,046$, ethanol).

P ř í k l a d 3 3

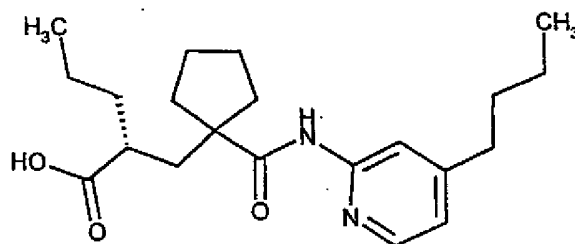
(2R)-2-[(1-({[1-Benzyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridinyl]amino}karbonyl)cyclopentyl)methyl]pentanová kyselina



Hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (191 mg, 1,0 mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (135 mg, 0,1,0 mmol), N-methylmorfolin (165 μ l, 1,5 mmol) a nakonec amin z preparativního postupu 28 (150 mg, 0,69 mmol) se přidají k roztoku z preparativního postupu 2 (284 mg, 1,0 mmol) v N,N-dimethylformamidu (8 ml). Reakční směs se 18 hodin míchá při 90°C. Výsledný roztok se ochladí a zředí ethylacetátem (90 ml) Ethylacetátová směs se promyje vodou (4 x 50 ml) a vodným chloridem sodným (50 ml), vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí chromatografií na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a pentanu (30 : 70) jako elučního činidla. Získá se žlutý olej (191 mg). Tento meziprodukt se rozpustí v dichlormethanu (3 ml). K dichlormethanovému roztoku se přidá trifluoroctová kyselina (3 ml). Výsledný roztok se 5 hodin míchá při teplotě místnosti a poté zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu (95 : 5) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě pěny, 77 mg, ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,86 (t, 3H), 1,20-1,76 (m, 12H), 1,93-2,02 (m, 1H), 2,20-2,46 (m, 3H), 4,95 (d, 1H), 5,04 (d, 1H), 6,61 (d, 1H), 7,21 (m, 1 H), 7,50 (s, 1 H), 8,23 (s, 1 H); LRMS: m/z 411,6 (MH) $^+$; $[\alpha]_D = -3,8^\circ\text{C}$ (c = 0,052, ethanol).

P ř í k l a d 3 4

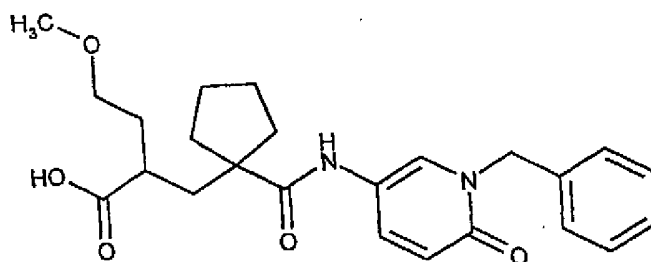
(2R)-2-[(1-{[(1-{[(4-Butyl-2-pyridinyl)amino]karbonyl}-cyklopentyl)methyl]pentanová kyselina



Titulní sloučenina se získá v 43% výtěžku z kyseliny z preparativního postupu 2 a aminu z preparativního postupu 30, podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 33, ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,80-1,00 (m, 6H), 1,22-1,84 (m, 18H), 2,03-2,56 (m, 3H), 2,77 (m, 1H), 7,14 (d, 1H), 8,08 (d, 1H), 8,23 (s, 1H), 11,71 (brs, 1H); LRMS: m/z 361,7 (MH) $^+$, $[\alpha]_D = -1,4^\circ$ ($c = 0,14$, ethanol).

P ř í k l a d 3 5

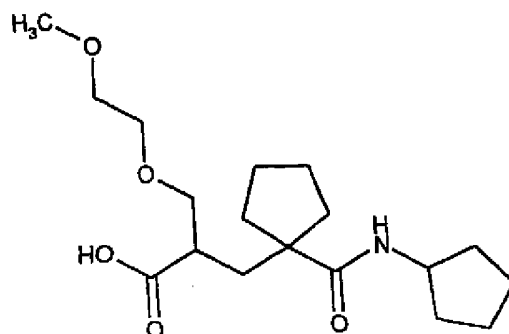
2-[(1-{[(1-Benzyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridinyl)amino]-karbonyl}cyklopentyl)methyl]-4-methoxybutanová kyselina



Směs benzylesteru z preparativního postupu 62 (850 mg, 1,64mol) a 5% palladia na uhlíku (250 mg) ve 40% vodném ethanolu (21 ml) se 30 minut hydrogenuje za tlaku 206,1 kPa při teplotě místnosti. Reakční směs se přefiltruje přes Hyflo[®] a filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Pěnovitý zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu (97 : 3) jako elučního činidla Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílé pěny, 550 mg, 79%; ^1H NMR ($\text{DMSO}-d_6$, 300MHz): δ 1,24-2,17 (m, 12H), 2,18-2,31 (m, 1H), 3,07 (s, 3H), 3,21 (t, 2H), 5,08 (s, 2H), 6,63 (d, 1H), 7,23-7,41 (m, 5H), 7,72 (d, 1H), 8,24 (s, 1H); Analýza nalezeno: C, 67,46; H, 7,18; N, 6,24. $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$ vypočteno C, 67,58; H, 7,09; N, 6,57 %.

P ř í k l a d 3 6

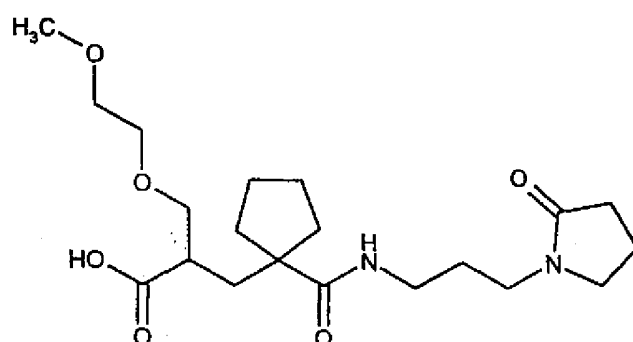
3-{1-[(Cyklopentylamino)karbonyl]cyklopentyl}-2-[(2-methoxyethoxy)methyl]propanová kyselina



Roztok terc-butylesteru z preparativního postupu 64 (320 mg, 0,80 mmol) v trifluoroctové kyselině (2 ml) a dichlormethanu (2 ml) se 8 hodin míchá při teplotě místnosti. Výsledná směs se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří dvakrát s toluenem. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu (95 : 5) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě čirého oleje, 171 mg, 62%; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,29-1,40 (m, 2H), 1,42-1,69 (m, 10H), 1,75 (dd, 1H), 1,87-2,03 (m, 5H), 2,64 (m, 1 H), 3,34 (s, 3H), 3,43-3,52 (m, 3H), 3,57 (m, 2H), 3,61 (m, 1H), 4,08-4,20 (m, 1H), 5,89 (d, 1H); LRMS: m/z 340 (MH^+).

P ř í k l a d 3 7

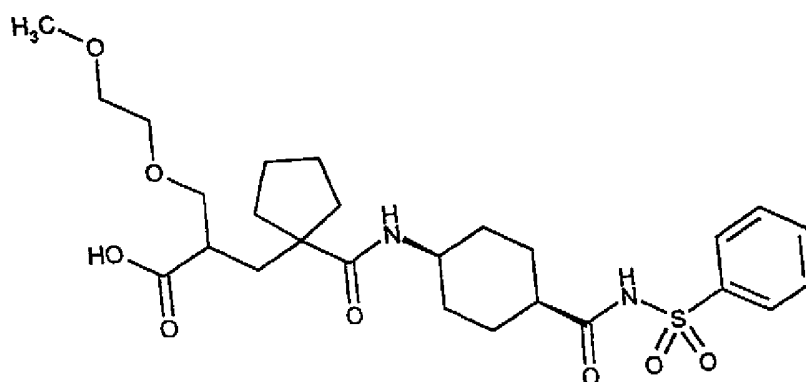
3-(2-Methoxyethoxy)-2-{[1-([3-(2-oxo-1-pyrrolidinyl)propyl]-amino)karbonyl]cyklopentyl}methylpropanová kyselina



Titulní sloučenina se získá ve formě čirého oleje v 57% výtěžku z terc-butylesteru z preparativního postupu 65, způsobem popsaným v příkladu 36, ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 1,56-1,78 (m, 8H), 1,94-2,17 (m, 6H), 2,44 (m, 2H), 2,68-2,76 (m, 1H), 3,10-3,21 (m, 1H), 3,22-3,31 (m, 1H), 3,37 (s, 3H), 3,40 (m, 2H), 3,44-3,56 (m, 5H), 3. 60 (m, 2H), 3,68 (m, 1H), 6,91-7,01 (m, 1H); LRMS: m/z 398,7 (M⁺).

P ř í k l a d 3 8

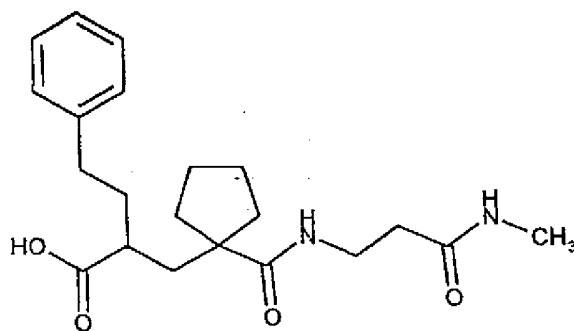
cis-3-(2-Methoxyethoxy)-2-[(1-{[(4-{[(fenylsulfonyl)amino]-karbonyl}cyklohexyl)aminokarbonyl]cyklopentyl)methyl]propanová kyselina



Roztok terc-butylesteru z preparativního postupu 66 (446 mg, 0,75 mmol) v dichlormethanu (5 ml) a trifluoroctová kyselina (5 ml) se 18 hodin míchá při teplotě místnosti. Reakční směs se zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem, poté s toluenem a poté s etherem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílé pěny, 385 mg, 95%; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,48-2,17 (m, 18H), 2,40 (s, 1H), 2,66 (s, 1H), 3,37 (s, 3H), 3,50-3,70 (m, 6H), 3,94 (s, 1H), 6,10 (d, 1H), 6,59 (s, 1H), 7,55 (t, 2H), 7,61 (m, 1H), 8,02 (d, 2H), 9,11 (s, 1H); Analýza nalezeno: C, 54,88; H, 6,90; N, 5,04. $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_8\text{S} \cdot 1,7\text{H}_2\text{O}$ vypočteno C, 57,97; H, 7,11; N, 5,20 %.

P ř í k l a d 3 9

2-{[1-({[3-(Methylamino)-3-oxopropyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]methyl}-4-fenylbutanová kyselina

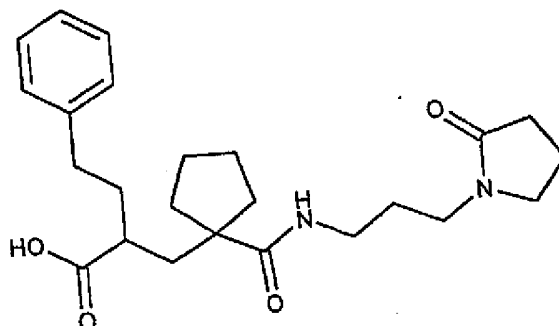


Směs benzylesteru z preparativního postupu 68 (160 mg, 0,34 mmol) a 10% palladia na uhlíku (100 mg) v ethanolu (30 ml) se 18 hodin hydrogenuje při teplotě místnosti za tlaku 343,5 kPa. Reakční směs se přefiltruje přes Arbocel® a filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního

gradientu dichlormethan : methanol : kyselina octová (95 : 5 : 0 až 95 : 5 : 0,5). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílé pěny, 100 mg, 79%; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,40-1,70 (m, 8H), 1,95 (m, 3H), 2,10 (m, 1H), 2,35 (d, 3H), 2,59 (m, 2H), 2,75 (t, 3H), 3,42 (m, 2H), 6,25 (bs, 1H), 6,70 (bs, 1H), 7,13-7,25 (m, 5H); LRMS: m/z 375,0 (MH^+).

P ř í k l a d 4 0

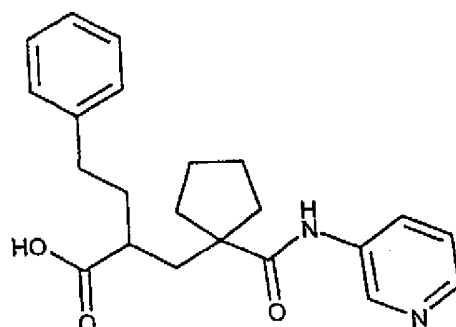
2-{[1-({[3-(2-Oxo-1-pyrrolidiny)propyl]amino}karbonyl-cyklopentyl)methyl]-4-fenylbutanová kyselina



Směs benzylesteru z preparativního postupu 67 (780 mg, 1,55 mmol) a 10% palladia na uhlíku (100 mg) ve směsi ethanolu a vody (90 : 10, objemově, 30 ml) se 1,5 hodiny hydrogenuje při teplotě místnosti za tlaku vodíku 412,2 kPa. Katalyzátor se odfiltruje a filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílé pěny, 473 mg, 74%; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,26-1,77 (m, 10H), 1,78-2,46 (m, 11 H), 2,49-2,70 (m, 2H), 2,95-3,36 (m, 4H), 6,92-7,38 (m, 5H); Anal. nalezeno: C, 64,05; H, 7,73; N, 6,22. $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4$; $0,75\text{H}_2\text{O}$ vypočteno C, 65,88; H, 7,83; N, 6,40 %.

P ř í k l a d 4 1

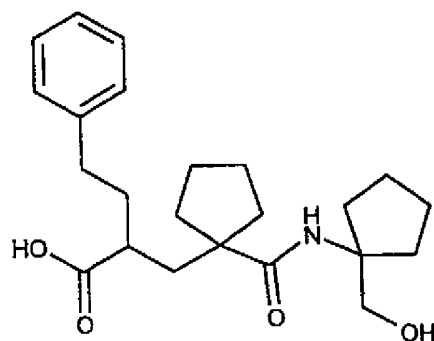
4-Fenyl-2-({1-[(3-pyridinylamino)karbonyl]-
cyklopentyl}methyl)butanová kyselina



Směs benzylesteru z preparativního postupu 71 (700 mg, 1,53 mmol) a 5% palladia na uhlíku (70 mg) ve směsi ethanolu a vody (90 : 10 objemově, 50 ml) se 5 hodin hydrogenuje při teplotě místnosti za tlaku vodíku 206,1 kPa. Katalyzátor se odstraní filtrací přes Arbocel® a důkladně promyje ethanolem. Filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu (95 : 5) jako elučního činidla. Získá se titulní sloučenina ve formě bílé pěny, 510 mg, 91 %; o teplotě tání 80 až 85°C (zhroucení na pryskyřici); ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,40-2,78 (m, 15H), 6,93-7,39 (m, 5H), 7,93 (m, 1H), 8,59 (d, 1H), 9,17 (d, 1H), 9,41 (s, 1H); Analýza nalezeno: C, 70,83; H, 7,10; N, 7,64. $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 0,3\text{H}_2\text{O}$ vypočteno C, 70,94; H, 7,22; N, 7,52 %.

P ř í k l a d 4 2

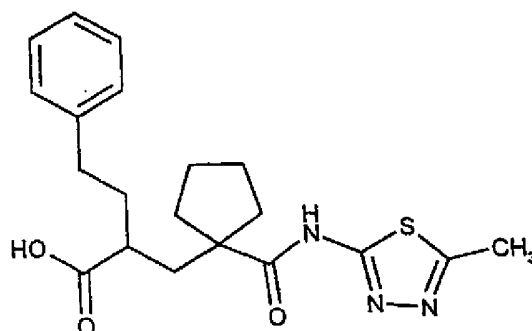
2-{[1-({[1-(Hydroxymethyl)cyklopentyl]amino}-
karbonyl)cyklopentyl]methyl}-4-fenylbutanová kyselina



Směs benzylesteru z preparativního postupu 69 (118 mg, 0,25 mmol) a 10% palladia na uhlíku (100 mg) v ethanolu (20 ml) se 18 hodin hydrogenuje při teplotě místnosti za tlaku 412,2 kPa. Reakční směs se přefiltruje přes Arbocel®. Filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bezbarvé pryskyřice, 95 mg, 98 %; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 1,41-1,80 (m, 17H), 1,90 (m, 1H), 1,92-2,20 (m, 3H), 2,40 (m, 1H), 2,60 (m, 2H), 3,60 (d, 1H), 3,71 (d, 1H), 5,80 (bs, 1H), 7,15-7,30 (m, 5H); LRMS: m/z 388,1 (MH^+).

P ř í k l a d 4 3

2-[(1-[(5-Methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]carbonyl)cyclopentyl)methyl]-4-phenylbutanová kyselina

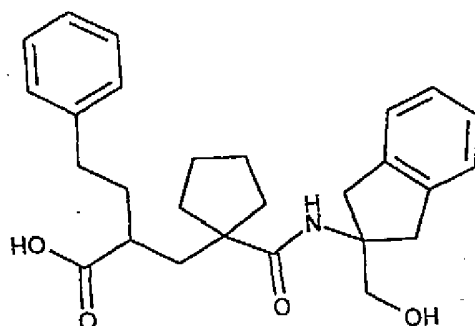


Směs benzylesteru z preparativního postupu 70 (187 mg, 0,39 mmol) a 10% palladia na uhlíku (80 mg) v ethanolu (20 ml) se 18 hodin hydrogenuje za tlaku 412,2 kPa. Analýza pomocí TLC

ukáže, že ve směsi je ještě přítomna výchozí látka. K reakční směsi se tedy přidá další dávka 10% palladia na uhlíku (100 mg) a v reakci se pokračuje dalších 5 hodin. Analýza pomocí TLC znovu ukáže, že ve směsi je ještě přítomna výchozí látka. Ke směsi se tedy přidá katalyzátor (100 mg) a v hydrogenaci se pokračuje 18 hodin. Reakční směs se přefiltruje přes Arbocel® a filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem. Surový produkt se přečistí chromatografií na silikagelu za použití sloupce Biotage® a směsi dichlormethan : methanol (95 : 5) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě čirého oleje, 80 mg, 53%; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,51-1,89 (m, 9H), 2,03 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 2,40 (m, 2H), 2,60 (m, 5H), 7,15-7,30 (m, 5H); LRMS: m/z 387,8 (MH^+)

P ř í k l a d 4 4

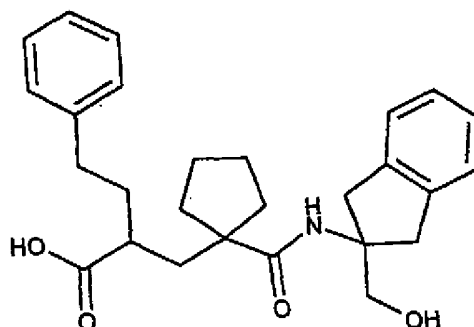
(R)-2- 1-({ [2-(Hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)-cyklopentyl)methyl-4-fenylbutanová kyselina



a

P ř í k l a d 4 5

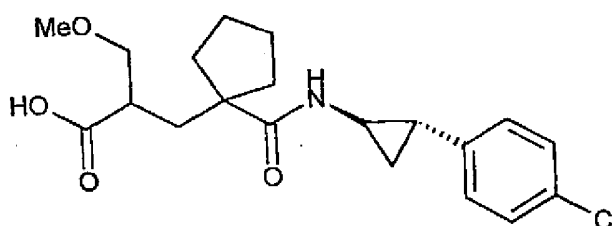
(S)-2-{ [1-({ [2-(Hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyklopentyl)methyl}-4-fenylbutanová kyselina



2-{[1-({[2-(Hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyclopentyl]methyl}-4-fenylbutanová kyselina (WO 9110644, příklad 9) se přečistí standardním HPLC postupem za na sloupci AD za použití směsi hexanu, isopropylalkoholu a kyseliny trifluoroctové (70 : 30 : 0,2) jako elučního činidla. Získá se sloučenina z příkladu 44 (99,5% enantiomerní nadbytek), $[\alpha]_D = +9,1^\circ$ ($c = 1,76$, ethanol); a titulní sloučenina z příkladu 45 (99,5% enantiomerní nadbytek) $[\alpha]_D = -10,5^\circ$ ($c = 2,2$, ethanol).

P ř í k l a d 4 6

trans-3-[1-({[2-(4-Chlorfenyl)cyklopropyl]amino}-karbonyl)cyclopentyl]-2(methoxymethyl)propanová kyselina

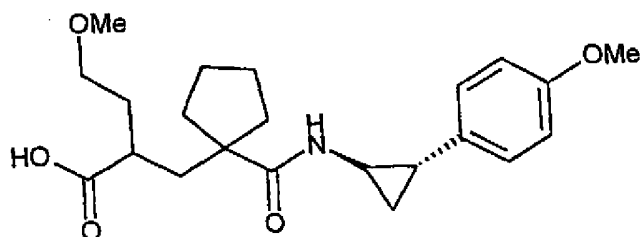


Produkt z preparativního postupu 72 (160 mg, 0,39 mmol) se vyjme do 50 ml DCM. Dichlormethanový roztok se ochladí na 0°C a 15 minut se jím nechá probublávat plynný chlorovodík. Reakční směs se 16 hodin míchá při teplotě místnosti a zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se přečistí sloupcovou

chromatografií za použití směsi methanolu a dichlormethanu jako elučního činidla. Získá se titulní produkt (18 mg, 12 %). R_f 5:95 (DCM:MeOH) 0,2; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): 1,04-1,18 (m, 2H), 1,20-1,36 (m, 2H), 1,36-1,79 (m, 7H), 1,83-2,08 (m, 4H), 2,57-2,66 (m, 1 H), 2,73-2,83 (m, 1 H), 3,27 (s, 3H, OMe), 3,32-3,41 (m, 1H), 3,48 (zřej. dd, 1H, CHOMe), 6,21 (s, NH), 7,03 (d, 2H, Ar), 7,18 (d, 2H, Ar); LRMS: m/z , M-H 378; HRMS nalezeno MH^+ 380,1622, vypočteno MH^+ 380,1623.

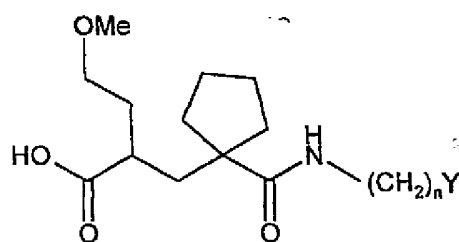
P ř í k l a d 4 7

trans-3-[1-([2-(4-Methoxyfenyl)cyklopropyl]amino)-karbonyl]cyklopentyl]-2-(methoxyethyl)propanová kyselina



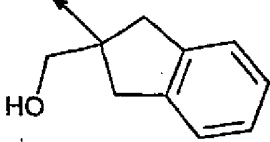
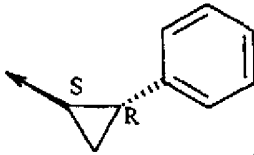
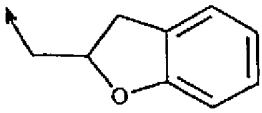
Produkt z preparativního postupu 81 (113 mg, 0,25 mmol) se vyjme do 4M roztoku chlorovodíku v dioxanu (10 ml). Výsledný roztok se 3 hodiny míchá. Reakční směs se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií za použití směsi methanolu a dichlormethanu (5 : 95) jako elučního činidla. Získá se kyselina ve formě bezbarvého filmu (45 mg, 44 %); R_f 95 : 5 (DCM : MeOH) 0,2; LRMS: m/z , M-H, 388; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3) 1,01-1,22 (m, 2H), 1,40-2,22 (m, 15H), 2,42 2,57 (m, 1 H), 2,73-2,82 (m, 1 H), 3,23 (s, 3H, OMe), 3,27-3,44 (m, 2H), 3,72 (s, 3H, OMe), 6,12 (s, 1H, NH), 6,78 (d, 2H, Ar), 7,06 (d, 2H, Ar).

Sloučeniny obecného vzorce Id, tj. sloučeniny obecného vzorce I, kde R^1 představuje methoxyethylskupinu, se připraví a) z uvedeného terc-butylesteru podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 47, nebo b) z uvedeného benzylesteru podobným způsobem, jaký je popsán v příkladu 42.



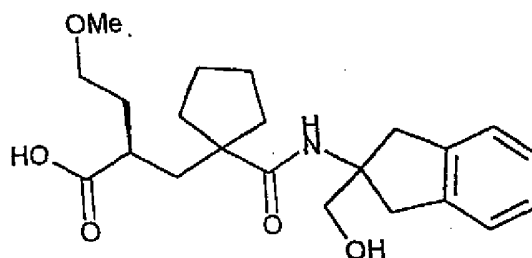
(Id)

Př.	Prec.	$-(CH_2)_nY$	Data
48	Prep.89		$^1\text{HNMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ : 0,50-0,63 (m, 3H), 0,82 (t, 3H, Me), 0,77-0,84 (m, 1H), 1,01-1,18 (m, 1H), 1,20-1,78 (m,), 1,82-2,08 (m, 2H), 3,27 (s, 3H, OMe), 3,33-3,41 (m, 2H), 5,92 (s, 1H, NH). LRMS : m/z 352 (M-H)
49	Prep.95		$^1\text{HNMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ : 0,62-2,57 (m, 13H), 3,07 (s, 3H, OMe), 2,96-3,44 (m, 2H), 4,09 (s, 2H), 7,20 (brs, 5H). HRMS : nalez. m/z 418,1796. $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ vypoč. m/z 418,1795.
50	Prep.91		$^1\text{HNMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ : 0,92 (t, 3H, Me), 1,24-2,60 (m, 19H), 3,25 (s, 3H, OMe), 3,39 (t, 2H, CH_2OMe), 6,68-6,71 (m, 1H, Ar), 7,63-7,70 (m, 1H, Ar), 8,21 (s, 1H, Ar), 9,77 (brs, NH). LRMS : m/z 376 (M^+).
51	Prep.92		$^1\text{HNMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ : 1,24-2,34 (m, 10H), 2,37-2,54 (m, 1H), 2,54-2,73 (m, 2H), 3,33 (s, 3H, OMe), 3,38-4,49 (m, 2H), 7,00 (d, 1H, Ar), 7,38-7,56 (m, 3H), 7,59-7,69 (m, 2H), 7,80 (t, 1H, Ar), 8,66 (s, 1H, Ar), 9,77-9,93 (m, NH). LRMS : m/z 395 (M-H).
52	Prep.88		$^1\text{HNMR}$ (CDCl_3 , 400MHz) δ : 0,84 (br.t, 3H), 1,20-2,20 (m, 19H), 2,24-2,58 (m, 2H), 3,07-3,33 (m, 1H), 3,60-3,96 (m, 2H), 5,82-5,98 (m, 1H), 7,14-7,36 (m, 5H). LRMS m/z M-H 400

Př.	Prec.	$-(CH_2)_nY$	Data
53	Prep.93		1H NMR ($CDCl_3$, 400MHz) δ : 1,43-1,76 (m, 7H), 1,80-2,24 (m, 4H), 2,57-2,68 (m, 2H), 3,06 (d, 1H), 3,12 (d, 1H), 3,27 (d, 1H), 3,32 (s, 3H), 3,36-3,48 (m, 2H), 3,80 (d, 1H), 3,87 (d, 1H), 6,04 (s, 1H), 7,16-7,22 (m, 4H).
54	Prep. 81a		1H NMR ($CDCl_3$, 400MHz) δ : 1,02-1,26 (m, 2H), 1,37-1,84 (m, 7H), 1,85-2,16 (m, 4H), 2,62 (br.s, 1H), 2,80-2,93 (m, 1H), 3,29 (s, 3H, Me), 3,22-3,58 (m, 2H), 6,21 (br.s, 1H), 7,03-7,34 (m, 5H). LRMS m/z M+H 346 HRMS m/z M+H nalez. 346,2011. $C_{20}H_{27}NO_4$ vypoč. 346,2013.
55	Prep.96		1H NMR ($CDCl_3$, 400MHz) δ : 1,45-1,67 (m, 8H), 1,85-2,00 (m, 4H), 2,05 (m, 1H), 2,46 (bs, 1H), 2,90 (dd, 1H), 3,30 (s, 3H), 3,35 (m, 2H), 3,40 (m, 2H), 3,70 (bm, 1H), 4,90 (bs, 1H), 6,25 (bs, 1H), 6,75 (d, 1H), 6,81 (t, 1H), 7,10 (d, 1H), 7,15 (t, 1H); LRMS m/z M-H 374; HRMS m/z M+H nalez. 376,2118. $C_{20}H_{27}NO_4$ vypoč. 376,2123.

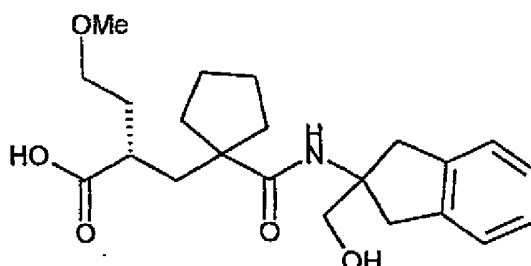
P ř í k l a d 5 6

(R)-2-{[1-({[2-(Hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]methyl}-4-methoxybutanová kyselina



P ř í k l a d 5 7

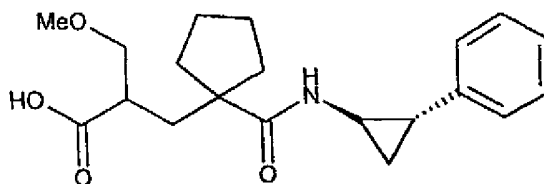
(S)-2-{[1-({[2-(Hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]methyl}-4-methoxybutanová kyselina



Produkt z příkladu 53 se přečistí HPLC na sloupci Chiralcel OD (250 x 20 mm) při teplotě okolí za použití směsi 70 % hexanu obsahujícího 0,3 % TFA a 0,2 % DEA a 30 % IPA obsahujícího 0,3 % TFA a 0,2 % DEA při průtoku 10 ml/min. Jako první je po 6 minutách eluován R enantiomer z příkladu 56 (α_D 11,00, c = 1 mg/ml ethanolu). Jako druhý je eluován S enantiomer z příkladu 57 (α_D -8,62, c = 1,07 mg/ml ethanolu).

P ř í k l a d 5 8

3-Methoxy-2-{[1-({[(trans)-2-fenylcyklopropyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]methyl}propanová kyselina



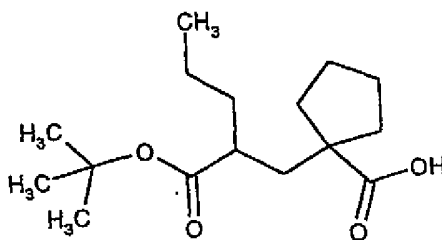
Sloučenina uvedená v nadpisu se vyrobí způsobem popsaným v příkladu 47 z produktu získaného v preparativním postupu 82.

^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,2 (m, 2H), 1,5 (m, 3H), 1,6 (bs, 3H), 1,8 (d, 1H), 2,0 (m, 4H), 2,6 (bs, 1H), 2,9 (bs, 1H), 3,3 (s, 3H), 3,4 (t, 1H), 3,5 (t, 1H), 6,4 (s, 1H), 7,1 (m, 3H), 7,3 (t, 2H); LRMS 344 (M-H).

V následujících preparativních postupech je popsána výroba některých meziproduktů, kterých se používá při provádění výše popsaných příkladů.

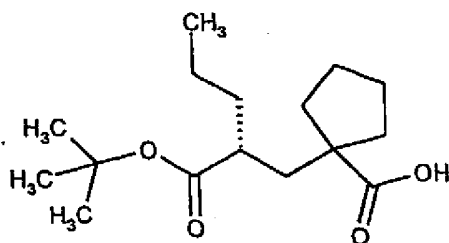
P r e p a r a t i v n í p o s t u p 1

1-[2-(terc-Butoxykarbonyl)-4-fenyl]cyklopentan karboxylová kyselina



Směs 1-[2-(terc-butoxykarbonyl)-4-pentenyl]-cyklopentan-karboxylové kyseliny (EP 274234, příklad 44) (23g, 81,5 mmol) a 10% palladia na uhlíku (2 g) v suchém ethanolu (200ml) se 18 hodin hydrogenuje za tlaku 206,1 kPa při teplotě místnosti. Reakční směs se přefiltruje přes Arbocel® a filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a pentanu (40 : 60) jako elučního činidla, čímž se získá titulní produkt ve formě čirého oleje, 21 g, 91 %; ^1H NMR (CDCl_3) 0,86 (t, 3H), 1,22-1,58 (m, 15H), 1,64 (m, 4H), 1,78 (dd, 1H), 2,00-2,18 (m, 3H), 2,24 (m, 1H); LRMS : m/z 283 (M-H)⁺.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 2

1-[(2R)-2-(terc-Butoxykarbonyl)-4-pentyl]cyklopentan-
karboxylová kyselina

Směs (R)-1-[2-(terc-butoxykarbonyl)-4-pentenyl]-cyklopentankarboxylové kyseliny (WO 9113054, příklad 10) (10g, 35,4 mmol) a 10% palladia na uhlíku (600 mg) v suchém ethanolu (25ml) se hydrogenuje 18 hodin za tlaku 0,1 MPa při teplotě místnosti. Reakční směs se přefiltruje přes Arbocel® a filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě žlutého oleje, 9,6 g, 95 %; ^1H NMR (CDCl_3) 0,86 (t, 3H), 1,22-1,58 (m, 15H), 1,64 (m, 4H), 1,78 (dd, 1H), 2,00-2,18 (m, 3H), 2,24 (m, 1 H); $[\alpha]_D = -3,3^\circ$ (c = 0,09, ethanol).

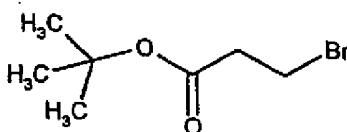
Dále je popsán alternativní způsob přípravy titulního produktu z preparativního postupu 2:

Roztok produktu ze stupně f) popsaného dále (1,12 kg, 4,0 mol) v ethanolu (6,5 litru) se rozdělí na dvě stejné části, které se podrobí následujícím reakčním podmínkám. K roztoku produktu ze stupně f) (561 g, 2,0 mol) v ethanolu (3,25 litru) se přidá hydrogenační katalyzátor (50,5 g 5% palladia na uhlíku, vlhkost 50 %). Reakční nádoba se natlakuje vodíkem (206,1 kPa). Reakční směs se 18 hodin míchá při teplotě místnosti. Poté se obě várky spojí a filtrací se z nich odstraní katalyzátor. Filtrační koláč se promyje ethanollem (2

x 450 ml). Spojené filtráty se zkoncentrují za sníženého tlaku. Vzniklá suspenze se přefiltruje a přidá se n-heptan (1 litr). Rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku a ke zbytku se přidá n-heptan (1 litr). Rozpouštědlo se odstraní destilací za sníženého tlaku. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (1,1 kg, 3,86 mol, 97% výtěžek) ve formě žlutého oleje, kterého se použije přímo v následujícím stupni. LRMS (negativní APCI): m/z $[M-H]$ 283; 1H -NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ 0,79-0,98 (t, 3H), 1,24-1,39 (m, 3H), 1,42-1,50 (s, 9H), 1,50-1,61, (m, 3H), 1,61-1,74 (m, 4H), 1,74-1,84 (m, 1H), 2,02-2,23 (m, 3H), 2,23-2,35 (m, 1H).

Příprava výchozích látek

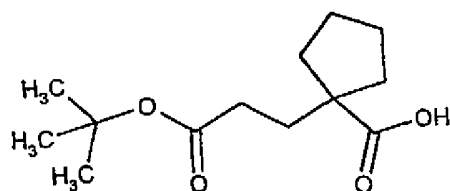
a) terc-Butyl-3-brompropionát



K roztoku 3-brompropionové kyseliny (6,0 kg, 39,2 mol) v dichlormethanu (60 litrů) se při 0°C přidá terc-butanol (0,6 litru) a koncentrovaná kyselina sírová (0,33 litru). Výsledný roztok se ochladí na -15°C a nechá se jím probublávat isobutylen (11 kg, 196 mol). Reakční směs se 3 hodiny míchá při -5°C, během 4 hodin zahřeje na 20°C, při této teplotě 15 hodin míchá a rozloží opatrným přidáním nasyceného vodného roztoku hydrogenuhličitanu sodného (0,6M, 72 litrů, 43,2 mol). Vrstvy se oddělí a organická vrstva se pomyje nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (2 x 48 litru) a poté deionizovanou vodou (48 litrů). Tento promývací cyklus se zopakuje. Měřením se zjistí, že pH vodné vrstvy je 7. K organické vrstvě se přidá uhličitán draselný (90 g, 1,5 % hmotn.) a roztok se destilací za atmosférického tlaku zkoncentruje na objem 9 litrů a přidá se k němu tetrahydro-

furan (40 litrů). Zbývající dichlormethan se odstraní destilací za atmosférického tlaku. Získá se roztok (12 litrů) titulní sloučeniny (5,27 kg, 25,2 mol, 64% výtěžek) v tetrahydrofuranu, kterého se použije přímo v následujícím stupni. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz,): δ 1,45 (s, 9H), 2,80 (t, 2H), 3,53 (t, 2H); LRMS (EI): m/z [MH^+] 209 (^{79}Br).

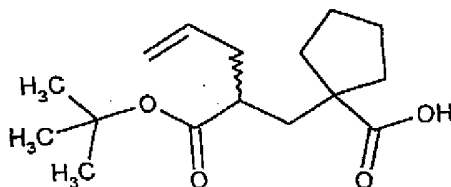
b) 1-(3-terc-Butoxy-3-oxopropyl)cyklopentankarboxylová kyselina



K roztoku komerčně dodaného lithiumpdiisopropylamidu (20,2 kg 2M roztoku ve směsi tetrahydrofuranu, n-heptanu a ethylbenzenu, 51,0 mol) se při -15°C opatrně během 1 hodiny za míchání pod atmosférou dusíku přidá roztok cyklopentankarboxylové kyseliny (2,7 kg, 23,7 mol) v bezvodém tetrahydrofuranu (8,1 litru). Výsledný roztok se 3 hodiny míchá při 0°C , přičemž dojde k vyloučení sraženiny. Vzniklá suspenze se při -15°C během 1,25 hodiny přidá k roztoku produktu ze stupně a) (5,24 g, 25,1 mol) v tetrahydrofuranu (52 litrů). Po dokončení přídatku se reakční směs 1 hodinu míchá při 0°C , během 4 hodin zahřeje na 20°C , při této teplotě 13,5 hodiny míchá, poté ochladí na -15°C a opatrně za míchání se k ní přidá n-heptan (27 litrů) a 5M vodná kyselina chlorovodíková (23,7 litru, 118,5 mol). Vrstvy se oddělí a vodná fáze se extrahuje n-heptanem (13,5 litru). Spojené organické fáze se extrahují 5% vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (3 x 30 litrů) a poté 10% vodným roztokem uhličitanu draselného (3 x 30 litrů). Vodné extrakty se udržují oddělené a zkouší na obsah produktu. Tři extrakty ve vodném uhličitanu draselném se spojí a přidá se k nim n-heptan (27 litrů). Poté se pH směsi za použití 5M

vodné kyseliny chlorovodíkové (10,5 litru) upraví na 7 až 8. Vrstvy se oddělí a přidá se další n-heptan (40,5 litru). Hodnota pH směsi se za použití 5M vodné kyseliny chlorovodíkové (19,5 litru) dále upraví na 3. Vrstvy se oddělí a organická vrstva se promyje deionizovanou vodou (2 x 27 litrů). Organická fáze se vysuší azeotropickou destilací za sníženého tlaku a objem rozpouštědla se sníží na asi 4 litry. Výsledný roztok se za míchání ochladí na 0°C, aby se umožnila krystalizace. V míchání se pokračuje 5 hodin při 0°C. Produkt se shromáždí filtrací. Oddělená pevná látka se 22,5 hodiny suší za vakua při 50°C. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (1,17 gk, 4,8 mol, 20% výtěžek) ve formě krystalické pevné látky o teplotě tání 89 až 92°C. LRMS (negativní APCI) : m/z [M-H]⁻ 241; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 1,47 (s, 9H), 1,50-1,60 (m, 2H), 1,60-1,82 (m, 4H), 1,69-2,0 (m, 2H), 2,08-2,23 (m, 2H), 2,23-2,34 (m, 2H).

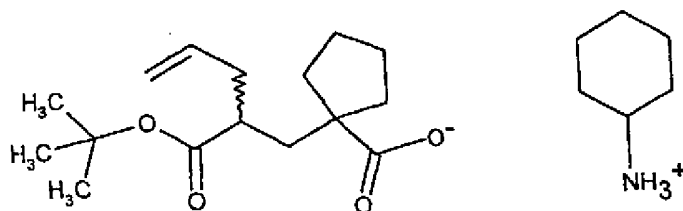
c) 1-[2-(terc-Butoxykarbonyl)-4-pentenyl]cyklopentankarboxylová kyselina



K roztoku komerčně dodávaného lithiumpyridinu (7,63 kg 2M roztoku ve směsi tetrahydrofuranu, n-heptanu a ethylbenzenu, 19,3 mol) v bezvodém tetrahydrofuranu (18,3 litru) se za míchání během 4 hodiny, kdy se teplota směsi udržuje na -10°C, přidá produkt se steupně b) (2,0 g, 8,25 mol) v bezvodém tetrahydrofuranu (10 litrů). Ke vzniklému roztoku se během 2 hodin přidá allylbromid (1,2 kg, 9,9 mol) v tetrahydrofuranu (10 litr). Reakční směs se během 4 hodin zahřeje na 20°C, při této teplotě 9,5 hodiny míchá a poté

rozloží přidavkem vody (40 litrů). Oddělí se dvě fáze. Organická fáze se extrahuje postupně vodou (20 litr) a 0,3M vodným roztokem hydroxidu draselného (12 litrů). Ke spojeným vodným fázím se přídá n-heptan (20 litrů) a 5M vodná kyselina chlorovodíková (7,5 litru, do pH vodné směsi = 2). Vrstvy se oddělí a vodné fáze se extrahují n-heptanem (20 litrů). Spojené organické fáze se promyjí nasyceným vodným chloridem sodným (2 x 8,0 litru) a zkoncentrují za sníženého tlaku. Získá se surový produkt (2,22 kg, 7,86 mol, výtěžek 95 %) ve formě roztoku v n-heptanu (celková hmotnost 12,5 kg), kterého se použije přímo v následujícím stupni. LRMS (EI) : $[M^+ - C_4H_8]$ 226, $[M^+ - HOTBu]$ 208, $[208 - CO]$ 180; 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ 1,45 (s, 9H), 1,48-1,60 (m, 2H), 1,60-1,76 (m, 4H), 1,80 (dd, 1H), 2,03-2,27 (m, 4H), 2,27-2,45 (m, 2H), 5,06 (dd, 2H), 5,75 (ddt, 1 H).

d) Cyklohexanaminium-1-[2-(terc-butoxykarbonyl)-4-pentenyl]-cyklopentankarboxylát

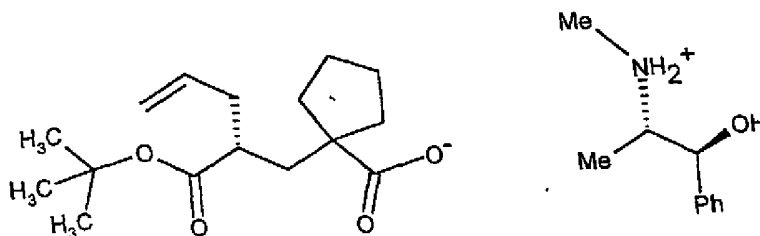


K roztoku surového produktu ze stupně c) (3,83 kg, 13,6 mol) v n-heptanu (23 litrů) se během 0,5 hodiny přidá cyklohexylamin (1,35 kg, 13,8 mol) v n-heptanu (7,0 litru).

Přívodní potrubí se promyje n-heptanem (0,7 litru, 0,2 ml/g) a promývací roztok se přidá k reakční směsi. Výsledná suspenze se 2 hodiny nechá granulovat při 20°C. Pevná látka se odfiltruje. Filtrační koláč se promyje n-heptanem (2 x 1,9 litru) a 23 hodin suší za vakua při 50°C. Získaná bílá pevná látka (4,42 kg, 11,6 mol, 85% výtěžek) se rozpustí v

ethylacetátu (24 litrů, 5,4 ml/g). Výsledný roztok se zahřeje na 70°C, čímž se získá čirý roztok. Tento roztok se ochladí na 50°C a zaočkuje autentickou sloučeninou (1 g). Suspenze se během 4 hodin ochladí z 50°C na 20°C a při této teplotě nechá 0,5 hodiny granulovat. Pevná látka se odfiltruje. Filtrační koláč se promyje ethylacetátem (2 x 1,8 litru). Pevný produkt se 14,5 hodiny suší za vakua při 45°C. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (3,76 kg, 9,85 mol, 85% izolovaný výtěžek) ve formě krystalické pevné látky o teplotě tání 129,5 až 131,0°C. Analýza nalezeno: C, 69,28; H, 10,31; N, 3,60. $C_{22}H_{39}NO_4$ vypočteno C, 69,25; H, 10,30; N, 3,67%; 1H NMR ($CDCl_3$, 300 MHz): δ 1,05-1,35 (m, 6H), 1,35-1,53 (m, 10H), 1,53-1,69 (m, 5H), 1,69-1,89 (m, 3H), 1,89-2,02 (m, 3H), 2,02-2,18 (m, 2H), 2,18-2,31 (m, 2H), 2,31-2,44 (m, 1H), 2,71-2,94 (m, 1H), 5,03 (dd, 2H), 5,73 (ddt, 1H), 6,4 (bs, 3H).

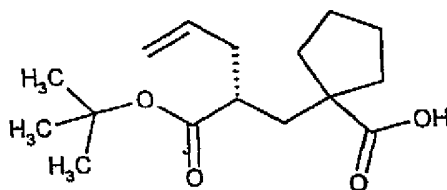
e) (1S,2S)-1-Hydroxy-N-methyl-1-fenyl-2-propanaminium-1-
-[(2R)-2-(terc-butoxykarbonyl)-4-pentenyl]cyklopentan-
karboxylát



Ke směsi vody (22,6 litru) a n-heptanu (22,6 litru) se za míchání přidá produkt ze stupně d) (3,76 kg, 9,85 mol). K výsledné směsi se přidává 5M vodná kyselina chlorovodíková, dokud se pH vodné vrstvy nesníží na 3. Vrstvy se oddělí a vodná fáze se extrahuje dalším n-heptanem (2 x 22,6 litru). Spojené organické extrakty se promyjí nasyceným vodným roztokem chloridu sodného (3,8 litru, 10 ml/g) a zkoncentrují za sníženého tlaku na celkový objem roztoku 20,3 litru. K tomuto roztoku se za míchání přidá (1S,2S)-(+)-pseudoefedrin

(1,63 kg, 9,86 mol, 1,0 ekv.). Vzniklá suspenze se zahřívá na 80°C, dokud nedojde k úplnému rozpuštění. Výsledný roztok se 20 minut udržuje při této teplotě, poté ochladí na 45°C a přidá se k němu vzorek očkovacích krystalů (0,2 g). Suspenze se během 2 hodin ochladí na 0°C, nechá 4 hodiny granulovat a přefiltruje. Filtrační koláč se promyje n-heptanem (3 x 0,5 litru) a 23 hodin suší za vakua při 40 až 45°C. Získá se bílá pevná látka (2,15 kg, 4,8 mol, 49% výtěžek). Suspenze této látky (2,15 kg, 4,8 mol) v n-heptanu (10,8 litru) se zahřeje na 80°C, čímž se získá čirý roztok. Tento roztok se po 10 minutách při této teplotě ochladí na 60°C a přidá se k němu vzorek očkovacích krystalů (1 g). Výsledná suspenze se během 2 hodin ochladí na 20°C a 1,5 hodiny nechá granulovat při této teplotě. Pevná látka se odfiltruje, promyje n-heptanem (2 x 0,59 litru) a 17,5 hodiny suší za vakua při 50°C. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (1,80 kg, 4,0 mol, izolovaný výtěžek 84 %) ve formě bílé krystalické pevné látky o teplotě tání 109 až 110°C. Analýza nalezeno: C, 69,48; H, 9,25; N, 3,17. $C_{26}H_{41}NO_5$ vypočteno C, 69,77; H, 9,23; N, 3,17%; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 1,05 (d, 3H), 1,34-1,55 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,55-1,73 (m, 4H), 1,82-2,03 (m, 2H), 2,03-2,21 (m, 2H), 2,21-2,35 (m, 2H), 2,35-2,41 (m, 1H), 2,60 (s, 3H), 3,03 (pent, 1 H), 4,52 (d, 1 H), 5,03 (dd, 2H), 5,76 (ddt, 1 H), 7,21-7,45 (m, 5H).

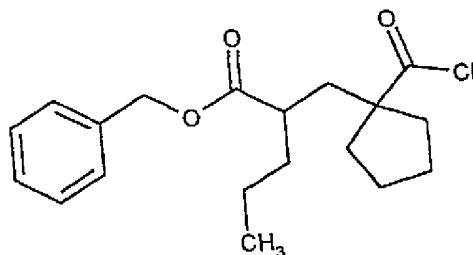
f) 1-[(2R)-2-(terc-Butoxykarbonyl)-4-pentenyl]cyklopentan-
karboxylová kyselina



Ke směsi deionizované vody (10,8 litru) a n-heptanu (10,8 litru) se přidá produkt ze stupně e) (1,80 kg, 4,0 mol) a 5M vodná kyselina chlorovodíková (1,3 litru, 6,5 mol, do pH vodné směsi = 3). Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se extrahuje n-heptanem (2 x 10,8 litru). Spojené organické vrstvy se promyjí vodným roztokem chloridu sodného (1,8 litru) a zkoncentrují destilací za atmosférického tlaku na objem 6,4 litru, načež se k nim přidá ethanol (18,0 litru). Vzniklý roztok se znovu zkoncentruje destilací za atmosférického tlaku. Získá se titulní sloučenina (1,14 kg, 4,0 mol, 100% izolovaný výtěžek) ve formě roztoku v ethanolu (celkový objem 6,4 litru), kterého se přímo použije v následujícím stupni (viz výše). LRMS (EI): $[M^+ - C_4H_8]$ 226, $[M^+ - HOTBu]$ 208, $[208 - CO]$ 180; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 1,45 (s, 9H), 1,48-1,60 (m, 2H), 1,60-1,76 (m, 4H), 1,80 (dd, 1 H), 2,03-2,27 (m, 4H), 2,27-2,45 (m, 2H), 5,06 (dd, 2H), 5,75 (ddt, 1 H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 3

Benzyl-2-{[1-(chlorkarbonyl)cyklopentyl]methyl}pentanoát

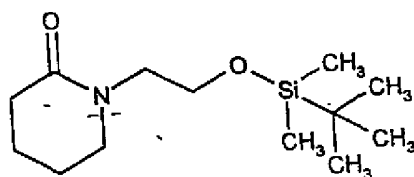


K ledem chlazenému roztoku 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]pentyl}cyklopentankarboxylové kyseliny (EP 274234, příklad 16) (2,0 g, 6,3 mmol) v suchém dichlormethanu (20 ml) se přidá oxalylchlorid (1,15 ml, 13,2 mmol). Výsledný roztok se 2 hodiny míchá při teplotě místnosti. Reakční směs se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem (3x). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve

formě zlatého oleje (2,1 g). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,88 (t, 3H), 1,28 (m, 2H), 1,43 (m, 2H), 1,63 (m, 6H), 2,00 (m, 1H), 2,08-2,35 (m, 3H), 2,44 (m, 1H), 5,15 (s, 2H), 7,28 (m, 5H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 4

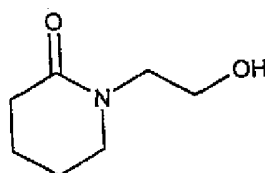
1-(2-{[terc-Butyl(dimethyl)silyl]oxy}ethyl)-2-piperidinon



Hydrid sodný (807 mg, 60% disperze v minerálním oleji, 20,18 mmol) se po částech pod atmosférou dusíku přidá k roztoku d-valerolaktamu (2,0 g, 20,2 mmol) v tetrahydrofuranu (100 ml). Ke vzniklé směsi se po částech přidá (2-bromethoxy)-(terc-butyl)dimethylsilan (od Aldrich Chemical Co.) (4,33 ml, 20,2 mmol). Reakční směs se 18 hodin zahřívá na 70°C, ochladí a přidá se k ní voda (50 ml). Výsledná směs se zkoncentruje za sníženého tlaku na žlutý olej. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu dichlormethan : methanol (98: 2 až 97: 3). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu, 3,25 g; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,00 (s, 6H), 0,83 (s, 9H), 1,75 (m, 4H), 2,35 (m, 2H), 3,39 (m, 4H), 3,75 (t, 2H); LRMS: m/z 257,9 (M^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 5

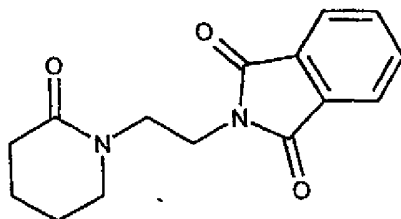
1-(2-Hydroxyethyl)-2-piperidinon



Tetra-n-butylamoniumfluorid (14 ml 1M roztoku v tetrahydrofuranu, 14 mmol) se přidá k roztoku laktamu z preparativního postupu 4 (3,3 g, 12,8 mmol) v tetrahydrofuranu (50 ml). Reakční směs se 2 hodiny míchá při teplotě místnosti a poté zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem a přečistí přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu dichlormethan : methanol (97 : 3 až 95 : 5). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě oleje. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,80 (m, 4H), 2,40 (t, 2H), 3,38 (t, 2H), 3,42 (t, 1H), 3,56 (t, 2H), 3,80 (t, 2H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 6

2-[2-(2-Oxo-1-piperidiny)ethyl]-1H-isoindol-1,3(2H)-dion

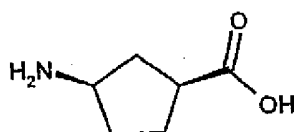


Ftalimid (952 mg, 6,47 mmol) se přidá k roztoku produktu z preparativního postupu 5 (842 mg, 5,88 mmol) v tetrahydrofuranu (30 ml). Vzniklá směs se sonikuje, dokud nevznikne roztok. K tomuto roztoku se přidá trifenylofosfin na polymerním nosiči (2,5 g, 7,5 mmol) a diethylazodikarboxylát (1,15 ml, 7,31 mmol). Reakční směs se 18 hodin míchá při teplotě místnosti, přefiltruje přes Arbocel® a filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu ethylacetát : pentan (70 : 30 až 100 : 0). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílé pěny, 1,6g (obsahující nečistoty); ^1H

NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,60-1,80 (m, 4H), 2,17 (m, 2H), 3,30 (m, 2H), 3,60 (m, 2H), 3,83 (m, 2H), 7,62 (m, 2H), 7,79 (m, 2H); LRMS: m/z 273,2 (MH^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 7

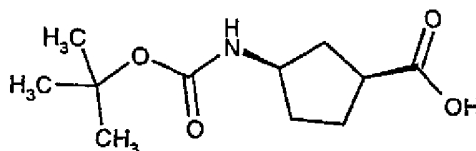
(1S,3R)-3-Aminocyklopentankarboxylová kyselina



Oxid platiny (1 g) se přidá k roztoku (1R,4S)-4-amino-cyklopent-2-enkarboxylové kyseliny (Taylor et al., J. Chem. Soc., Chem. Commun. (1990), (16), 1120-1) (5,3 g, 41,7 mmol) ve vodě (70 ml). Výsledná směs se 18 hodin hydrogenuje za tlaku 309,15 kPa při teplotě místnosti, poté přefiltruje přes Arbocel® a filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se azeotropicky odpaří s toluenem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě špinavě bílé pevné látky. ^1H NMR (D_2O , 400MHz): δ 1,70-1,92 (m, 3H), 2,00 (m, 2H), 2,18 (m, 1H), 2,77 (m, 1H), 3,68 (m, 1H); LRMS: m/z 129,8 (MH^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 8

(1S,3R)-[(terc-Butoxykarbonyl)amino]cyklopentankarboxylová kyselina

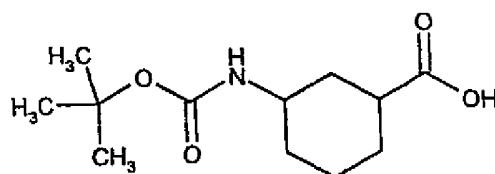


Diterc-butyldikarbonát (10 g, 45,8 mmol) se přidá k ledem chlazenému roztoku produktu z preparativního postupu 7 (5,4 g,

41,8 mmol) v dioxanu (42,5 ml) a roztoku hydroxidu sodného (42,5 ml, 1M, 42,5 mmol). Reakční směs se 18 hodin míchá při teplotě místnosti a poté zkoncentruje za sníženého tlaku, aby se odstranil dioxan. Zbytek se 2M kyselinou chlorovodíkovou okyslí na pH 2. Vodný roztok se extrahuje ethylacetátem (5 x 100 ml). Spojené organické extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Bílý pevný zbytek se trituruje s hexanem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu, 8,0 g, 83 %. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,41 (s, 9H), 1,58-2,06 (m, 5H), 2,21 (m, 1H), 2,84 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 4,84 (m, 1H); LRMS: m/z 228 ($\text{M}-\text{H}$) $^-$.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 9

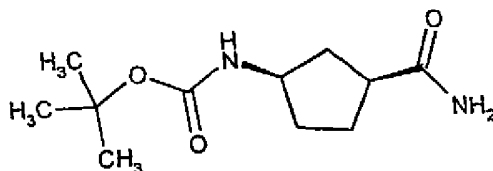
3-[(terc-Butoxykarbonyl)amino]cyklohexankarboxylová kyselina



Titulní sloučenina se získá ve formě bílé pevné látky (výtěžek 81 %) z 3-aminocyklohexankarboxylové kyseliny způsobem popsaným v preparativním postupu 8. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,04 (m, 1H), 1,19-1,50 (m, 13H), 1,83 (m, 1H), 1,97 (m, 2H), 2,24 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 3,44 (bs, 1H), 4,42 (bs, 1H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 10

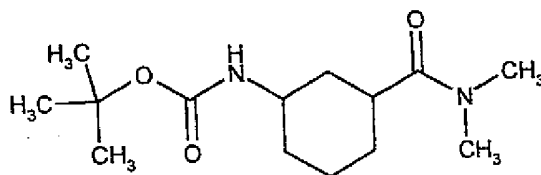
terc-Butyl-(1R,3S)-3-(aminokarbonyl)cyklopentylkarbamát



Benzotriazol-1-yloxytris(pyrrolidino)fosfoniumhexafluorofosfát (3,4 g, 6,54 mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (883 mg, 6,54 mmol), chlorid amonný (467 mg, 8,72 mmol) a N-ethyl-diisopropylamin (3,04 ml, 17,5 mmol) se postupně přidají k roztoku kyseliny z preparativního postupu 8 (1,0 g, 4,37 mmol) v N,N-dimethylformamidu (16 ml). Reakční směs se 2 hodiny míchá při teplotě místnosti, poté zředí ethylacetátem (100 ml), promyje vodou (3x) a vodným chloridem sodným, vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Pryskyřičný zbytek se přečistí chromatografií na sloupci Biotage® za použití elučního gradientu dichlormethan : methanol (98 : 2 až 95 : 5). Produkt se trituruje s etherem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílé pevné látky (438 mg, 44 %). ^1H NMR (DMSO-d_6 , 400MHz): δ 1,34 (s, 9H), 1,40 (m, 2H), 1,64 (m, 3H), 1,90 (m, 1H), 2,55 (m, 1H), 3,70 (m, 1H), 6,70 (bs, 1H), 6,80 (d, 1H), 7,22 (bs, 1H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 1 1

terc-Butyl 3-[(dimethylamino)karbonyl]cyklohexylkarbamát

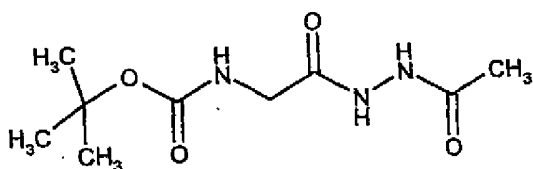


Hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (1,19 g, 6,19 mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (840 mg, 6,19 mmol), N-methylmorfolin (1,1 ml, 10,1 mmol) a nakonec 33% ethanolický dimethylamin (1,5 ml) se přidají k roztoku kyseliny z preparativního postupu 9 (1,37 g, 5,6 mmol) v N,N-dimethylformamidu (30 ml). Reakční směs se 18 hodin míchá při teplotě místnosti a poté zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se zředí ethylacetátem a ethylacetátová směs se promyje

vodou (2x), vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu methanol : dichlor-methan (5 : 95 až 10 : 90). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu, 998 mg, 66%. ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ : 1,12 (m, 1H), 1,40 (m, 11H), 1,70 (m, 2H), 1,85 (m, 1H), 2,00 (m, 2H), 2,62 (m, 1 H), 2,96 (s, 3H), 3,05 (s, 3H), 3,50 (m, 1 H), 4,50 (m, 1 H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 1 2

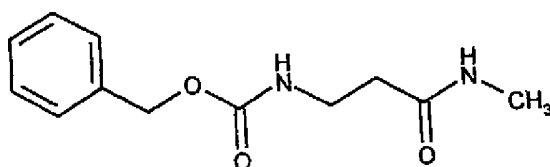
terc-Butyl-2-(2-acetylhydrazino)-2-oxoethylkarbamát



2-Ethoxy-1-ethoxykarbonyl-1,2-dihydrochinolin (7,06 g, 28,5 mmol) se přidá k roztoku N-terc-butoxykarbonyl-glycinu (5,0g, 28,6 mmol) v dichlormethanu (75 ml). Vzniklý roztok se 15 minut míchá a přidá se k němu acetylhydrazid (2,6 g, 35,1 mmol). Reakční směs se 18 hodin míchá při teplotě místnosti. Vyloučená sraženina se odfiltruje a vysuší za vakua. Získá se bílá krystalická pevná látka (2,42 g). Filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se zředí etherem. Vyloučená sraženina se odfiltruje a vysuší za vakua. Získá se další produkt ve formě bílé pevné látky (4,4 g, celkový výtěžek 67 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,41 (s, 9H), 2,02 (s, 3H), 3,87 (d, 2H), 5,22 (bs, 1H), 8,27 (bs, 1 H), 8,84 (bs, 1 H); LRMS: m/z 249,2 (MNH_4^+); Analýza nalezeno: C, 46,41; H, 7,36; N, 17,98, $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$ vypočteno C, 46,66; H, 7,41; N, 18,13 %.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 1 3

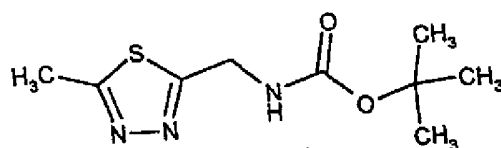
Benzyl-3-(methylamino)-3-oxopropylkarbamát



Směs N-[(benzyloxy)karbonyl]-p-alaninu (10 g, 44,8 mmol), hydrochlorid methylaminu (3,33 g, 49,28 mol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (6,05 g, 44,8 mmol), hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (10,3 g, 53,76 mmol) a N-methylmorfolin (11,33 ml, 103 mmol) v dichlormethanu (200 ml) se 18 hodin míchá při teplotě místnosti. Vzniklá sraženina se odfiltruje. Získá se požadovaný produkt ve formě bezbarvé pěny. Filtrát se odpaří za sníženého tlaku a zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu ethylacetát : hexan (90 : 10 až 100 : 0). Získá se další produkt (7,96 g, celkem 75 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ : 2,42 (t, 2H), 2,80 (s, 3H), 3,50 (m, 2H), 5,21 (s, 2H), 5,49 (bs, 1 H), 5,63 (bs, 1H), 7,36 (m, 5H); Analýza nalezeno: C, 60,68; H, 7,00; N, 11,95. $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$ vypočteno C, 61,00; H, 6,83; N, 11,86 %.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 1 4

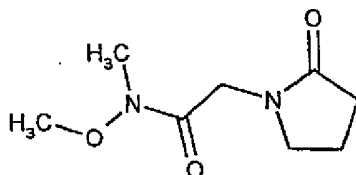
terc-Butyl-(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)methylkarbamát



K roztoku hydrazidu z preparativního postupu 12 (500 mg, 2,16 mmol) v tetrahydrofuranu (40 ml) se přidá Lawessonovo činidlo (960 mg, 2,38 mmol). Reakční směs se 3 hodiny zahřívá ke zpětnému toku, poté 18 hodin míchá při teplotě místnosti a odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu ethylacetát : pentan (70 : 30 až 80 : 20), čímž se získá olej. K tomuto oleji se přidá ethylacetát (100 ml) a aktivní uhlí (2 g). Výsledná směs se 10 minut míchá a poté přefiltruje. Filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě krystalické pevné látky (441 mg, 89 %) ; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,45 (s, 9H), 2,77 (s, 3H), 4,66 (d, 2H), 5,22 (bs, 1 H); LRMS: m/z 230,1 (MH^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 1 5

N-Methoxy-N-methyl-2-(2-oxo-1-pyrrolidinyl)acetamid

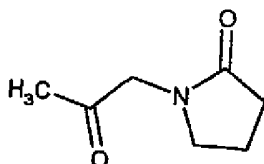


2-Chlor-N-methoxy-N-methylacetamid (od Aldrich Chemical Co.) (3,2 g, 23,3 mmol) se přidá k suspenzi 2-pyrrolidinonu (2,0 g, 23,5 mmol) a hydridu sodného (940 mg, 60% disperzi v minerálním oleji, 23,5 mmol) v tetrahydrofuranu (60 ml). Reakční směs se 48 hodin míchá při teplotě místnosti, poté rozloží vodou (150 ml) a extrahuje ethylacetátem (200 ml) a dichlormethanem (200 ml). Spojené organické extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se trituruje s hexanem a poté s etherem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílých krystalů (1,8 g, 41 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 2,02 (m, 2H), 2,40 (t, 2H), 3,17 (s,

3H), 3,48 (t, 2H), 3,72 (s, 3H), 4,19 (s, 2H); LRMS: m/z 186,9 (MH⁺).

Preparativní postup 16

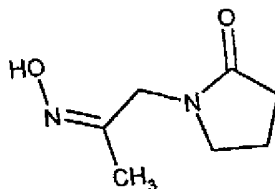
1-(2-Oxopropyl)-2-pyrrolidinon



Methylmagnesiumbromid (2,7 ml, 3M v tetrahydrofuranu, 8,1 mmol) se přidá k chlazenému (-20°C) roztoku amidu z preparativního postupu 15 (1,5 g, 8,1 mmol) v tetrahydrofuranu (50 ml). Reakční směs se nechá zahřát na teplotu místnosti, hodinu míchá a rozloží přidávkem vodného roztoku chloridu amonného a extrahuje ethylacetátem (3 x 50 ml). Spojené organické roztoky se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě oleje (645 mg, 56 %). ¹H NMR (CDCl₃, 400MHz): δ 2,07 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 2,42 (t, 2H), 3,42 (t, 2H), 4,10 (s, 2H).

Preparativní postup 17

1-[2-(Hydroxyimino)propyl]-2-pyrrolidinon

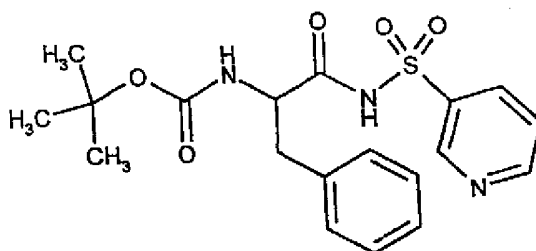


K roztoku amidu z preparativního postupu 16 (643 mg, 4,55 mmol) v ethanolu (30 ml) se přidá hydrochlorid hydroxylaminu

(316 mg, 4,55 mmol) a poté pyridin (370 μ l, 4,55 mmol). Reakční směs se 18 hodin míchá při teplotě místnosti a poté odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu dichlormethan : methanol (97 : 3 až 90 : 10). Produkt se trituruje s etherem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílé pevné látky (375 mg, 53 %). ^1H NMR (DMSO-d_6 , 400MHz): δ 1,60 (s, 3H), 1,87 (m, 2H), 2,20 (t, 2H), 3,19 (t, 2H), 3,78 (s, 2H), 10,77 (s, 1H); LRMS: m/z 157,4 (MH^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 1 8

terc-Butyl-1-benzyl-2-oxo-2-[(3-pyridinylsulfonyl)-amino]ethylkarbamát

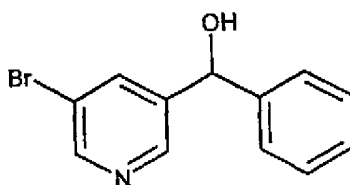


Hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (939 mg, 4,9 mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (562 mg, 4,15 mmol) a N-methylmorfolin (952 mg, 9,42 mmol) se přidají k ledově chladnému roztoku N-terc-butoxykarbonyl-L-fenylalaninu (1,0 g, 3,77 mmol) v dichlormethanu (20 ml). Vzniklá směs se 15 minut míchá a přidá se k ní pyridinsulfonamid (Mon. für Chemie; 72; 77; 1938) (596 mg, 3,77 mmol). Reakční směs se 24 hodin míchá při teplotě místnosti a poté odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se rozdělí mezi ethylacetát (50 ml) a vodu (50 ml). Vrstvy se oddělí. Vodná vrstva se extrahuje ethylacetátem a poté dichlormethanem. Spojené organické extrakt se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za

sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí dvakrát sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu ethylacetát : ethanol (100 : 0 až 90 : 10). Získá se požadovaný produkt ve formě bílé pěny, (1,01 g, 66 %). ^1H NMR (DMSO-d_6 , 300MHz): δ 1,30 (s, 9H), 2,77 (m, 1 H), 2,97 (m, 1 H), 3,84 (m, 1 H), 5,95 (bs, 1 H), 6,96 (m, 2H), 7,08 (m, 3H), 7,42 (m, 1H), 8,05 (d, 1H), 8,60 (d, 1H), 8,84 (m, 1H); $[\alpha]_D = -10^\circ$ (0,1% roztok v methanolu).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 1 9

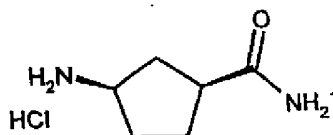
(5-Brom-3-pyridinyl) (fenyl)methanol



n-Butyllithium (17 ml, 2,5M v hexanech, 42,5 mmol) se přikape k chlazenému roztoku 3,5-dibrompyridinu (10 g, 42,2 mmol) v etheru (200 ml) tak, aby se vnitřní teplota udržela pod -70°C . Reakční směs se 15 minut míchá a přikape se k ní roztok benzaldehydu (4,5 g, 42,5 mmol) v etheru (20 ml) tak, aby se teplota udržela pod -70°C . Reakční směs se 15 minut míchá, během hodiny nechá zahřát na teplotu místnosti a rozloží přidavkem 0,9M roztoku chloridu amonného (200 ml). Vrstvy se oddělí a vodná fáze se extrahuje etherem. Spojené organické extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Žlutý olejovitý zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu dichlormethan : ether (95 : 5 až 80 : 20). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě žlutého oleje (7,6 g, 68 %). ^1H NMR (D_2O , 300MHz): δ 5,80 (s, 1H), 7,37 (m, 5H), 7,90 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,44 (s, 1H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 2 0

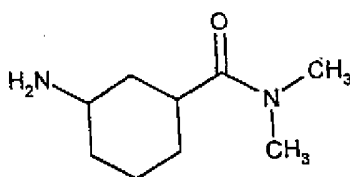
Hydrochlorid (1S,3R)-3-aminocyklopentankarboxamidu



Ledově chladným roztokem amidnu z preparativního postupu 10 (438 mg, 1,92 mmol) v dichlormethanu (50 ml) se 10 minut nechá probublávat plynný chlorovodík. Výsledná suspenze se 2 hodiny míchá při teplotě místnosti. Směs se promyje dusíkem a odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se trituruje s etherem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě pevné látky. ^1H NMR (D_2O , 400MHz): δ 1,63-1,82 (m, 3H), 1,92-2,07 (m, 2H), 2,19 (m, 1H), 2,82 (m, 1H), 3,62 (m, 1H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 2 1

3-Amino-N,N-dimethylcyklohexankarboxamid

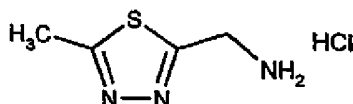


Roztok amidu z preparativního postupu 11 (997 mg, 3,69 mmol) v trifluoroctové kyselině (8 ml) a dichlormethanu (8 ml) se 4 hodiny míchá při teplotě místnosti. Reakční směs se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se rozdělí mezi dichlormethan (25 ml) a vodný roztok hydrogenuhličitanu sodného (25 ml). Hodnota pH se za použití roztoku hydroxidu sodného upraví na 9. Vrstvy se oddělí a vodná fáze se odpaří

za sníženého tlaku. Pevný zbytek se trituruje s horkým ethylacetátem. Získaná suspenze se přefiltruje a filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu, methanolu a 0,88 amoniaku (84 : 14 : 2) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bezbarvého oleje (346 mg, 55 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,08 (m, 1H), 1,25-1,54 (m, 6H), 1,72 (m, 1 H), 1,86 (m, 2H), 2,53-2,75 (m, 2H), 2,96 (s, 3H), 3, 03 (s, 3H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 2 2

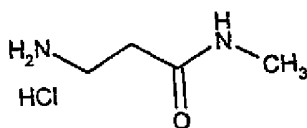
Hydrochlorid (5-Methyl-3,4-thiadiazol-2-yl)methylaminu



Ledově chladným roztokem thiadiazolu z preparativního postupu 14 (425 mg, 1,85 mmol) v dichlormethanu (50 ml) se 15 minut nechá probublávat plynný chlorovodík. Reakční směs se 1 hodinu míchá při teplotě místnosti. Směs se promyje dusíkem a odpaří za sníženého tlaku. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílé pevné látky. ^1H NMR (DMSO-d_6 , 400MHz): δ 2,75 (s, 3H), 4,48 (m, 2H), 8,80 (bs, 3H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 2 3

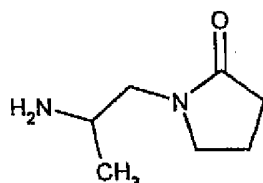
Hydrochlorid 3-amino-N-methylpropanamidu



Směs benzyلكarbamátu z preparativního postupu 13 (7,92 g, 33,5 mmol) a 5% palladia na uhlíku (800 mg) v ethanolu (300 ml) se 4 hodiny hydrogenuje za tlaku 343,5 kPa při teplotě místnosti. Reakční směs se přefiltruje přes Arbocel®. Filtrační vrstva se promyje ethanolem a promývací roztok se spojí s filtrátem. Filtráty se odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (4,66 g). ^1H NMR (DMSO-d_6 , 300MHz): δ 2,46 (t, 2H), 2,60 (s, 3H), 2,95 (m, 2H), 7,98-8,16 (m, 2H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 2 4

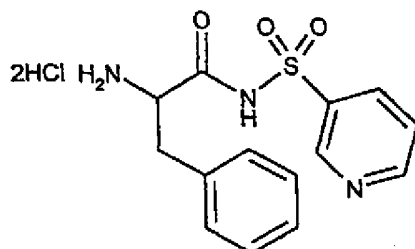
1-(2-Aminopropyl)-2-pyrrolidinon



Směs oximu z preparativního postupu 17 (375 mg, 2,40 mmol) a oxidu platiny (300 mg) v ethanolu se 18 hodin hydrogenuje za tlaku 412,2 kPa. Analýza pomocí TLC ukáže, že ve směsi je ještě přítomna výchozí látka. Ke směsi se tedy přidá další oxid platiny (100 mg) a v reakci se pokračuje další 4 hodiny. Reakční směs se přefiltruje přes Arbocel® a filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu dichlormethan : methanol : 0,88 amonial (95 : 5 : 0,5 až 90 : 10 : 1). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě čirého oleje (170 mg, 50 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,02 (d, 3H), 1,36 (bs, 2H), 2,00 (m, 2H), 2,38 (t, 2H), 3,00-3,16 (m, 2H), 3,21 (m, 1H), 3,35-3,45 (m, 2H); LRMS : m/z 143 (MH^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 2 5

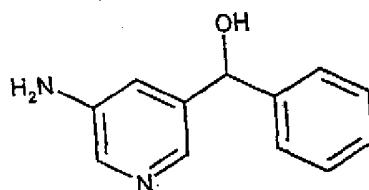
Dihydrochlorid N-(2-Amino-3-fenylpropanoyl)pyridinsulfonamidu



Nasycený roztok kyseliny chlorovodíkové v etheru (40 ml) se přidá k ledově chladnému roztoku sulfonamidu z preparativního postpu 18 (959 mg, 2,37 mmol) v ethylacetátu (30 ml) a etheru (10 ml). Výsledný roztok se 18 hodin míchá při teplotě místnosti. Reakční směs se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem (3x). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílé pevné látky (959 mg). ^1H NMR (DMSO-d_6 , 300MHz): δ 3,23-3,50 (m, 1H), 3,70-3,98 (m, 1H), 4,13 (m, 1H), 7,05 (m, 2H), 7,20 (m, 3H), 7,78 (m, 1H), 8,36 (d, 1H), 8,44 (bs, 2H), 8,95 (d, 1H), 9,02 (s, 1H); $[\alpha]_D = +138^\circ$ (0,5% roztok v methanolu).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 2 6

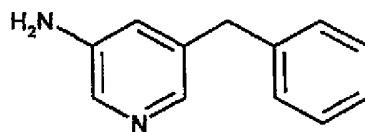
(5-Amino-3-pyridinyl) (fenyl)methanol



Směs bromidu z preparativního postupu 19 (2,0 g, 7,60 mmol) a pentahydrátu síranu měďnatého (350 mg, 1,40 mmol) v 0,88 amoniaku (18 ml) se v uzavřené nádobě 24 hodin zahřívá na 135°C. Vzniklý roztok se ochladí a přidá se k němu roztok hydroxidu sodného (1M, 10 ml). Výsledná směs se extrahuje etherem (6x). Spojené organické extrakty se vysuší síranem hořečnatým a zkoncentrují za sníženého tlaku. Vytvořená sraženina se odfiltruje, promyje etherem a vysuší. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě pevné látky (1,25g, 83 %) o teplotě tání 92 až 94°C. ^1H NMR (DMSO-d_6 , 300MHz): δ 5,22 (s, 2H), 5,59 (d, 1H), 5,86 (d, 1H), 6,83 (s, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,34 (m, 4H), 7,78 (m, 2H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 2 7

5-Benzyl-3-pyridinylamin

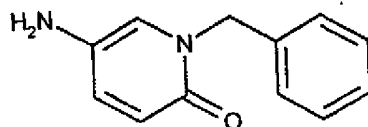


Směs alkoholu z preparativního postupu 26 (700 mg, 3,5 mmol) a 5% palladia na uhlíku (70 mg) v kyselině chlorovodíkové (5 ml, 1M) a ethanolu (20 ml) se 6 hodin hydrogenuje při teplotě místnosti za tlaku 206,1 kPa. Reakční směs se prefiltruje přes Arbocel® a filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se zalkalizuje vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného a extrahuje dichlormethanem (3x). Spojené organické extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu, methanolu a 0,88 amoniaku (92 : 8 : 0,4) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě pevné látky (500 mg, 78

%) o teplotě tání 107 až 109°C. ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 3,61 (bs, 2H), 3,94 (s, 2H), 6,78 (s, 1 H), 7,24 (m, 5H), 7,98 (s, 2H).

Preparativní postup 28

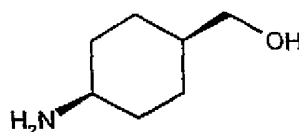
5-Amino-1-benzyl-2(1H)-pyridinon



Směs 1-benzyl-5-nitro-1H-pyridin-2-onu (Justus Liebigs Ann. Chem. 484; 1930; 52) (1,0 g, 4,35 mmol) a granulovaného cínu (3,5 g, 29,5 mmol) v koncentrované kyselině chlorovodíkové (14 ml) se 1,5 hodiny zahřívá na 90°C. Vzniklý roztok se ochladí, zředí vodou, zneutralizuje roztokem uhličitanu sodného a extrahuje ethylacetátem. Spojené organické extrakty se přefiltrují, vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě světle zelené pevné látky (která časem zmodrá) (440 mg, 51 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 250MHz): δ 4,12-4,47 (bs, 2H), 5,00 (s, 2H), 6,31 (d, 1H), 6,86 (s, 1H), 7,07 (m, 1H), 7,14-7,42 (m, 5H).

Preparativní postup 29

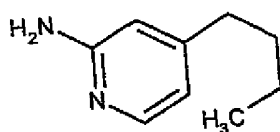
Cis-(4-Aminocyklohexyl)methanol



Lithiumaluminiumhydrid (14 ml, 1M roztok v tetrahydrofuranu, 14 mmol) se přikape k ledem chlazenému roztoku cis-4-aminocyklohexankarboxylové kyseliny (1,33 g, 9,29 mmol) v tetrahydrofuranu (50 ml). Po dokončení přídavku se reakční směs 6 hodin zahřívá ke zpětnému toku, poté ochladí na 5°C a postupně se k ní přidá voda (0,6 ml), vodný roztok hydroxidu sodného (1,1 ml, 2M) a voda (0,6 ml). Vzniklá suspenze se přefiltruje a filtrát se odpaří za sníženého tlaku na olejovitý zbytek, kterého se použije bez dalšího přečištění. ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,40-1,80 (m, 12H), 3,00 (m, 1H), 3,55 (d, 2H); LRMS: m/z 130,2 (MH^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 3 0

2-Amino-4-butylpyridin

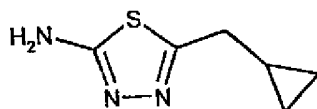


Směs 4-butylpyridinu (5,0 g, 37,0 mmol) a 95% amidu sodného (1,7 g, 40,7 mmol) v xylenu (10 ml) se 18 hodin zahřívá na 150°C. Reakční směs se ochladí a zředí etherem (100 ml). Etherová směs se extrahuje 2M kyselinou chlorovodíkovou (2x). Vodné extrakty se zalkalizují vodným roztokem hydroxidu sodného a reextrahují etherem. Tyto spojené organické extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Olejovitý zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu, methanolu a 0,88 amoniaku (97 : 3 : 0,15) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě krystalické pevné látky, (2,1 g, 38 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,96 (t, 3H), 1,38 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 2,52 (t, 2H), 4,38 (bs, 2H), 6,38 (s, 1H),

6,55 (d, 1H), 7,98 (d, 1H); Analýza nalezeno: C, 72,01; H, 9,47; N, 18,53. $C_9H_{14}N_2$ vypočteno C, 71,96; H, 9,39; N, 18,65 %.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 3 1

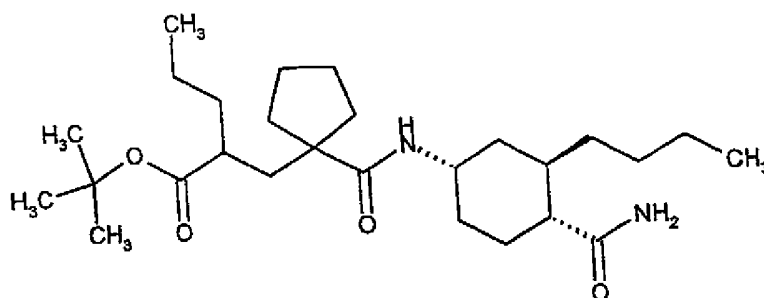
5-(Cyklopropylmethyl)-1,3,4-thiadiazol-2-amin



Oxalylchlorid (3,13 ml, 35,9 mmol) a N,N-dimethylformamid (1 kapka) se přidají k roztoku cyklopropyloctové kyseliny (3 g, 29,9 mmol) v dichlormethanu (30 ml). Reakční směs se 18 hodin míchá při teplotě místnosti a poté zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem, čímž se získá hnědý olej. Směs tohoto intermediárního chloridu kyseliny (887 mg, 7,48 mmol) a thiosemikarbazidu (455 mg, 4,99 mmol) se 18 hodin zahřívá na 70°C, poté ochladí a přidá se k ní voda. Vodná směs se za použití 50% vodného roztoku hydroxidu sodného zalkalizuje na pH 9. Vyloučená sraženina se odfiltruje a vysuší. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (410 mg, 53 %). 1H NMR (CD_3OD , 400MHz): δ 0,28 (m, 2H), 0,60 (m, 2H), 1,02 (m, 1H), 2,77 (d, 2H); LRMS: m/z 155,2 (MH^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 3 2

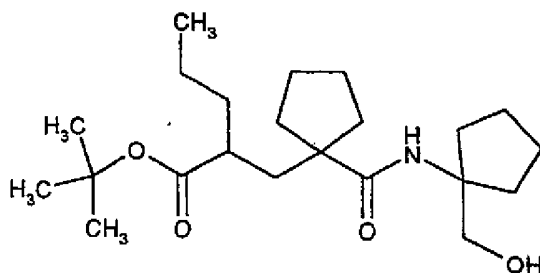
(1R,2R,4S)-4-[(1-[2-(terc-Butoxykarbonyl)pentyl]cyklopentyl}karbonyl)amino]-2-butylcyklohexankarboxamid



Produkt z preparativního postupu 49 (65 mg, 0,14 mmol) se vyjme do dichlormethanu (2 ml). Do vzniklého roztoku se v jedné dávce přidá 1,1'-karbonyldiimidazol (23 mg, 0,15 mmol) a poté 0,88 vodný roztok amoniaku (0,5 ml). Vzniklá směs se 16 hodin míchá, načež se z ní za sníženého tlaku odstraní těkavé látky. Získaná suspenze se smísí s nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (5 ml). Organické látky se extrahují ethylacetátem (2x), vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Olejovitý zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu (19 : 1) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (43 mg). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,81 (t, 6H), 1,02-1,28 (m, 37H), 2,22 (m, 1H), 4,13 (m, 1H), 5,42-5,97 (m, 3H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 3 3

terc-Butyl-2-([1-([1-(hydroxymethyl)cyklopentyl]amino)-
karbonyl)cyklopentyl]methyl}pentanoát

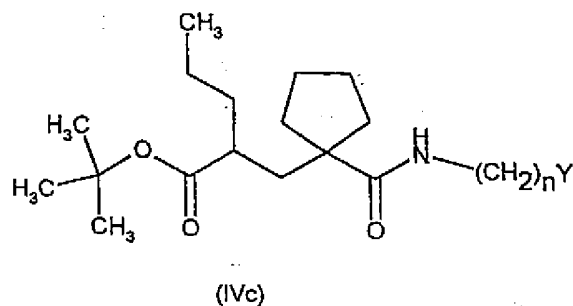


Hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodi-imidu (41 mg, 0,21 mol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (2 mg, 0,2 mmol), N-methylmorfolin (35 μl , 0,31 mmol) a na závěr 1-amino-1-cyklopentanmethanol (od Aldrich Chemical Co.) (25 mg, 0,22 mmol) se přidají k roztoku kyseliny z preparativního postupu 1 (150 mg, 0,53 mmol) v N,N-dimethylformamidu (3 ml). Reakční směs se 18 hodin míchá při 90°C. Vzniklý roztok se ochladí a zředí ethylacetátem (90 ml). Ethylacetátová směs se promyje

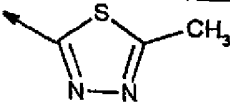
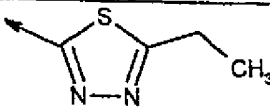
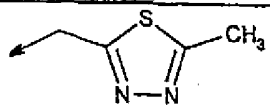
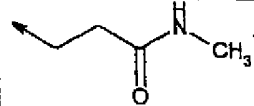
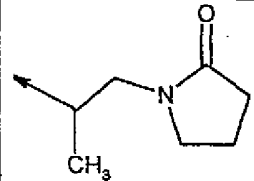
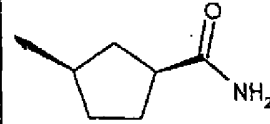
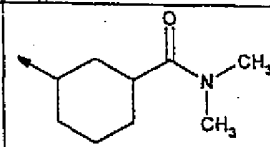
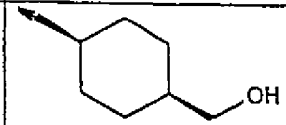
vodou (3 x 25 ml) a vodným chloridem sodným (25 ml), vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí chromatografií na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a pentanu (30 : 70) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (38 mg, 57 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,88 (t, 3H), 1,29 (m, 3H), 1,41-1,78 (m, 26H), 1,78-1,98 (m, 4H), 2,04 (m, 1H), 2,26 (m, 1H), 3,59 (dd, 1H), 3,70 (dd, 1H), 4,80 (t, 1H), 5,81 (s, 1H); LRMS: m/z 380 (MH^+).

Preparativní postupy 34 až 43

Sloučeniny obecného vzorce IVc, tj. sloučeniny obecného vzorce IV, kde Prot představuje terc-butylskupinu a R^1 představuje propylskupinu, se připraví z titulní sloučeniny z preparativního postupu 1 a uvedeného aminu podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 33.



Prep.	$-(\text{CH}_2)_n\text{Y}$	Prec. amin.	Data
34		piperonylamin (od Aldrich Chemical Co.)	^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ : 0,85 (t, 3H), 1,26 (m, 4H), 1,42 (s, 9H), 1,46 (m, 2H), 1,59-1,75 (m, 5H), 1,95 (m, 2H), 2,06 (m, 1H), 2,22 (m, 1H), 4,26 (dd, 1H), 4,39 (dd, 1H), 5,95 (m, 3H), 6,78 (m, 3H). LRMS : m/z 418.3 (MH^+)
35 ¹		2-aminoindan hydrochlorid (od Aldrich Chemical Co.)	^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ : 0,87 (t, 3H), 1,25 (m, 3H), 4H), 1,42 (m, 12H), 1,56-1,70 (m, 4H), 1,90 (m, 2H), 2,02 (m, 1H), 2,22 (m, 1H), 2,80 (m, 2H), 3,35 (m, 2H), 4,76 (m, 1H), 5,86 (d, 1H), 7.19 (m, 4H). LRMS : m/z 400,3 (MH^+)

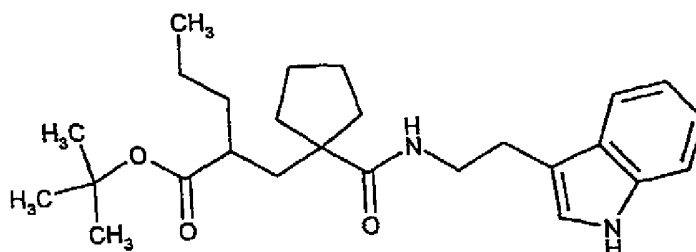
36 ²		2-amino-5-methyl-1,3,4-thiadiazol. (od Lancaster)	¹ H NMR (CDCl ₃ , 400MHz) δ: 0,82 (t, 3H), 1,20-1,85 (m, 20H), 2,18 (m, 4H), 2,67 (s, 3H), 9,80 (bs, 1H). LRMS : m/z 382,3 (MH ⁺)
37 ²		2-amino-5-ethyl-1,3,4-thiadiazol. (od Lancaster)	¹ H NMR (CDCl ₃ , 300MHz) δ: 0,82 (t, 3H), 1,20-1,80 (m, 22H), 1,84 (m, 1H), 2,20 (m, 4H), 3,04 (q, 2H), 9,10 (bs, 1H). LRMS : m/z 396,2 (MH ⁺)
38		Prep.22	¹ H NMR (CDCl ₃ , 300MHz) δ: 0,84 (t, 3H), 1,20-1,38 (m, 4H), 1,42 (s, 9H), 1,44-1,76 (m, 7H), 1,95-2,12 (m, 3H), 2,20 (m, 1H), 2,76 (s, 3H), 4,74 (dd, 1H), 4,82 (dd, 1H), 6,54 (bs, 1H). LRMS : m/z 396,2 (MH ⁺)
39 ^{1,2}		Prep.23	¹ H NMR (CDCl ₃ , 300MHz) δ: 0,88 (t, 3H), 1,21-1,38 (m, 3H), 1,40-1,70 (m, 17H), 1,88-2,04 (m, 3H), 2,20 (m, 1H), 2,39 (t, 2H), 2,80 (d, 3H), 3,53 (m, 2H), 6,13 (bs, 1H), 6,40 (m, 1H). LRMS : m/z 369,5 (MH ⁺)
40 ²		Prep.24	¹ H NMR (CDCl ₃ , 300MHz) δ: 0,82 (m, 3H), 1,16 (2xd, 3H), 1,20-1,72 (m, 21H), 1,83 (m, 1H), 1,98 (m, 3H), 2,17 (m, 1H), 2,38 (m, 2H), 1,96 (m, 1H), 3,34 (m, 1H), 3,54-3,62 (m, 2H), 4,15-4,20 (m, 1H), 6,21-6,35 (2xbd, 1H). LRMS : m/z 409,3 (MH ⁺)
41 ²		Prep.20	¹ H NMR (CDCl ₃ , 400MHz) δ: 0,82 (t, 3H), 1,19-1,38 (m, 4H), 1,42 (m, 12H), 1,60 (m, 3H), 1,74-2,02 (m, 10H), 2,18 (m, 1H), 2,78 (m, 1H), 4,38 (m, 1H), 5,32 (bs, 1H), 5,57 (bs, 1H), 7,28 (bs, 1H). LRMS : m/z 395 (MH ⁺)
42 ²		Prep.21	¹ H NMR (CDCl ₃ , 300MHz) δ: 0,86 (t, 3H), 1,18-1,78 (m, 25H), 1,84-2,03 (m, 6H), 2,22 (m, 1H), 2,68 (m, 1H), 2,96 (s, 3H), 3,03 (s, 3H), 3,84 (m, 1H), 5,78 (m, 1H). LRMS : m/z 437,7 (MH ⁺)
43 ²		Prep.29	¹ H NMR (CDCl ₃ , 300MHz) δ: 0,85 (t, 3H), 1,20-1,79 (m, 30H), 1,90 (m, 2H), 2,05 (m, 1H), 2,24 (m, 1H), 3,56 (m, 2H), 4,04 (m, 1H), 5,82 (bd, 1H). LRMS : m/z 396,4 (MH ⁺)

1 = reakce se provádí při teplotě místnosti

2 = jako elučního činidla se použije směsi methanolu a dichlor-methanu

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 4 4

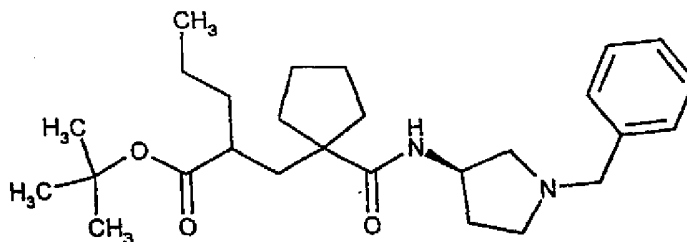
terc-Butyl-2-{[1-([2-(1H-indol-3-yl)ethyl]amino)karbonyl]-
cyklopentyl)methyl}pentanoát



Titulní sloučenina se získá ve formě světle žlutého oleje (výtěžek 80 %) z kyseliny z preparativního postupu 1 a tryptaminu podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 33 s tím rozdílem, že reakce se provádí v dichlor-methanu při teplotě místnosti. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,86 (t, 3H), 1,26 (m, 3H), 1,42 (m, 11H), 1,50-1,69 (m, 6H), 1,83 (m, 1H), 1,90-2,05 (m, 2H), 2,22 (m, 1H), 2,99 (t, 3H), 3,60 (m, 2H), 5,78 (m, 1H), 7,06 (s, 1H), 7,14 (m, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,63 (d, 1H), 8,02 (bs, 1 H); LRMS: m/z 427,5 (MH^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 4 5

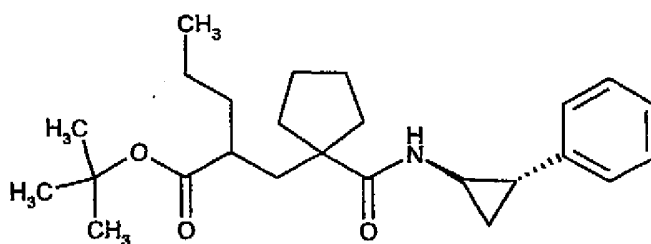
terc-Butyl 2-[(1-{[(3S)-1-benzylpyrrolidiny]amino}-
cyklopentyl)methyl]pentanoát



Titulní sloučenina se získá v kvantitativním výtěžku z kyseliny z preparativního postupu 1 a (3S)-1-benzyl-3-amino-pyrrolidinu (ex. Aldrich Chemical Co.), podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 44. ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,84 (t, 3H), 1,10-1,76 (m, 21H), 1,90-2,05 (m, 3H), 2,20-2,38 (m, 3H), 2,58 (m, 2H), 2,84 (m, 1H), 3,62 (s, 2H), 4,45 (m, 1H), 6,02 (m, 1H), 7,33 (m, 5H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 4 6

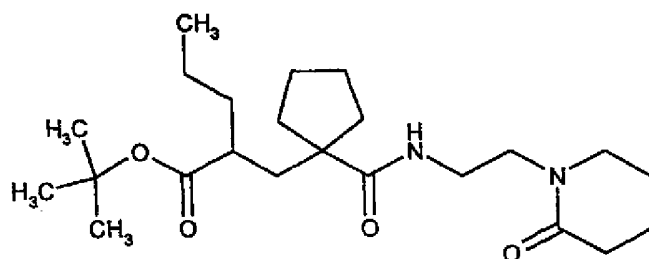
terc-Butyl-2-{[1-({[cis-2-fenylcyklopropyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]methyl}pentanoát



Hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (81 mg, 0,42 mmol), N-methylmorfolin (0,15 ml, 1,06 mmol) a hydrochlorid 1-S-amino-2-R-fenylcyklopropanu (J. Med. Chem., 1986,29,2044) (60 mg, 0,35 mmol) se přidají k roztoku kyseliny z preparativního postupu 1 (100 mg, 0,35 mmol) v dichlormethanu (10 ml). Reakční směs se 18 hodin míchá při teplotě místnosti a odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu dichlormethan : methanol (98 : 2 až 95 : 5). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě žlutého oleje (85 mg, 55 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,88 (t, 3H), 1,16 (m, 1H), 1,20-1,58 (m, 16H), 1,63 (m, 5H), 1,90-2,14 (m, 4H), 2,23 (m, 1H), 2,90 (m, 1 H), 6,00 (m, 1 H), 7,19 (m, 3H), 7,24 (m, 2H); LRMS: m/z 400 (MH^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 4 7

terc-Butyl-2-{[1-([2-(2-oxo-1-piperidiny)ethyl]amino)-
karbonyl]cyklopentyl]methyl}pentanoát

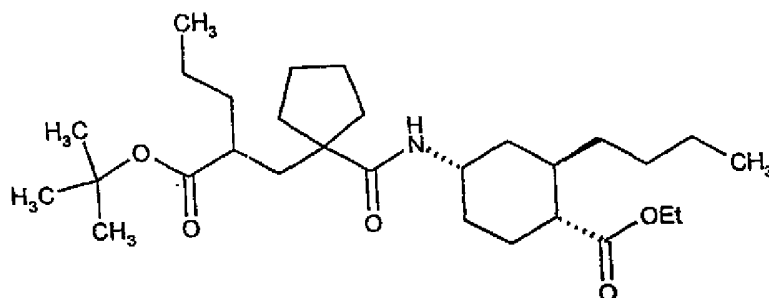


Mohohydrát hydrazinu (34 μ l, 0,70 mmol) se přidá k roztoku sloučeniny z preparativního postupu 6 (171 mg, 0,63 mmol) v ethanolu (10 ml). Reakční směs se 5 hodin zahřívá ke zpětnému toku, ochladí a přefiltruje. Filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se suspenduje v dichlormethanu a získaná suspenze se přefiltruje. Filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu, methanolu a 0,88 amoniaku (90 : 10 : 1) jako elučního činidla. Získá se amin (16 mg). Kyselina z preparativního postupu 1 (32 mg, 0,11 mmol), hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (25 mg, 0,13 mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (17 mg, 0,13 mmol) a N-methylmorfolin (25 μ l, 0,23 mmol) se přidají k roztoku tohoto aminu v N,N-dimethylformamidu (2 ml). Reakční směs se 18 hodin míchá při teplotě místnosti a poté rozdělí mezi ethylacetát a vodu. Vrstvy se oddělí. Organická fáze se promyje vodou (2x), vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Olejovitý zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu dichlormethan : methanol (98,5 : 1,5 až 95 : 5). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě oleje (43 mg, 17 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,82 (t, 3H), 1,22 (m, 3H), 1,38-1,65

(m, 17H), 1,58 (m, 4H), 1,95 (m, 3H), 2,17 (m, 1H), 2,37 (m, 2H), 3,30 (m, 2H), 3,38 (m, 2H), 3,50 (m, 2H), 6,76 (m, 1H);
LRMS: m/z 409,2 (MH⁺)

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 4 8

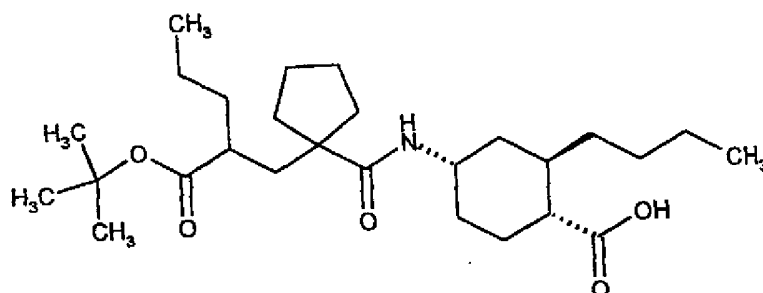
Ethyl (1R,2R,4S)-4-[(1-[2-(terc-butoxykarbonyl)pentyl]cyklo-pentyl)karbonyl)amino]-2-butylcyctohexankarboxylát



Směs kyseliny z preparativního postupu 1 (109 mg, 0,38 mmol), hydrochloridu (1R,2R,4S)-4-amino-2-butyl-cyklohexan-karboxylové kyseliny (WO9009374) (101 mg, 0,38 mmol), hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (95 mg, 0,50 mol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (60 mg, 0,40 mmol) a triethylamin (0,12 ml, 0,87 mmol) v dichlormethanu (3 ml) se 16 hodin míchá při teplotě místnosti a poté odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se smísí s roztokem hydrogenuhličitánu sodného a extrahuje ethylacetátem. Spojené organické extrakty se vysuší síranem sodným a odpaří za sníženého tlaku na pryskyřičný zbytek. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a pentanu (50 : 50) jako elučního činidla a azeotropicky odpaří s dichlormethanem. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (190 mg). ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 0,88 (m, 6H), 1,20-1,40 (m, 13H), 1,40-2,10 (m, 25H), 2,16-2,30 (m, 2H), 4,18 (m, 3H), 5,83 (d, 1H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 4 9

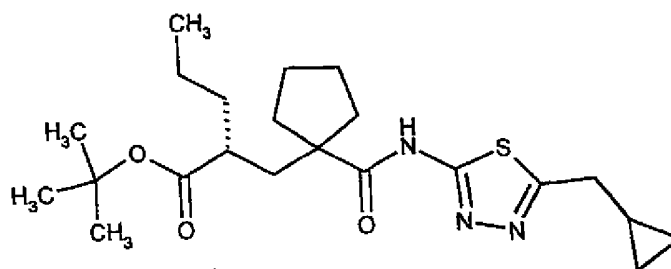
(1R,2R,4S)-4-[(1-[2-(terc-Butoxykarbonyl)pentyl]cyklopentyl)-karbonyl]amino]-2-butylcyklohexankarboxylová kyselina



Směs ethylesteru z preparativního postupu 48 (190 mg, 0,39 mmol) a 1M roztoku hydroxidu sodného (0,85 ml, 0,85 mmol) v methanolu (1,5 ml) se 22 hodin míchá při teplotě místnosti, poté 2M kyselinou chlorovodíkovou okyselí na pH 1 a rozdělí mezi ethylacetát a vodu. Vrstvy se oddělí a organická fáze se vysuší síranem hřečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ((130 mg, 72 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ : 0,86 (m, 6H), 1. 202,12 (m, 36H), 2,24 (m, 2H), 4,18 (m, 1 H), 5,82 (d, 1 H); LRMS: m/z 464 ($\text{M}-\text{H}$) $^-$.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 5 0

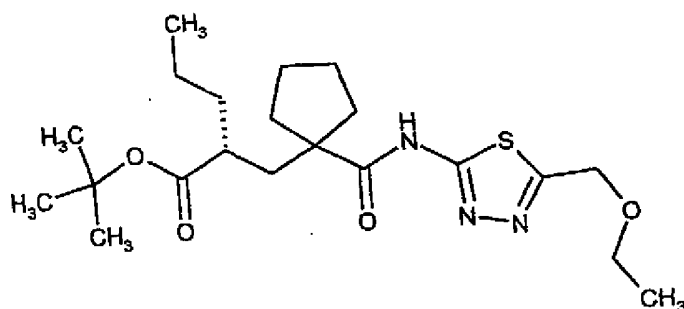
terc-Butyl-(2R)-2-{[1-([5-(cyklopropylmethyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]amino)karbonyl]cyklopentyl]methyl}pentanoát



Sloučenina uvedená v nadpisu se vyrobí z kyseliny z preparativního postupu 2 a aminu z preparativního postupu 31 (výtěžek 65 %) způsobem popsaným v preparativním postupu 33. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,35 (m, 2H), 0,63 (m, 2H), 0,80 (m, 3H), 1,10 (m, 1H), 1,20-1,94 (m, 20H), 2,19 (m, 4H), 2,93 (t, 2H), 3,50 (s, 1H); LRMS: m/z 422,4 (MH^+); $[\alpha]_D = -14,15^\circ$ ($c = 0,082$, methanol).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 5 1

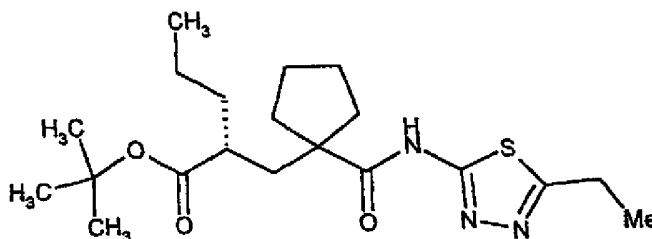
terc-Butyl-(2R)-2-{[1-({[5-(ethoxymethyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl]amino}karbonyl)cyclopentyl]methyl}pentanoát



Titulní sloučenina se připraví z kyseliny z preparativního postupu 2 a titulního produktu z preparativního postupu 97 (výtěžek 51 %) způsobem popsaným v preparativním postupu 33. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,10-1,78 (m, 25H), 1,82 (m, 1H), 2,19 (m, 5H), 3,48 (s, 1H), 4,82 (s, 2H), 10,16 (brs, 1H); LRMS: m/z 426,4 (MH^+); $[\alpha]_D = -12,50$ ($c=0,08$, methanol).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 5 1 a

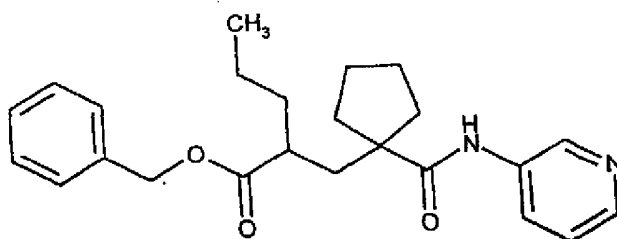
terc-Butyl-(2R)-2-[(1-{[(5-ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]-karbonyl}cyclopentyl)methyl]pentanoát



Ke směsi dichlormethanu (2,39 litru) a pyridinu (2,39 litru) se za míchání pod atmosférou dusíku při -14°C během 1 hodiny přidá thionylchlorid (135 ml, 1,85 mmol). Po 5minutovém míchání se ke vzniklé oranžové suspenzi během 45 minut přidá roztok produktu z preparativního postupu 2 (477 g, 1,67 mol) v dichlormethanu (477 ml), přičemž se směs zakalí. Reakční směs se 3 hodiny míchá a během 20 minut s k ní přidá triethylamin (20,5 g, 168 mmol). Ke vzniklé směsi se během 10 minut ve 3 dávkách přidá 2-amino-5-ethyl-1,3,4-thiadiazol (od Lancaster) (282 g, 2,18 mol). Reakční směs se nechá zahřát na teplotu okolí, 43 hodin míchá a přidá se k ní n-heptan (2,4 litru) a deionizovaná voda (1 litr). K výsledné směsi se za míchání a chlazení v ledové lázni během 0,5 hodiny přidá koncentrovaná kyselina chlorovodíková (3,56 litru). Vrstvy se oddělí a k organické vrstvě se za míchání přidá deionizovaná voda (2 litry) a koncentrovaná kyselina chlorovodíková (250 ml). Vrstvy se znovu oddělí a k organické vrstvě se za míchání přidá deionizovaná voda (2 litry) a koncentrovaná kyselina chlorovodíková (250 ml) a poté nasycený vodný roztok uhličitanu draselného (250 ml). Organická fáze se shromáždí a promyje nasyceným vodným roztokem chloridu sodného (2 x 1 litr). Výsledný roztok se zkoncentruje za sníženého tlaku. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (546 g, 1,38 mol, 85% výtěžek) ve formě viskosního hnědého oleje, kterého se použije v následujícím stupni bez dalšího přečištění. LRMS (negativní APCI): m/z $[\text{M-H}]^{-}$ 394; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,76 (t, 3H), 1,08-1,23 (m, 3H), 1,23-1,27 (m, 2H), 1,32 (s, 9H), 1,34-1,42 (m, 2H), 1,42-1,53 (m, 4H), 1,53-1,68 (m, 2H), 1,87 (dd, 1H), 1,95-2,06 (m, 1H), 2,06-2,24 (m, 3H), 2,98 (q, 2H), 12,15 (bs, 1H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 5 2

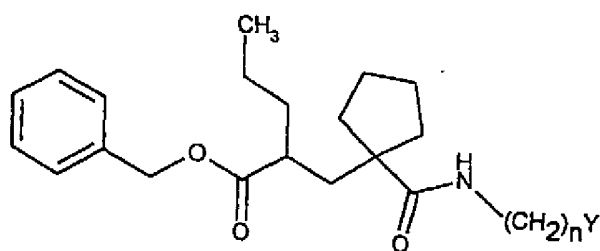
Benzyl-2-({1-[(3-pyridinylamino)karbonyl]cyklopentyl}-
methyl)pentanoát



Ke směsi chloridu kyseliny z preparativního postupu 3 (200 mg, 0,60 mmol) a 2-aminopyridinu (61 mg, 0,65 mmol) v dichlormethanu (3 ml) se přidá triethylamin (0,11 ml, 0,78 mmol). Reakční směs se 16 hodin míchá při teplotě místnosti a poté odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se rozdělí mezi roztok hydrogenuhličitanu sodného (5 ml) a ethylacetát (20 ml). Vrstvy se oddělí a organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku na pryskyřici. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití ethylacetátu jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (130 mg). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,82 (t, 3H), 1,21 (m, 3H), 1,40 (m, 1H), 1. 43-1,72 (m, 6H), 1,81 (d, 1H), 1,98 (m, 1H), 2,18 (m, 1H), 2,24 (m, 1H), 2,46 (m, 1H), 4,98 (m, 2H), 7,20-7,38 (m, 6H), 7,42 (s, 1H), 8,06 (d, 1H), 8,35 (d, 1H), 8,56 (s, 1H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p y 5 3 a ž 5 6

Sloučeniny obecného vzorce IVd, tj. sloučeniny obecného vzorce IV, kde Prot představuje benzylskupinu a R^1 představuje propylskupinu, se připraví z chloridu kyseliny z preparativního postupu 3 a uvedeného aminu podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 52.



(IVd)

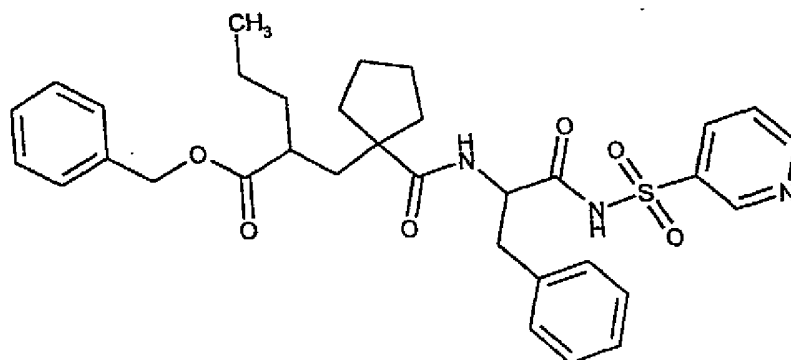
Prep.	$-(CH_2)_nY$	Prec. amine	Data
53 ¹		od Trans World Chemicals	¹ H NMR (CDCl ₃ , 300MHz) δ: 0,84 (t, 3H), 1,24 (m, 2H), 1,40-1,76 (m, 7H), 1,84 (dd, 1H), 1,98 (m, 1H), 2,19 (dd, 1H), 2,28 (m, 1H), 2,56 (m, 1H), 3,98 (s, 2H), 4,99 (dd, 2H), 6,98 (d, 1H), 7,19-7,42 (m, 15H).
54		Prep.27	¹ H NMR (CDCl ₃ , 300MHz) δ: 0,85 (t, 3H), 1,24 (m, 3H), 1,39-1,78 (m, 6H), 1,82 (dd, 1H), 1,98 (m, 2H), 2,20 (dd, 1H), 2,25 (m, 1H), 2,50 (m, 1H), 3,98 (s, 2H), 4,98 (dd, 2H), 7,18-7,40 (m, 10H), 7,45 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,42 (s, 1H).
55		Prep.30	¹ H NMR (CDCl ₃ , 400MHz) δ: 0,80 (t, 3H), 0,92 (t, 3H), 1,21 (m, 2H), 1,30-1,70 (m, 12H), 1,82 (dd, 1H), 2,04 (m, 1H), 2,20 (m, 2H), 2,50 (m, 1H), 2,58 (t, 2H), 4,98 (dd, 2H), 6,83 (d, 1H), 7,30 (m, 5H), 7,90 (s, 1H), 8,08 (s, 1H), 8,15 (d, 1H).
56 ²		Prep.28	¹ H NMR (CDCl ₃ , 300MHz) δ: 0,84 (t, 3H), 1,25 (m, 2H), 1,27-1,99 (m, 10H), 2,07-2,30 (m, 2H), 2,47 (m, 1H), 4,99 (s, 2H), 5,10 (dd, 2H), 6,59 (d, 1H), 7,15 (d, 1H), 7,34 (m, 11H), 8,10 (s, 1H).

1 = jako elučního činidla se použije dichlormethanu

2 = jako báze se použije N-methylmorfolinu.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 5 7

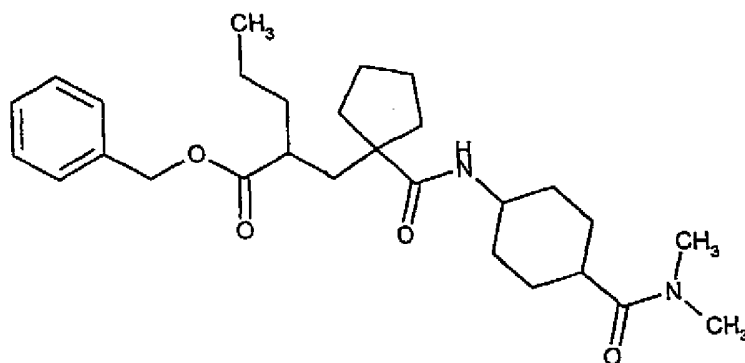
Benzyl-2-({1-[(1-benzyl-2-oxo-2-[(3-pyridinylsulfonyl)amino]-ethyl]amino)karbonyl]cyklopentyl)methyl}pentanoát



Hydrochlorid aminu z preparativního postupu 25 (828 mg, 2,19 mmol) a N-methylmorfolin (2,21 g, 21,9 mmol) se přidají k ledově chladnému roztoku chloridu kyseliny z preparativního postupu 3 (737 mg, 2,19 mmol) v dichlormethanu (50 ml). Reakční směs se 24 hodin míchá při teplotě místnosti a poté odpaří za sníženého tlaku. Zbytek se rozdělí mezi ethylacetát (50 ml) a vodu (50 ml). Vrstvy se oddělí a organická fáze se promyje vodným roztokem chloridu sodného (25 ml), vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu ethylacetát : methanol (100 : 0 až 95 : 5). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě krémově zbarvené pěny (975 mg, 73 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ : 0,72 (m, 3H), 0,94-2,20 (m, 17H), 2,84 (m, 1H), 3,00 (m, 1H), 4,18 (m, 1H), 5,00 (m, 2H), 6,95 (m, 2H), 7,02 (m, 3H), 7,38 (m, 6H), 8,06 (m, 1 H), 8,60 (m, 1H), 8,87 (s, 1H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 5 8

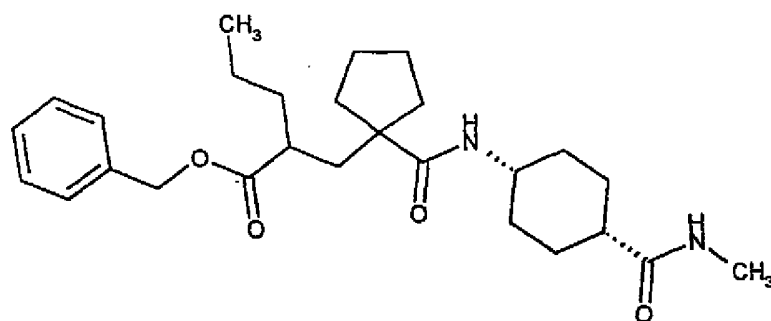
cis-Benzyl 2-({1-[(4-[(dimethylamino)karbonyl]-
cyklohexyl]amino)karbonyl]cyklopentyl)methyl}pentanoát



Směs cis-4-{[(1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]pentyl}cyklo-
pentyl)karbonyl]aminocyklohexankarboxylové kyseliny (EP
274234, příklad 310) (200 mg, 0,45 mmol), hydrochloridu 1-(3-
-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (112 mg, 0,58 mmol),
hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (70 mg, 0,46 mmol) a
dimethylamin (0,56 ml, 2M v tetrahydrofuranu, 1,12 mmol) v
dichlormethanu (5 ml) se 16 hodin míchá při teplotě místnosti.
Výsledná směs se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se
rozdělí mezi roztok hydrogenuhličitanu sodného a ethylacetát.
Vrstvy se oddělí a organická fáze se vysuší síranem hořečnatým
a odpaří za sníženého tlaku na pryskyřici. Surový produkt se
přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití
ethylacetátu jako elučního činidla. Získá se sloučenina
uvedená v nadpisu (150 mg). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,82 (t,
3H), 1,22 (m, 3H), 1,32-1,88 (m, H), 2,00 (m, 4H), 2,40 (m,
1H), 2,60 (m, 1H), 2,97 (s, 3H), 3,04 (s, 3H), 4,04 (m, 1H),
5,12 (s, 2H), 5,80 (bd, 1H), 7,37 (m, 5H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 5 9

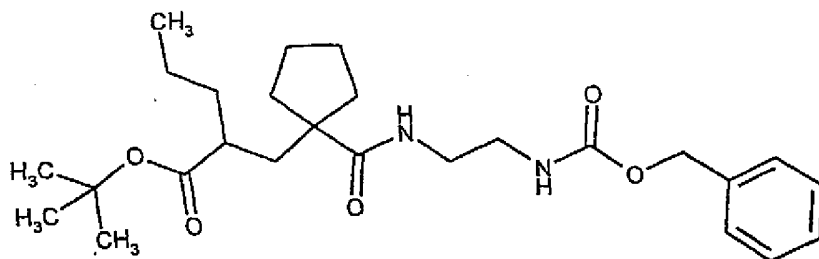
cis-Benzyl-2-((1-[(4-[(methylamino)karbonyl]-
cyklohexyl)amino]karbonyl]cyklopentyl)methyl)pentanoát



Titulní sloučenina se připraví ve výtěžku 49% výtěžku z cis-4-[[1-{2 [(benzyloxy)karbonyl]pentyl}cyklopentyl)-karbonyl]amino}cyklohexankarboxylové kyseliny (EP 274234, příklad 310) a methylaminu (2M v tetrahydrofuranu) způsobem popsaným v preparativním postupu 58. ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,82 (t, 3H), 1,172,12 (m, 22H), 2,21 (m, 1H), 2,41 (m, 1H), 2,80 (d, 3H), 4,00 (m, 1H), 5,12 (s, 2H), 5. 61 (m, 1H), 5,79 (d, 1H), 7,38 (m, 5H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 6 0

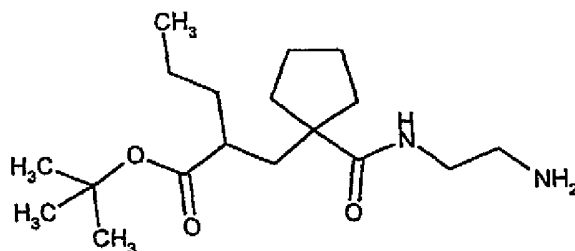
terc-Butyl-2-[(1-[(2-[(benzyloxy)karbonyl]amino)-ethyl)amino]karbonyl]cyklopentyl)methyl]pentanoát



Sloučenina uvedená v nadpisu se získá ve formě žlutého oleje (výtěžek 55 %) z kyseliny z preparativního postupu 1 a N-benzyloxykarbonyl-1,2-diaminoethanu (od Aldrich Chemical Co.) podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 33. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,84 (t, 3H), 1,20-1,38 (m, 3H), 1,40-1,74 (m, 17H), 1,90 (m, 2H), 2,04 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 3,32 (m, 3H), 3,44 (m, 1H), 5,10 (s, 2H), 5,61 (m, 1H), 6,20 (m, 1H), 7,36 (m, 5H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 6 1

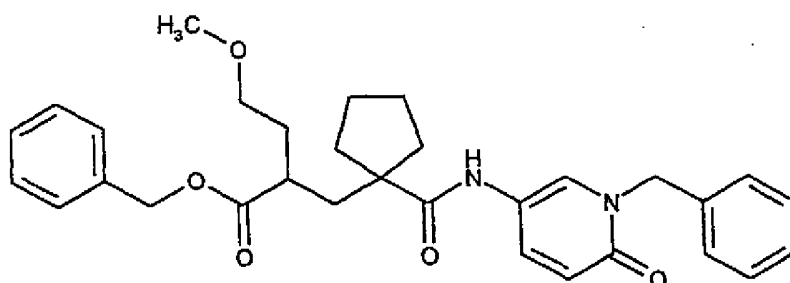
terc-Butyl 2-[(1-{[(2-aminoethyl)amino]karbonyl}-
cyklopentyl)methyl]pentanoát



Směs karbamátu z preparativního postupu 60 (1,43 g, 3,10 mmol) a 10% palladia na uhlíku (200 mg) v ethanolu (8 ml) se 18 hodin hydrogenuje při teplotě místnosti za tlaku 0,1 MPa. Reakční směs se přefiltruje přes Arbocel® a filtrát se odpaří za sníženého tlaku. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (920 mg, 92 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,84 (t, 3H), 1,20-1,38 (m, 3H), 1,40-1,54 (m, 12H), 1,61 (m, 5H), 1,92-2,12 (m, 3H), 2,20 (m, 1H), 2,98 (m, 2H), 3,38 (m, 1H), 3,42 (m, 1H), 3,97 (m, 2H), 6,65 (m, 1 H); LRMS: m/z 326,8 (M^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 6 2

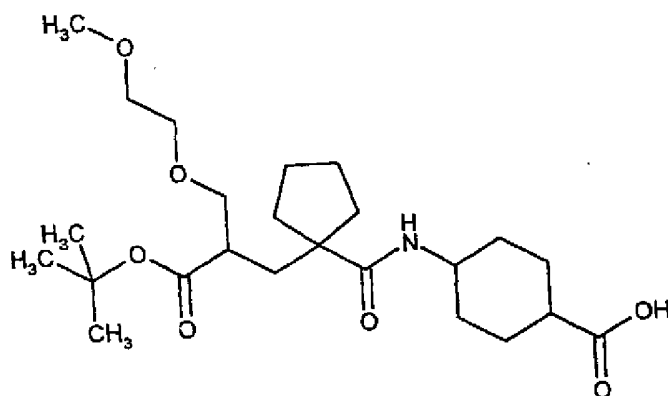
Benzyl-2-[(1-{[(1-benzyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridinyl)amino]-
karbonyl}cyklopentyl)methyl]-4-methoxybutanoát



Oxalylchlorid (0,26 ml, 3,0 mmol) se přidá k ledem chlazenému roztoku 1-{2[(benzyloxy)karbonyl]-4-methoxybutyl}cyklopentankarboxylové kyseliny (EP 274234, příklad 15) (1,0g, 3,0 mmol) a N,N-dimethylformamidu (2 kapky) v dichlormethanu (20 ml). Reakční směs se 2 hodiny míchá při teplotě místnosti. Výsledný roztok se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem (3 x 10 ml). Produkt se rozpustí v dichlormethanu (20 ml). Dichlormethanový roztok se ochladí v ledové lázni a přidá se k němu amin z preparativního postupu 28 (600 mg, 3 mmol) a N-methylmorfolin (0,6 ml, 5,45 mmol). Reakční směs se 18 hodin míchá při teplotě místnosti a poté zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se rozdělí mezi vodu a ether. Organická vrstva se promyje kyselinou chlorovodíkovou (2M), roztokem hydrogenuhlíčitanu sodného a poté vodou, vysuší síranem hořečnatým a odpaří z sníženého tlaku. Zelený pevný zbytek se přečistí středotlakou kapalinovou chromatografií na sloupci silikagelu za použití směsi ethylacetátu a hexanu (90 : 10) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (880 mg, 57 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,37-2,28 (m, 12H), 2,462,64 (m, 1H), 3,20 (s, 3H), 3,31 (m, 2H), 4,97 (dd, 2H), 5,08 (dd, 2H), 6,57 (d, 1H), 7,12 (m, 1H), 7,18-7,48 (m, 10H), 8,08 (d, 1H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 6 3

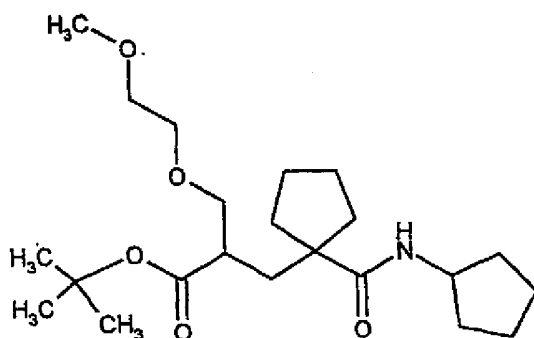
4-{[(1-{3-terc-Butoxy-2-[(2-methoxyethoxy)methyl]-3-oxopropyl}cyklopentyl)karbonyl]amino}cyklohexankarboxylová kyselina



Směs benzyl-4-{[(1-{3-terc-butoxy-2-[(2-methoxyethoxy)-methyl]-3-oxopropyl}cyklopentyl) karbonyl]amino}cyklohexan-karboxylátu (EP 274234, příklad 96) a 10% palladia na uhlíku (250 mg) ve vodě (10 ml) a ethanolu (50 ml) se 18 hodin hydrogenuje za tlaku 343,5 kPa při teplotě místnosti. Reakční směs se přefiltruje přes Solkafluc®. Filtrát se zkoncentruje za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s toluenem (3x) a poté dichlormethanem (3x). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (2,0g, 96 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,48 (s, 9H), 1,53-1,84 (m, 14H), 1,94-2,10 (m, 5H), 2,60 (m, 2H), 3,40 (s, 3H), 3,41-3,63 (m, 5H), 3,96 (m, 1H), 5,90 (bd, 1H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 6 4

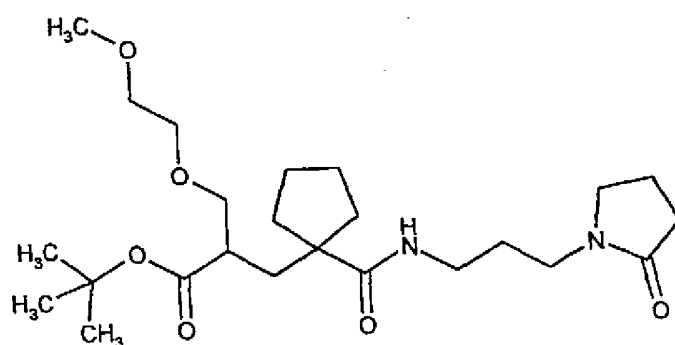
terc-Butyl-3-{1-[(cyklopentylamino)karbonyl]cyklopentyl}-2-[(2-methoxyethoxy)methyl]propanoát



Hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (197 mg, 1,07 mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (139 mg, 1,07 mmol), N-methylmorfolin (0,18 ml, 1,64 mmol) a cyklopentylamin (101 μ l, 1,07 mmol) se přidají k roztoku 1-{3-terc-butoxy-2-[(2-methoxyethoxy)methyl]-3-oxopropyl}-cyklopentankarboxylové kyseliny (EP 274234, příklad 42) (400 mg, 1,07 mmol) v dichlormethanu (5 ml). Reakční směs se 22 hodin míchá při teplotě místnosti a poté rozloží přidávkem vody. Vodná směs se extrahuje dichlormethanem (3x). Spojené organické extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a pentanu (30 : 70) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě čirého oleje (320 mg, 78 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,222,02 (m, 27H), 2,58 (m, 1H), 3,36 (s, 3H), 3,40 (m, 1H), 3,46 (m, 2H), 3,57 (m, 3H), 4,10-4,20 (m, 1H), 5,80 (bs, 1 H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 6 5

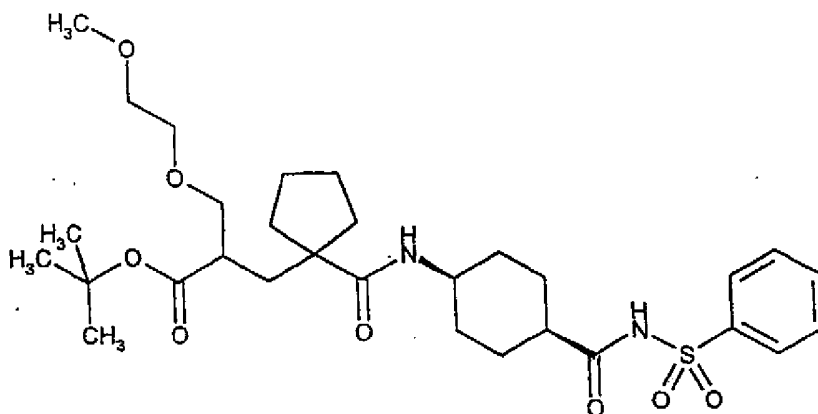
terc-Butyl-3-(2-methoxyethoxy)-2-{[1-([3-(2-oxo-1-pyrrolidinyl)propyl]amino)karbonyl]cyklopentyl}methylpropanoát



Titulní sloučenina se získá ve formě čirého oleje v 97% výtěžku z 1-3-terc-butoxy-2-[(2-methoxyethoxy)methyl]-3-oxo-propyl}cyklopentankarboxylové kyseliny (EP 274234, příklad 42) a 1-(3-aminopropyl)-2-pyrrolidinonu pyrrolidinonu (od Aldrich Chemical Co.), podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 64 s tím rozdílem, že se jako elučního činidla použije směsi dichlormethan : methanol (95 : 5). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,41 (s, 9H), 1,50 (m, 2H), 1,60-1,70 (m, 7H), 1,78 (m, 1H), 1,90 (m, 1H), 2,20 (m, 4H), 2,40 (m, 2H), 2,58 (m, 1H), 3,14 (m, 1H), 3,20 (m, 1H), 3,38 (m, 6H), 3,423,60 (m, 6H), 7,00 (m, 1H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 6 6

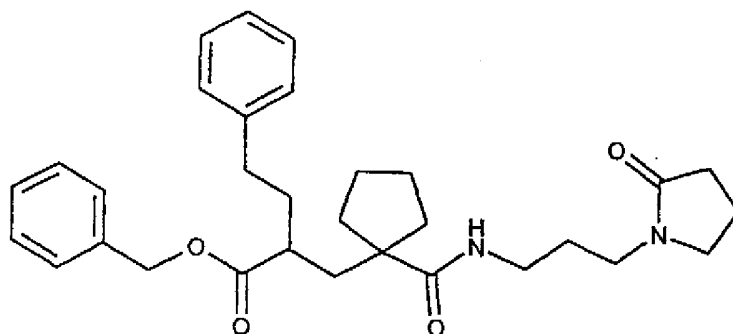
cis-terc-Butyl-3-(2-methoxyethoxy)-2-[(1-[(4-[(fenyl-sulfonyl)amino]karbonyl}cyklohexyl)amino]karbonyl}-cyklopentyl)methyl]propanoát



N,N'-Dicyklohexylkarbodiimid (199 mg, 0,97 mmol), 4-dimethylaminopyridin (118 mg, 0,97 mmol) a benzensulfonamid (152 mg, 0,97 mmol) se přidají k ledem chlazenému roztoku kyseliny z preparativního postupu 63 (400 mg, 0,878 mmol) v dichlormethanu (12 ml) a N,N-dimethylformamidu (0,5 ml). Reakční směs se 20 hodin míchá při teplotě místnosti a poté zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se suspenduje v chladném ethylacetátu. Vzniklá nerozpustná látka se odfiltruje. Filtrát se promyje kyselinou chlorovodíkovou (1M) a vodou, vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití elučního gradientu dichlormethan : methanol (95 : 5 až 90 : 10). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílé pěny (480 mg, 92 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,44 (s, 9H), 1,63 (m, 13H), 1,80 (m, 2H), 1,88 (m, 1H), 1,98 (m, 2H), 2,36 (m, 1H), 2,57 (m, 1H), 3,38 (s, 3H), 3,40 (m, 1H), 3,51 (t, 2H), 3,58 (m, 3H), 3,95 (m, 1H), 5,92 (d, 1H), 7,56 (m, 2H), 7,62 (m, 1H), 8,05 (d, 2H), 8,75 (bs, 1H); LRMS: m/z 618 (MNa^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 6 7

Benzyl-2-{[1-({[3-(2-Oxo-1-pyrrolidinyl)propyl]amino}-
karbonylcyklopentyl)methyl]-4-fenylbutanoát

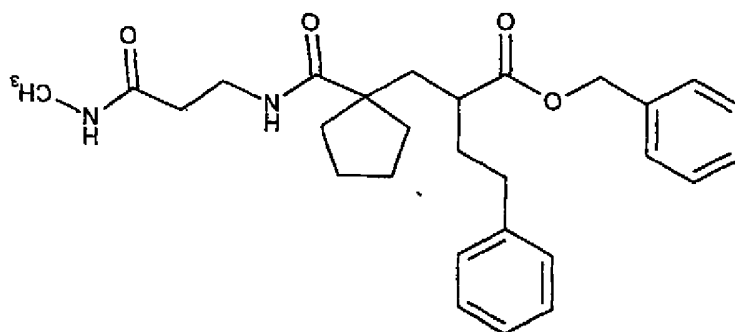


Hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (1,06 g, 5,53 mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (0,60 g, 4,44 mmol) a 4-methylmorfolin (0,56 g, 5,54 mmol) se při

teplotě místnosti postupně přidají k chlazenému roztoku 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]-4-fenylbutyl}cyklopentankarboxylové kyseliny (EP 274234, příklad 17) (1,5 g, 3,94 mmol) v suchém dichlormethanu (15 ml). Ke vzniklé směsi se přidá N-(3-amino-propyl)-2-pyrrolidinon (od Aldrich Chemical Co.) (0,56 g, 3,94 mmol). Reakční směs se 18 hodin míchá při teplotě místnosti, promyje vodou, 2M kyselinou chlorovodíkovou a nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Žlutý olejovitý zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a pentanu (50 : 50) jako elučního činidla. Získá se titulní sloučenina ve formě čiré pryskyřice (800 mg, 40 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,37-2,20 (m, 16H), 2,34-2,58 (m, 5H), 2,92-3,46 (m, 6H), 5,07 (d, 1H), 5,18 (d, 1H), 6,98-7,47 (m, 10H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 6 8

Benzyloxy-2-{[1-({[3-(methylamino)-3-oxopropyl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]methyl}-4-fenylbutanoát

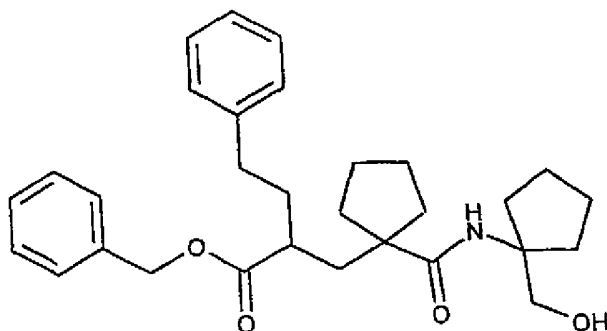


Hydrochlorid 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodi-imidu (122 mg, 0,64mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (86 mg, 0,64 mmol) a 4-methylmorfolin (173 1,59 mmol) se při teplotě místnosti postupně přidají k chlazenému roztoku 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]-4-fenylbutyl}-cyklopentankarboxylové

kyseliny (EP 274234, příklad 17) (202 mg, 0,53 mmol) v N,N-dimethylformamidu (5 ml). Ke vzniklé směsi se přidá hydrochlorid aminu z preparativního postupu 23 (146 mg, 1,06 mmol). Reakční směs se 18 hodin míchá při 90°C. Získaný roztok se ochladí a zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se rozdělí mezi vodu (20 ml) a ethylacetát (100 ml). Vrstvy se oddělí a organická vrstva se promyje vodou (3x30 ml, vodným chloridem sodným (25 ml), vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku na čirý olej. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a methanolu (98 : 2) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bezbarvého oleje (162 mg, 67 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,38-1,53 (m, 2H), 1,53-1,96 (m, 8H), 2,02 (m, 2H), 2,27 (t, 2H), 2,46 (m, 3H), 2,76 (d, 3H), 3,44 (m, 2H), 5,13 (s, 2H), 5,79 (bs, 1H), 6,38 (m, 1H), 7,06 (d, 2H), 7,18 (m, 1H), 7,22 (m, 2H), 7,38 (m, 5H); LRMS: m/z 465,5 (MH^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 6 9

Benzyl-2-{[1-({[1-(hydroxymethyl)cyklopentyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]methyl}-4-fenylbutanoát

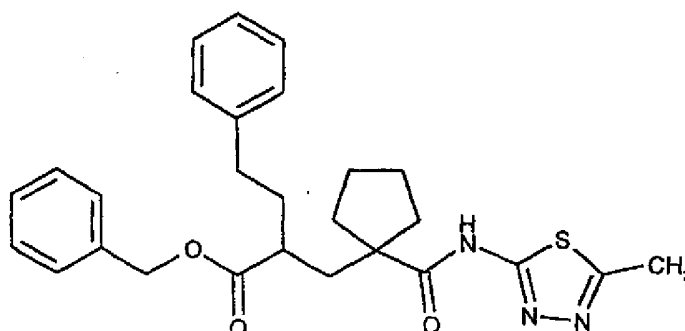


Titulní sloučenina se získá ve formě krystalické pevné látky (48%) z 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]-4-fenylbutyl}cyklopentankarboxylové kyseliny (EP 274234, příklad 17) a 1-amino-

-1-cyklopentanmethanolu podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 68 s tím rozdílem, že se reakční směs míchá při teplotě místnosti a surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a pentanu jako elučního činidla. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,38 (m, 2H), 1,50-1,95 (m, 16H), 2,01 (m, 2H), 2,45 (m, 3H), 3,49 (dd, 1H), 3,60 (dd, 1H), 4,58 (m, 1H), 5,10 (s, 2H), 5,67 (s, 1H), 7,01 (d, 2H), 7,14 (m, 1H), 7,20 (m, 2H), 7,36 (m, 5H); LRMS : m/z 478,3 (MH^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 7 0

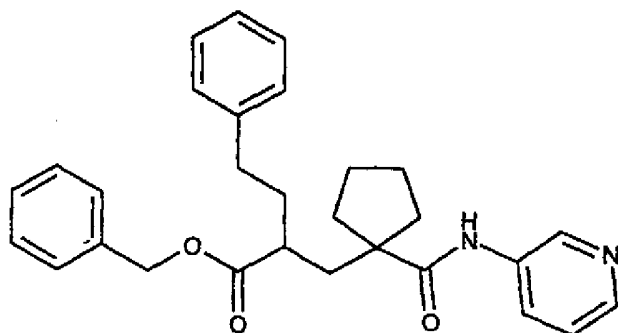
Benzyl-2-[(1-{[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]-karbonyl}cyklopentyl)methyl]-4-fenylbutanoát



Titulní sloučenina se získá ve formě čirého oleje v 74% výtěžku z 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]-4-fenylbutyl}cyklopentan-karboxylové kyseliny (EP 274234, příklad 17) a 2-amino-5-methyl-1,3,4-thiadiazolu (od Lancaster), podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 68. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,58-1,76 (m, 7H), 1,83-1,98 (m, 3H), 2,03 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 2,35 (m, 1H), 2,44 (m, 3H), 2,65 (s, 3H), 5,02 (dd, 2H), 7,00 (d, 2H), 7,15 (m, 1H), 7,19 (m, 2H), 7,35 (m, 5H); LRMS: m/z 478,7 (MH^+).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 7 1

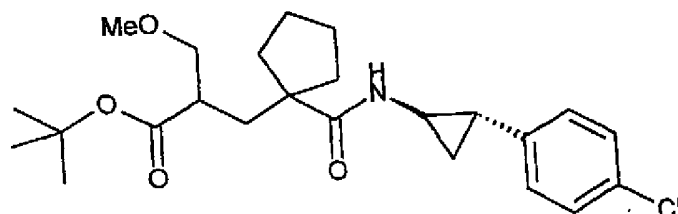
Benzyl-4-fenyl-2-({1-[(3-pyridinylamino)karbonyl]-
cyklopentyl)methyl)butanoát



Oxalylochlore (2,29 ml, 26,3 mmol) se přidá k roztoku 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]-4-fenylbutyl}cyklopentankarboxylové kyseliny (EP 274234, příklad 17) (5,0 g, 13,14 mmol) a N,N-dimethylformamidu (2 kapky) v dichlormethanu (25 ml). Vzniklý roztok se 2,5 hodiny míchá. Získaná směs se odpaří za sníženého tlaku a zbytek se azeotropicky odpaří s dichlormethanem. Olejovitý zbytek se rozpustí v dichlormethanu (50 ml). Roztok tohoto chloridu kyseliny (10 ml, 2,45 mmol) se přidá k ledem chlazenému roztoku triethylaminu (248 mg, 2,45 mmol) a 3-aminopyridinu (253 mg, 2,70 mmol) v suchém dichlormethanu (10 ml). Reakční směs se 18 hodin míchá při teplotě místnosti. Výsledný roztok se promyje vodou (3x), vysuší síranem hořečnatým a odpaří za sníženého tlaku. Surový produkt se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a hexanu (40 : 60) jako elučního činidla opakovaně za použití elučního gradientu ether : hexan (90 : 10 až 100 : 0). Produkt se nechá vykrystalovat ze směsi ethylacetátu a hexanu. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (740 mg, 66 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,38-2,07 (m, 10H), 2,10-2,37 (m, 2H), 2,42-2,63 (m, 3H), 5,02 (s, 2H), 6,94-7,44 (m, 10H), 7,50 (s, 1H), 8,03 (d, 1H), 8,36 (d, 1H), 8,52 (s, 1H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 7 2

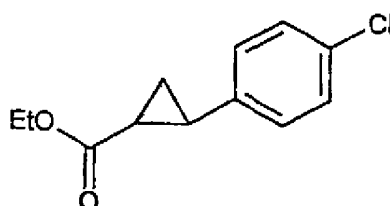
trans-terc-Butyl-3-[1-([2-(4-chlorfenyl)cyklopropyl]-amino)karbonyl]cyklopentyl]-2-(methoxymethyl)propanoát



Produkt z preparativního postupu 94 (286 mg, 1 mmol), produkt z preparativního postupu 76 (203 mg, 1 mmol), 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimid (211 mg, 1,1 mmol), triethylamin (1 ml) a HOBt (148 mg, 1,1 mmol) v DCM (5 ml) se 16 hodin míchají při teplotě místnosti. Reakční směs se promyje vodou (20 ml), vysuší síranem hořečnatým a přečistí sloupcovou chromatografií za použití směsi ethylacetátu a pentanu (1 : 8) jako elučního činidla. Získá se titulní sloučenina ve formě bezbarvého filmu (122 mg, 40 %). R_f 1 : 5 (EtOAc:pentan) 0,2; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1,05-1,2 (m, 2H), 1,4 (s, 9H), 1,55-1,75 (m, 4H), 1,9-2,0 (m, 4H), 2,4-2,5 (m, 1H), 2,75-2,85 (m, 1H), 3,3 (s, 3H), 3,4-3,5 (m, 1H), 6,3 (m, 1H), 7,05 (d, 2H), 7,2 (d, 2H); HRMS: m/z $M+H$, nalezeno 436,2242. $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{NO}_4\text{Cl}$ vypočteno 436,2249.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 7 3

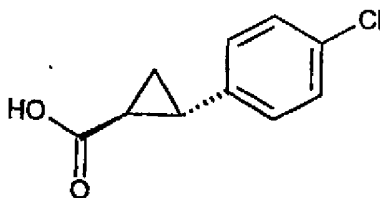
Ethyl-2-(4-chlorfenyl)cyklopropankarboxylát



Směs 4-chlorstyrenu (10,1 ml, 96 mmol) a dimerního acetátu rhodia (1 g, 4,5 mmol) v toluenu (50 ml) se zahřeje na 85°C, načež se k ní během 30 minut přidá ethyldiazoacetát (11,3 ml, 94 mmol). Vzniklá směs se další 1 hodinu zahřívá na 80°C a zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a pentanu (1 : 2) jako elučního činidla. Získá se titulní produkt ve formě bezbarvého oleje (7,8 g, 37 %). R_f 1 : 2 (DCM : pentan) 0,35; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1,15-1,3 (m, 4H), 1,5-1,7 (m, 1H), 1,8-1,9 (m, 1H), 2,4-3,55 (m, 1H), 4,2 (q, 2H), 6,95 (d, 2H), 7,20-7,28 (m, 2H); a LRMS: m/z , $M+\text{NH}_4^+$ 242.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 7 4

trans-2-(4-Chlorfenyl)cyklopropankarboxylová kyselina

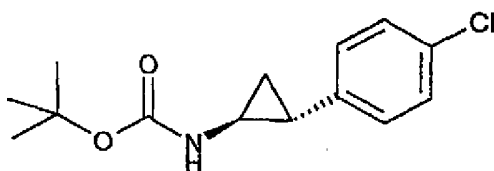


Produkt z preparativního postupu 73 (7,8g, 37 mmol) se při teplotě místnosti pod atmosférou dusíku rozpustí v ethanolu (75 ml). Ke vzniklému roztoku se během 15 minut přidá methoxid sodný (8,1 g, 150 mmol). Po dokončení přidavku se směs 18 hodin zahřívá ke zpětnému toku. Reakční směs se zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se zředí dichlormethanem a vodou (150 ml, směs 2 : 1). Organická vrstva se oddělí a vodná vrstva se reextrahuje dichlormethanem (2 x 50 ml). Spojené organické extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří, čímž se získá trans-ester (4,96 g, 62 %). Vodná vrstva se koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou okyselí na pH 1, přičemž vznikne bílá sraženina, která se odfiltruje a vysuší

za vakua. Získá se produkt hydrolýzy (odpovídající kyselina) ve formě bílého prášku (1,95 g, 27 %). Ester se rozpustí v methanolu (50 ml), vodě (50 ml) a hydroxidu lithném (1,34 g, 32 mmol). Vzniklý čirý roztok se přes noc zahřívá na asi 70°C. Reakční směs se ochladí a zkoncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou okyselí na pH 1. Bílá sraženina se extrahuje ethylacetátem (3 x 50 ml). Spojené organické extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří do sucha. Získá se kyselina (4 g, 96 %). Tato kyselina se spojí s produktem hydrolýzy získaném v předchozím stupni. Celkem se získá 5,95 g produktu. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 1,3-1,4 (m, 1H), 1,6-1,7 (m, 1H), 1,8-1,9 (m, 1H), 2,5-2,6 (m, 1H), 7,00 (d, 2H), 7,26 (d, 2H); LRMS: m/z, M-H 195.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 7 5

trans-terc-Butyl-2-(4-chlorfenyl)cyklopropylkarbamát

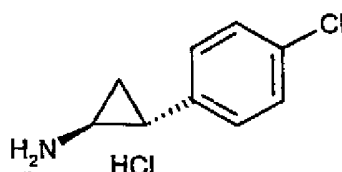


Produkt z preparativního postupu 74 (1,5g, 7,65mmol), DPPA (1,8 ml, 8,4 mmol) a triethylamin (1,25 ml, 12 mmol) v terc-butanolu (20 ml) se pod atmosférou dusíku 48 hodin zahřívá na asi 90°C. Po ochlazení se směs zředí ethylacetátem (20 ml) a nasyceným roztokem uhličitanu sodného (20 ml). Organická vrstva se odstraní. Vodná vrstva se reextrahuje ethylacetátem (20 ml). Spojené organické vrstvy se vysuší síranem hořečnatým, přefiltrují a filtrát se odpaří. Zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi ethylacetátu a pentanu (1 : 10 a poté 1 : 2) jako elučního činidla, čímž se získá titulní produkt ve formě bílé pevné

látky (1,7g, 83%). R_f 1 : 2 (EtOAc : pentan) 0,9; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1,2-1,3 (m, 1H), 1,4 (s, 10H), 1,9-2,0 (m, 1H), 2,6 (br. s, 1H), 4,8 (br. s, 1H), 7.0 (d, 2H), 7,2 (d, 2H); HRMS: m/z $M+\text{Na}$, nalezeno 290,0923. $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{NO}_2\text{ClNa}$ vypočteno 290,0918.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 7 6

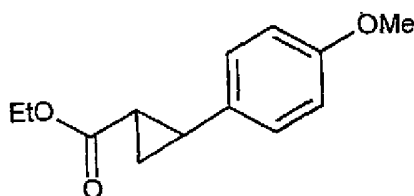
2-(4-Chlorfenyl)cyklopropylamin



Produkt z preparativního postupu 75 se vyjme do ethylacetátu. Ethylacetátový roztok se ochladí na 0°C a 30 minut se jím nechá probublávat plynný chlorovodík. Výsledný roztok se zkoncentruje za sníženého tlaku. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (1,29 g, 6,3 mmol). R_f 1 : 3 (EtOAc : pentan) 0; ^1H NMR (400MHz, CD_3OD): δ 1,3-1,4 (m, 1H), 1,4-1,5 (m, 1H), 2,3-2,4 (m, 1H), 2,82,9 (m, 1H), 7,15 (d, 2H), 7,3 (d, 2H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 7 7

Ethyl-2-(4-methoxyfenyl)-cyklopropylkarboxylát

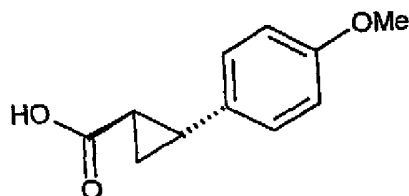


Směs 4-methoxystyrenu (25,5 ml, 192 mmol), dimerního ocranu rhodia (2 g, 4,5 mmol) a toluenu (100 ml) se 20 minut

míchá při teplotě místnosti pod atmosférou dusíku, poté zahřeje na 85°C a během 50 minut se k ní přidá ethyldiazoacetát (19,8 ml, 188 mmol) rychlostí asi kapka každé 2 až 3 sekundy, aby se vnitřní teplota reakční směsi udržela na asi 95°C. Po dokončení přidavku se směs 1 hodinu zahřívá na 85°C, poté ochladí na teplotu místnosti a přefiltruje přes Arbocel®. Filtrát se odpaří na olejovitý zbytek, který se přečistí sloupcovou chromatografií na silikagelu za použití směsi dichlormethanu a pentanu (1 : 2) jako elučního činidla, čímž se získá titulní produkt (13 g, 31 %), což je směs trans a cis isomerů v poměru 3 : 1. R_f 0,22 (DCM : pentan) 1 : 2; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1,20-1,38 (m, 5H), 1,83 (ddd, 1H), 2,50 (ddd, 1H), 3,80 (s, 3H), 4,16 (q, 2H), 6,82 (d, 2H), 7,03 (d, 2H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 7 8

Trans-2-(4-methoxyfenyl)-cyklopropankarboxylová kyselina

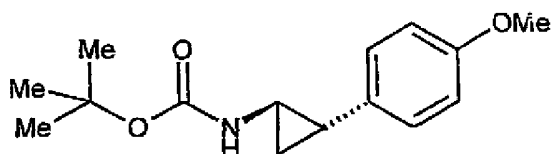


Methoxid sodný (14,8 g, 273,8 mmol) se za míchání při teplotě místnosti pod atmosférou dusíku přidá k roztoku produktu z preparativního postupu 77 (13 g, 59 mmol) v ethanolu (135 ml). Po dokončení přidavku se směs 1 hodinu zahřívá k mírnému zpětnému toku. Analýza pomocí TLC ukáže, že ve směsi již není přítomen žádný cis isomer. Reakční směs se ochladí na teplotu místnosti a v jedné dávce se k ní přidá voda (100 ml). Vodná směs se 63 hodin míchá při teplotě místnosti, odpaří, aby se odstranil methanol a koncentrovanou kyselinou choorovodíkovou okyselí na pH 1. Vzniklá suspenze se extrahuje

ethylacetátem (2 x 100 ml). Extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Žlutý pevný zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií za použití směsi ethylacetátu a pentanu (1 : 1) jako elučního činidla, čímž se získá titulní produkt (8,9 g, 78 %). R_f 1 : 1 (EtOAc : pentan) 0,4; $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1,30-1,41 (m, 1H), 1,58-1,69 (m, 1H), 1,79-1,90 (m, 1H), 2,53-2,62 (m, 1 H), 6,83 (d, 2H), 7,04 (d, 2H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 7 9

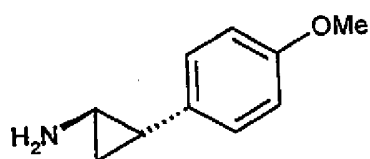
trans-terc-Butyl-2-(4-methoxyfenyl)cyklopropylkarbamát



DPPA (11 ml, 50,9 mmol) se přidá k míchané směsi produktu z preparativního postupu 78 (8,9 g, 44,63 mmol), triethylaminu (10,1 ml, 72,7 mmol) a terc-butanolu (75 ml). Výsledná směs se 43 hodin zahřívá na 90°C, poté ochladí a odpaří se z ní terc-butanol. Olejovitý zbytek se smísí s nasyceným rozokem uhličitanu draselného (120 ml) a extrahuje ethylacetátem (2 x 100 ml). Spojené organické extrakty se odpaří za sníženého tlaku. Hnědý pevný zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií za použití směsi DCM : MeOH (98 : 2) jako elučního činidla, čímž se získá titulní produkt (5,8 g, 48%). $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1,07-1,14 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,93-2,06 (m, 1H), 2,62-2,71 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 4,72-4,88 (m, 1H), 6,80 (d, 2H), 7,08 (d, 2H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 8 0

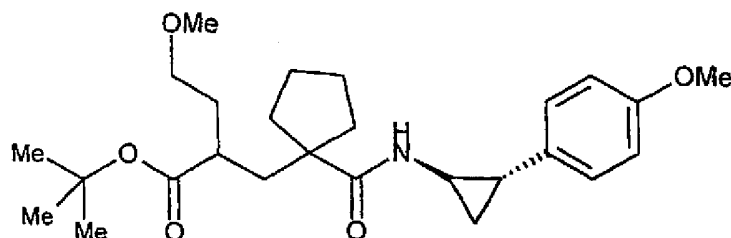
Trans-2-(4-methoxyfenyl)-cyklopropylamin



Trifluorooctová kyselina (20 ml) se při teplotě místnosti pod atmosférou dusíku přidá k míchané směsi produktu z preparativního postupu 79 (5,8 g, 22,0 mmol) a dichlormethanu (15 ml). Reakční směs se 16 hodin míchá, načež se z ní za sníženého tlaku odstraní rozpouštědlo. Olejovitý zbytek se smísí s uhličitanem draselným (do pH 10, asi 150 ml). Neprůhledný roztok se extrahuje ethylacetátem (2 x 150 ml). Extrakty se vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Běžový pevný zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií za použití směsi DCM a MeOH (99: 1 a poté 95 : 5) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě bílé pevné látky (3,2 g, 89 %). R_f DCM : MeOH (19 : 1) 0,18; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 0,87-1,04 (m, 2H), 1,79-1,90 (m, 1 H), 2,43-2,54 (m, 1 H), 3,80 (s, 3H), 6,80 (d, 2H), 6,98 (d, 2H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 8 1

terc-Butyl-4-methoxy-2-{[1-({[2-(4-methoxyfenyl)cyklopropyl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]methyl}butanoát

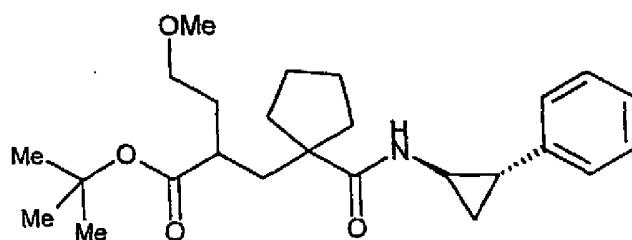


Produkt z preparativního postupu 99 (210 mg, 0,66mmol), triethylamin (1 ml), HOBt (140 mg, 0,73 mmol) a produkt z preparativního postupu 80 (107 mg, 0,66 mmol) se postupně

smísí při teplotě místnosti pod atmosférou dusíku. Ke vzniklé směsi se přidá WSCDI (98 mg, 0,73 mmol). Výsledná směs se 16 hodin (přes noc) míchá a poté zředí vodou. Organická vrstva se oddělí a promyje vodným chloridem sodným, vysuší síranem hořečnatým a přefiltruje. Filtrát se odpaří na žlutý olejovitý zbytek. Tento zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií za použití směsi EtOAc : pentan (1 : 3) jako elučního činidla, čímž se získá titulní produkt (113 mg, 38 %). R_f 1 : 10 (EtOAc : pentan) 0,2; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 1,0-1,10 (m, 2H), 1,40 (s, 9H), 1,35-1,45 (m, 2H), 1,50-1,80 (m, 7H), 1,85-2,10 (m, 4H), 2,25-2,35 (m, 1 H), 2,70-2,80 (m, 1 H), 3,2 (s, 3H), 3,25-3,35 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 6,05 (br. s, 1 H), 6,70 (d, 2H), 7,05 (d, 2H); LRMS: m/z 446 ($\text{M}+\text{H}$).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 8 1 a

terc-Butyl-4-methoxy-2-{[1-([2-fenylcyklopropyl]amino)-
karbonyl]cyklopentyl]methyl}butanoát

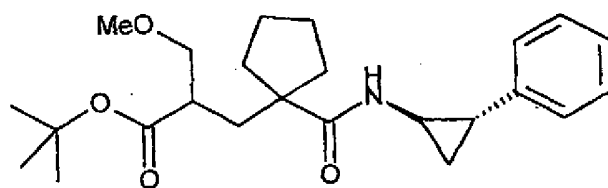


Titulní produkt se připraví podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 81, ale namísto produktu z preparativního postupu 80 se použije 1-S-amino-2-R-fenylcyklopropanu (J. Med. Chem., 1986, 29, 2044). ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 1,1 (m, 1H), 1,2 (m, 1H), 1,4 (s, 9H), 1,6 (m, 8H), 1,7, (m, 1H), 1,9 (m, 2H), 2,1 (m, 2H), 2,4 (q, 1H), 2,8 (q, 1H), 3,2 (s, 3H), 3,3 (q, 2H), 6,1 (bs, 1H), 7,1 (d, 3H), 7,2

(d, 2H). LRMS: m/z 416 (M+H); HRMS m/z nalezeno 416,2794.
 $C_{25}H_{32}NO_4$ vypočteno 416,2796.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 8 2

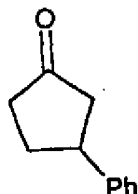
terc-Butyl-3-methoxy-2-[(1-{[(2-fenylcyklopropyl)amino]-
 karbonyl}cyklopentyl)methyl]propanoát



Produkt z preparativního postupu 94 (200 mg, 0,66 mol), triethylamin (1 ml), HOBt (98 mg, 0,73 mmol) a 1-S-amino-2-R-fenylcyklopropan (J. Med. Chem., 1986,29,2044) (123 mg, 0,73 mmol) se pod atmosférou dusíku při teplot místnosti postupně smísí s dichlormethanu (6 ml). Ke vzniklé směsi se přidá WSCDI (98 mg, 0,73 mmol). Výsledná směs se 16 hodin (přes noc) míchá při teplotě místnosti a poté zředí vodou. Organická vrstva se oddělí, promyje vodným chloridemm sodným, vysuší síranem hořečnatým a přefiltruje. Filtrát se odpaří na žlutý olejovitý zbytek, která se přečistí sloupcovou chromatografií za použití směsi EtOAc : pentan (1 : 3) jako elučního činidla, čímž se získá titulní produkt (164 mg, 62 %). R_f 1 : 10 (EtOAc : pentan) 0,2; 1H NMR (400MHz, $CDCl_3$): δ 1,0-1,1 (m, 2H), 1,4 (s, 9H), 1,5-1,8 (m, 6H), 1,8-2,05 (m, 4H), 2,3-2,4 (m, 1H), 2,7-2,8 (m, 1H), 3,2 (s, 3H), 3,25-3,35 (m, 1H), 3,7 (s, 3H), 6,05 (s, 1H), 6,7 (d, 2H), 7,05 (d, 2H); LRMS: m/z M+H, 446.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 8 3

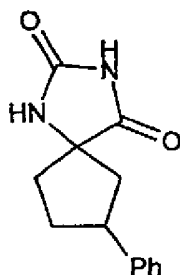
3-Fenylcyklopentanon



Fenylmagnesiumbromid (0,27 mol) se vyjme do suchého diethyletheru (200 ml). Vzniklý roztok se pod atmosférou dusíku ochladí na 0°C a v jedné dávce se k němu přidá jodid měďný (25,5 g, 0,13 mmol). Výsledná suspenze s 20 minut míchá při 0°C a poté se k ní během 10 až 15 minut přikape cyklopenten-2-on. Získaný roztok se 10 minut míchá při 0°C, během 1 hodiny nechá zahřát na teplotu místnosti a přidá ke 100 ml směsi nasyceného roztoku chloridu amonného a koncentrovaného amoniaku (počáteční pH = 9). Výsledná směs se 30 minut míchá a poté přefiltruje. Vrstvy filtrátu se oddělí. vodná vrstva se extrahuje etherem (2 x 70 ml). Extrakty se spojí s původní organickou vrstvou. Spojené etherové vrstvy se promyjí vodným roztokem chloridu sodného, vysuší síranem hořečnatým, přefiltrují a filtrát se odpaří. Světle žlutý olejovitý zbytek se chromatografuje za použití směsi etheru a pentanu (1 : 3) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (2,9 g, 14%). R_f EtOAc : pentan (1 : 2) 0,65; ^1H NMR (300MHz, CDCl_3): δ 1,91-2,10 (m, 1H), 2,18-2,59 (m, 4H), 2,67 (dd, 1H), 3,38-3,52 (m, 1H), 7,19-7,47 (m, 5H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 8 4

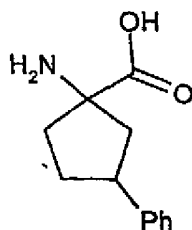
7-Fenyl-1,3-diazaspiro[4,4]nonane-2,4-dion



Produkt z preparativního postupu 83 (5,8 g), kyanid draselný (2,75 g) a uhličitán amonný (9,1 g) v 80 ml 50% vodného ethanolu se 7 hodin zahřívají a míchají 48 hodin při teplotě místnosti. Výsledná směs se přefiltruje. Pevná látka se důkladně promyje vodou (3 x 50 ml). Filtrát se zkoncentruje. Hodnota pH se za použití koncentrované kyseliny chlorovodíkové upraví na 2 a vzniklá suspenze se přefiltruje a promyje vodou (3 x 50 ml). Spojené pevné látky se překrystalují z ethanolu a vody (300 ml : 100 ml). Získá se sloučenina uvedená v nadpisu ve formě směsi diastereomerních párů (6,32 g). R_f 0,6 v EtOAc; $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ 1,60-2,58 (m, 6H), 3,08-3,37 (m, 1H), 6,83-7,44 (m, 5H), 8,33 (d, 1H), 10,60 (s, 1H); Analýza nalezeno: C, 68,09; H, 6,21; N, 12,25%. $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ vypočteno C, 67,81; H, 6,13; N, 12,17 %.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 8 5

1-Amino-3-fenyl-cyklopentankarboxylová kyselina

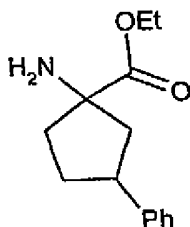


Titulní produkt z preparativního postupu 84 (6,2 g), oktahydrát hydroxidu barnatého (17,2 g) a voda (100 ml) se v bombě 7 hodin zahřívají na 160°C. Vzniklá směs se přes noc

nechá stát při teplotě místnosti a za použití koncentrované kyseliny sírové okyselí na pH 1. Výsledná suspenze se přefiltruje. Pevná látka se promyje vodou (100 ml). Filtrát se koncentrovaným roztokem amoniaku zalkalizuje na pH asi 6. Získaná suspenze se ochladí a v ledové lázni a přefiltruje. Pevná látka se promyje vodou a vysuší za vakua. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (2,9 g) o teplotě tání 265°C (za rozkladu). R_f 0,5 ve směsi methylišobutylketon : kyselina octová : voda (2 : 1 : 1); $^1\text{HNMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ 2,06-3,14 (m, 6H), 3,42-3,73 (m, 1H), 7. 12-7. 44 (m, 5H); Analýza nalezeno C, 69,54; H, 7,26; N, 6,73 %. $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_2$ vypočteno C, 70,22; H, 7,37; N, 6,82 %.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 8 6

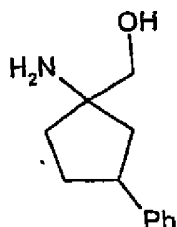
Ethyl-1-amino-3-fenyl-cyklopentankarboxylát



Titulní produkt z preparativního postupu 85 (500 mg, 2,4 mmol) se při 0°C vyjme do ethanolu nasyceného chlorovodíkem (70 ml). Vzniklý roztok se 16 hodin míchá při teplotě místnosti, 10 minut se jím nechá probublávat dusík a poté se z něj za sníženého tlaku odpaří rozpouštědlo. Běžový pevný zbytek se smísí s nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného (10 ml) a extrahuje ethylacetátem (2 x 10 ml). Spojené organické extrakty se vysuší a odpaří. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (360 mg, 63 %). R_f DCM : MeOH (97: 3) 0,23; $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1,31 (t, 3H), 1,50-2,37 (m, 4H), 2,38-2,44 (m, 1H), 2,63 (dd, 1H), 3,22-3,36 a 3,43-3,57 (m, 1H), 4,20 (q, 2H), 7,20-7,35 (m, 5H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 8 7

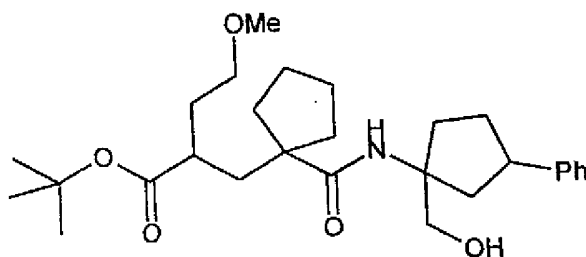
(1-Amino-3-fenylcyklopentyl)methanol



Tetrahydroboritan sodný (190 mg) se po částech přidá k míchanému roztoku produktu z preparativního postupu 86 (390 mg, 1,67 mmol) v 8 ml 50% vodného ethanolu. Vzniklá směs se 3 hodiny zahrívá na 50°C a poté odpaří. Získá se suspenze oleje ve vodě. Tento olej se extrahuje ethylacetátem (20 ml). Po odpaření za sníženého tlaku se získá sloučenina uvedená v nadpisu (295 mg). R_f (1 : 2 ether : pentan) 0,65; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 1,30-2,36 (m, 6H), 3,02-3,17 (m, 1H), 3,33-3,50 (m, 2H), 7,14-7,37 (m, 5H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 8 8

terc-Butyl-2-{[1-([1-(hydroxymethyl)-3-fenylcyklopentyl]-amino)karbonyl]cyklopentyl]methyl}-4-methoxybutanoát

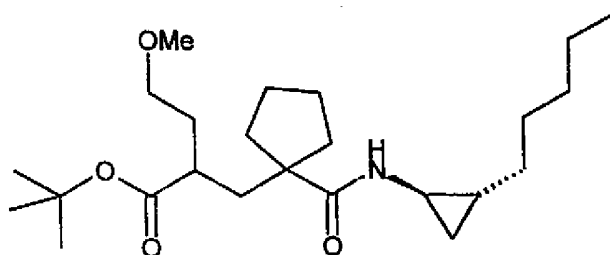


Titulní produkt se připraví podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 33 z produktu z preparativního postupu 99 a titulního produktu z preparativního postupu 87. R_f EtOAc : pentan (1 : 4) 0,25. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 0,80-0,88 (m, 3H), 1,16-2,60 (m, 21 H), 1,42 (s, 9H), 3,04-3,32 (m,

1H), 3,57-3,84 (m, 2H), 4,56-4,77 (m, 1H), 5,94 (br. t, 1H), 7,16-7,28 (m, 5H).

Preparativní postup 89

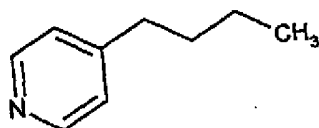
terc-Butyl-4-methoxy-2-[(1-{[(2-pentylcyklopropyl)amino]-
karbonyl}cyklopentyl)methyl]butanoát



Titulní produkt z preparativního postupu 99 (105 mg, 0,33 mmol), triethylamin (0,5 ml), HOBt (49 mg, 0,36 mmol) a 1-amino-2-pentylcyklopropan (100 mg, 0,33 mmol) se při teplotě místnosti pod atmosférou dusíku postupně smísí v dichlormethanu. Ke vzniklé směsi se přidá WSCDI (70 mg, 0,36 mmol). Reakční směs se 16 hodin (přes noc) míchá a poté zředí vodou. Organická vrstva se oddělí, promyje vodným chloridem sodným, vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Žlutý olejovitý zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií za použití směsi EtOAc a pentanu (1 : 3) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (96 mg, 71%). R_f 1 : 6 (EtOAc : pentan) 0,2; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 0,4-0,6 (m, 2H), 0,7-0,9 (m, 4H), 1,05-1,15 (m, 1H), 1,2-1,3 (m, 4H), 1,3-1,5 (m, 14H), 1,5-2,0 (m, 10H), 2,2-2,4 (m, 2H), 3,2-3,35 (m, 5H), 5,7-5,9 (br. s, 1H); LRMS: m/z, M+H, 410.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 9 0

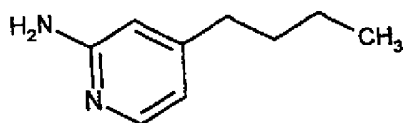
4-Butylpyridin



Lithiumdiisopropylamid se připraví tak, že se n-butyl-lithium (43 ml 2,5M roztoku v hexanech) při -30°C pod atmosférou dusíku přidá k roztoku diisopropylaminu (10,9 g) v suchém tetrahydrofuranu (100 ml). Vzniklá směs se 1 hodinu míchá při teplotě místnosti. Získaný roztok se ochladí na -78°C a přídá se k němu roztok 4-methylpyridinu (10 g) v suchém tetrahydrofuranu (20 ml). Směs se 1 hodinu míchá při -78°C , načež se k ní během 45 minut přikape jodpropan (20 g) ve formě roztoku ve 20 ml suchého tetrahydrofuranu. Výsledná směs se 1 hodinu míchá, načež se k ní přidá nasycený vodný roztok chloridu amonného (20 ml). Získaná směs se extrahuje etherem (2 x 100 ml). Spojené etherové extrakty se promyjí vodou (75 ml), vysuší síranem hořečnatým a odpaří na čirý olej. Tento olejovitý zbytek se přečistí destilací za podtlaku vodní vývěvy (asi 4 kPa). Produkt se shromáždí jako frakce destilovaná při 84 až 90°C . ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 0,93 (t, 3H, Me), 1,30-1,42 (m, 2H), 1,57-1,66 (m, 2H), 2,60 (t, 2H), 7,06 (d, 2H), 8,46 (d, 2H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 9 0 a

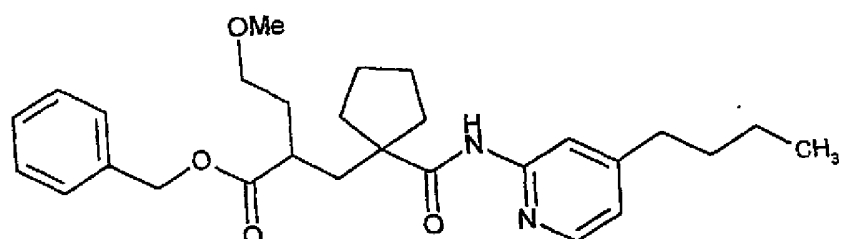
2-Amino-4-butylpyridin



Titulní produkt se připraví z produktu z preparativního postupu 90 způsobem popsáným v Journal of the Chemical Society, 1946, str. 936.

Preparativní postup 91

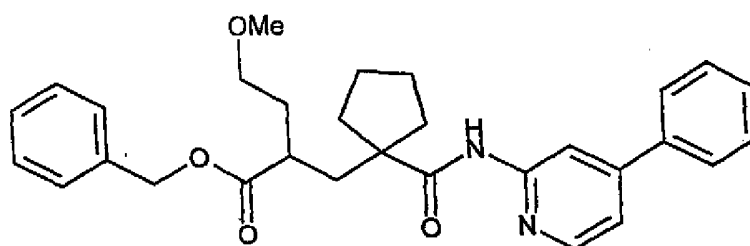
Benzyl-2-[(1-{[(4-butyl-2-pyridinyl)-amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]-4-methoxybutanoát



Titulní produkt se připraví podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 62, z 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]-4-methoxybutyl}cyklopentankarboxylové kyseliny (EP 274234, příklad 15) a produktu z preparativního postupu 90a. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,89 (t, 3H, Me), 1,36 (q, 2H, CH_2), 1,47-2,26 (m, 14H), 2,55-2,68 (m, 3H), 3,17 (s, 3H, OMe), 3,24 (t, 2H, CH_2OMe), 4,91 (d, 1H, CHPh), 5,00 (d, 1H, CHPh), 6,83 (d, 1H, Ar), 7,27-7,35 (m, 5H), 7,94 (brs, 1H, NH), 8,07 (s, 1H, Ar), 8,13 (d, 1H, Ar).

Preparativní postup 92

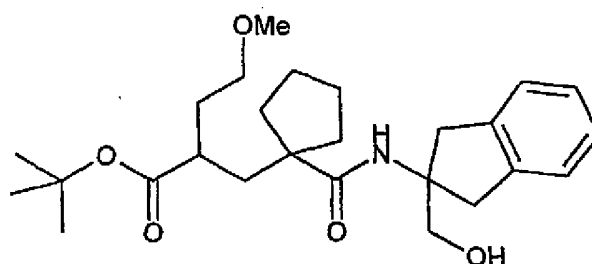
Benzyl-2-(1-{[(4-fenyl-2-pyridinyl)amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]-4-methoxybutanoát



Titulní produkt se připraví podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 62 z 1-{2-[(benzyloxy)-karbonyl]-4-methoxybutyl}cyklopentankarboxylové kyseliny (EP 274234, příklad 15) a 2-amino-4-fenylpyridinu (viz Journal of Medicinal Chemistry, 1978, str. 874). $^1\text{HNMR}$ (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,43-2,34 (m, 10H), 2,60-2,68 (m, 1H), 3,17 (s, 3H, OMe), 3,26 (t, 2H, CH_2), 4,93 (d, 1H, CHPh), 5,02 (d, 1H, CHPh), 7,187,32 (m, 5H, Ph), 7,38-7,46 (m, 3H), 7,61-7,69 (m, 2H), 8,02 (brs, 1H, NH), 8,29 (d, 1H, Ar), 8,57 (s, 1H, Ar).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 9 3

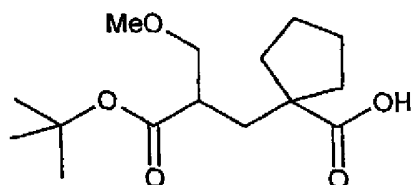
terc-Butyl-{[1-({[2-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]methyl}-4-methoxybutanoát



Titulní produkt se připraví podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 33 z produktu z preparativního postupu 99 a 2-amino-2-hydroxymethyl-2,3-dihydroindenu (WO9110644; příklad 8a). $^1\text{HNMR}$ (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,40 (s, 9H), 1,44-2,00 (m, 12H), 2,37-2,43 (m, 1H), 2,99 (d, 1H), 3,08 (d, 1H), 3,20-3,38 (m, 7H), 3,65 (dd, 1H), 3,84 (dd, 1H), 4,40 (t, 1H), 6,00 (s, 1H), 7,10-7,18 (m, 4H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 9 4

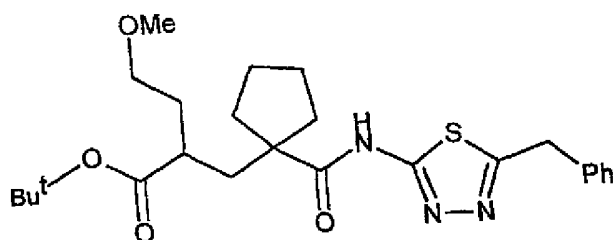
terc-Butylester 3-(1-karboxycyklopentyl)-2-(methoxymethyl)-propanové kyseliny



Titulní produkt z preparativního postupu 2 stupně b) (10g, 41,3 mmol) se při -78°C vyjme do tetrahydrofuranu a ke vzniklému roztoku se přikape lithiumpyridin (43 ml, 86,7 mmol, 2M roztok v tetrahydrofuranu). Výsledná směs se 40 minut míchá při -78°C , načež se k ní přikape chlormethylmethylether (4,7 ml, 62 mmol). Vzniklý roztok se přes noc pomalu nechá zahřát na teplotu místnosti a rozloží přidávkem 2M kyseliny chlorovodíkové (100 ml). Organické látky se extrahují ethylacetátem (2 x 100 ml), vysuší síranem hořečnatým a přečistí chromatografií za použití 2%, poté 3% a poté 5% methanolu v dichlormethanu jako elučního činidla. Získá se titulní produkt ve formě žlutého oleje (6,2 g, 53 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,40 (9H, s), 1,40-1,50 (4H, m), 1,20-1,80 (1H, m), 1,80-1,90 (1H, m), 2,00 (1H, dd), 2,00-2,05 (3H, m), 2,20 (1H, dd), 2,50-2,60 (1H, m), 3,30 (1H, s), 3,30-3,40 (1H, m), 3,40 (1H, t); LRMS: m/z, MNH_4^+ 304.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 9 5

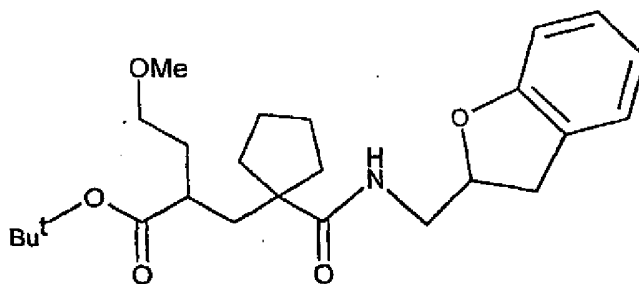
terc-Butyl-2-[(1-{[(5-benzyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]-karbonyl}cyklopentyl)methyl]-4-methoxybutanoát



Produkt z preparativního postupu 98 se podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 33, nechá reagovat s produktem z preparativního postupu 99. Získá se amid ve formě bílé pěny. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,80 (t, 3H), 1,20-1,35 (m, 2H), 1,37 (s, 9H), 1,40-2,20 (m, 13H), 4,30 (s, 2H), 7,30 (m, 5H); LRMS m/z 459 (M+H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 9 6

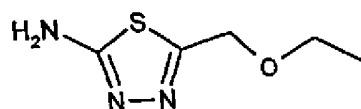
terc-Butyl-2-[(1-{[(2,3-dihydro-1-benzofuran-2-ylmethyl)-amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]-4-methoxybutanoát



Sloučenina uvedená v nadpisu se připraví z 2-aminomethyl-2,3-dihydrobenzofuranu (J. Med. Chem., 1968, 11 (4), str. 844) a titulního produktu z preparativního postupu 99 podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 33. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,4 (s, 10H), 1,45-2,00 (m, 12H), 2,05 (m, 1H), 2,30 (m, 1H), 2,90 (m, 1H), 3,05 (m, 5H), 3,30 (m, 2H), 3,55-3,65 (m, 1H), 4,80 (m, 1H), 6,15 (m, 1H), 6,70 (d, 1H), 6,80 (t, 1H), 7,00 (d, 1 H), 7,05 (m, 1 H); LRMS m/z 432 (M+H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 9 7

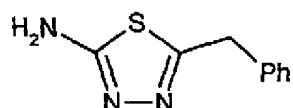
5-(Ethoxymethyl)-1,3,4-thiadiazol-2-amin



Sloučenina uvedená v nadpisu se vyrobí podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 31, z ethoxyoctové kyseliny.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 9 8

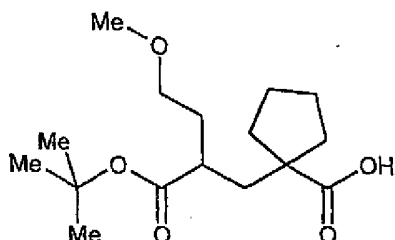
5-Benzyl-1,3,4-thiadiazol-2-amin



Sloučenina uvedená v nadpisu se vyrobí podobným způsobem, jaký je popsán v preparativním postupu 31, z fenylactové kyseliny. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 4,10 (m, 2H), 7,30 (m, 5H); Analýza nalezeno C, 56,73; H, 4,72; N, 21,67%. $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_3\text{S}$ vypočteno C, 56,62; H, 4,74; N, 21,97 %.

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 9 9

1-[2-(terc-Butoxykarbonyl)-4-methoxybutyl]cyklopentan- karboxylová kyselina

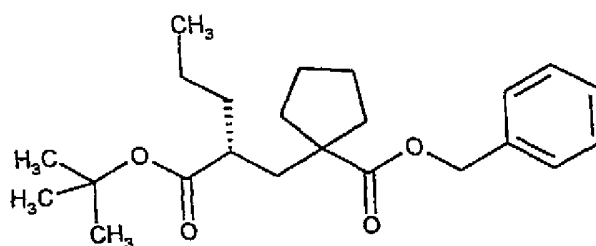


Roztok titulního produktu z preparativního postupu 2 stupně b) v suchém tetrahydrofuranu (100 ml) se při -78°C pod

atmosférou dusíku přidá k míchanému roztoku lithiiumdiisopropylamidu (130 ml) ve směsi hexanu (52 ml) a tetrahydrofuranu (200 ml). Po 1 hodině se ke směsi přidá 2-bromethylmethylether v tetrahydrofuranu (100 ml), přičemž se teplota udržuje na -78°C . Reakční směs se přes noc nechá zahřát na teplotu místnosti, rozloží vodou (100 ml), 2M kyselinou chlorovodíkovou okyselí na pH 1 a extrahuje ethylacetátem (2 x 150 ml). Spojené organické extrakty se vysuší síranem hořečnatým a zkoncentrují za sníženého tlaku. Surová kyselina se chromatografuje na silikagelu za použití elučního gradientu methanol : dichlormethan (čistý dichlormethan až 1 : 50). Získá se olej (7,7 g, 25,6 mmol, 52 %). R_f 0,3 methanol, dichlormethan 1 : 20. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,4 (s, 9H), 1,4-1,7 (m, 7H), 1,75-1,95 (m, 2H), 2,0-2,15 (m, 3H), 2,32,4 (m, 1H), 3,3 (s, 3H), 3,3-3,4 (m, 2H). LRMS: m/z 299 ($\text{M}-\text{H}^+$).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 1 0 0

Benzyl-1-[2-(terc-butoxykarbonyl)pentyl]cyklopentankarboxylát

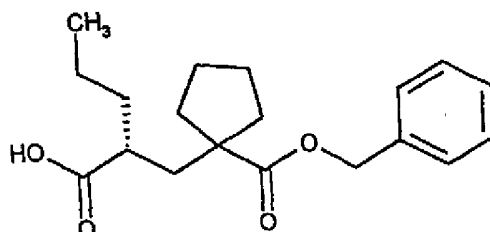


Produkt z preparativního postupu 2 (513 mg, 1,80 mmol) se rozpustí v methanolu (5 ml 75% vodného methanolu). Ke vzniklému roztoku se v jedné dávce přidá uhličitan cesný (300 mg, 0,95 mmol). Ze směsi se po 5 minutách za sníženého tlaku odstraní rozpouštědlo. Zbytek se azeotropicky odpaří s toluenem (2 x 5 ml) a pod atmosférou dusíku rozpustí v 7 ml suchého dimethylformamidu. Benzylbromid se vyjme do 3 ml suchého dimethylformamidu a za míchání pomalu přidá k roztoku.

Reakční směs se 3 hodiny míchá při teplotě místnosti, poté nalije do ethylacetátu (40 ml) a promyje vodou (40 ml), 1M kyselinou chlorovodíkovou (20 ml) a vodou (2 x 20 ml). Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Hustý olejovitý zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií za použití směsi dichlormethanu a pentanu (1 : 2) a poté směsi ethylacetátu a pentanu (1 : 2) jako elučního činidla. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (430 mg, 64 %). ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 0,83 (t, 3H), 1,17-1,32 (m, 3H), 1,42 (s, 9H), 1,36-1,68 (m, 7H), 1,80 (dd, 1H), 1,97-2,12 (m, 4H), 5,10 (přibl. q, 2H), 7,36 (m, 5H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 1 0 1

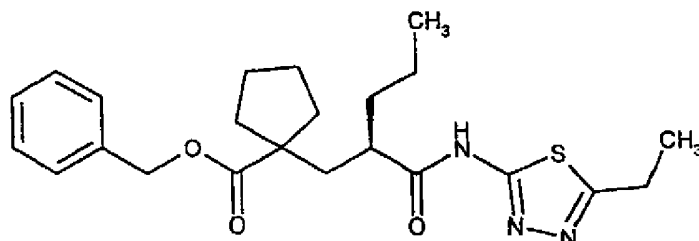
2-({1-[(Benzyloxy)karbonyl]cyklopentyl}methyl)pentanová kyselina



Produkt z preparativního postupu 100 (430 mg, 1,15 mmol) se pod atmosférou dusíku vyjme do trifluoroctové kyseliny. Vzniklá směs se 16 hodin míchá a poté odpaří do sucha. Zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií za použití směsi dichlormethanu a methanolu (95 : 5) jako elučního činidla. Získá se titulní produkt (353, 97 %). ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) 0,82 (t, 3H), 1,20-1,74 (m, 10H), 1,80 (dd, 1H), 2,04-2,13 (m, 3H), 2,24-2,41 (m, 1H), 5,10 (app q., 2H), 7,36 (m, 5H).

P r e p a r a t i v n í p o s t u p 1 0 2

Benzyl-1-(2-{[(5-ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}-
pentyl)cyklopentankarboxylát



Produkt z preparativního postupu 101 (353 mg, 1,11 mmol), 2-amino-5-ethyl-1,3,4-thiadiazol (od Lancaster) (150 mg, 1,15 mmol), WSCDI (255 mg, 1,20 mol), HOBt (173 mg, 1,20 mmol) a 4-methylmorfolin (0,24 ml, 1,20 mmol) se smísí v 5 ml acetonitrilu. Vzniklá směs se 16 hodin míchá při teplotě místnosti pod atmosférou dusíku, poté 3 hodiny zahřívá na 50°C a 3 hodiny na 80°C, ochladí na teplotu místnosti a odpaří. Zbytek se rozpustí v ethylacetátu (10 ml) a ethylacetátový roztok se pomyje roztokem hydrogenuhlčitanu sodného (10 ml). Organická vrstva se vysuší síranem hořečnatým a odpaří. Pryskyřičný zbytek se přečistí sloupcovou chromatografií. Získá se sloučenina uvedená v nadpisu (430 mg, 90 %). ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) 0,79 (t, 3H), 1,15-1,24 (m, 3H), 1,37 (t, 3H), 1,42-1,63 (m, 7H), 1,83 (dd, 1H), 2,00-2,20 (m, 3H), 2,42-2,51 (m, 1H), 2,97 (q, 2H), 5,01 (zřejmě q, 2H), 7,30 (m, 5H).

Stanovení NEP

Příprava a stanovení rozpustné neutrální endopeptidasy (NEP)
z kůry ledvin psa, potkana a králíka

Rozpustná NEP byla získána z kůry ledviv a její aktivita byla stanovena měřením rychlosti štěpení NEP substrátu, Abz-D-Arg-Arg-Leu-EDDnp, za vzniku jeho fluorescenčního produktu, Abz-D-Arg-Arg.

Zkušební postup

1. Látky

Veškerá voda byla dvojitě deionizována.

1.1. Tkáně

Lidské ledviny IIAM (Pensylvania, USA)

Potkaní ledviny (vlastní zdroj)

Králičí ledviny (vlastní zdroj)

Psí ledviny (vlastní zdroj)

1.2. Homogenizační médium

100mM mannitol a 20mM Tris o pH 7,1

2,42 g Tris (Fisher T/P630/60) se zředí v 1 litru vody a pH zředěné směsi se za použití 6M kyseliny chlorovodíkové při teplotě místnosti nastaví na 7,1. K této směsi se přidá mannitol (Sigma M-9546).

1.3. Tris pufr (NEP pufr)

50ml 50mM Tris pH 7,4 (Sigma T2663) se zředí 950 ml vody.

1.4. Substrát (Abz-D-Arg-Arg-Leu-EDDnp)

Připraví se podle pokynů firmy SNPE a skladuje se jako prášek při -20°C. 20mM zásobní suspenze se připraví šetrným resuspendováním substrátu v Tris pufru, přičemž by se nemělo používat ani vířivého pohybu ani sonikace. 600μl alikvoty 2mM zásobní suspenze se skladují až 1 měsíc při -20°C. (Medeiros, M.A.S., Franca, M. S. F. et al., 1997, Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research, 30, 1157 až 1162).

1.5. Úplný produkt

Na desku se zařadí vzorky odpovídající 100% konverzi substrátu na produkt, aby bylo možno stanovit % obratu substrátu. Úplný

produkt se vytvoří inkubací 1 ml 2mM substrátu s 20 μ l zásobní suspenze enzymu po dobu 24 hodin při 37°C.

1.6. Ukončovací roztok

Za použití NEP pufru se připraví 300 μ M zásobní roztok Fosforamidonu (Sigma R7385), který se v 50 μ l alikvotech skladuje při -20°C.

1.7. Dimethylsulfoxid (DMSO)

1.8. Chlorid hořečnatý ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$, Fisher M0600/53)

1.9. Černé destičky s 96 jamkami s kulatým dnem (Costar 3915)

1.10. TopSeal A (Packard 6005185)

1.11. Centrifugační zkumavky

2. Speciální zařízení

2.1. Centrifuga Sorvall RC-5B (rotor SS34 GSA, předchlazená na 4°C).

2.2. Miniprimer mixér Braun

2.3. Centrifuga Beckman CS-6R

2.4. Fluorstar Galaxy

2.5. Třepaný inkubátor Wesbart 1589

3. Postupy

3.1. Tkáňové preparáty

3.2. Psí, potkanní, králičí a lidská NEP se získá z kůry ledvin za použití modifikovaného způsobu popsaného v Booth, A. G. a Kenny, A. J. (1974) Biochem. J. 142, 575 až 581.

3.3. Zmrazené ledviny se nechají roztát při teplotě místnosti a od medully se oddělí kůra.

3.4. Kůra se jemně naseká a homogenizuje přibližně v 10 objemech homogenizačního pufru (1.2) za použití mixéru Miniprimer Braun (2.2)

3.5. K homogenátu se přidá chlorid hořečnatý (1.8) (20,3 mg/g tkáně) a vzniklá směs se 15 minut míchá v lázni z ledové vody.

3.6. Homogenát se v centrifuze Beckman (2.3) centrifuguje při 1500xg (3820 min^{-1}) po dobu 12 minut. Supernatant se přemístí do čerstvé centrifugační zkumavky a peleta se odloží.

3.7. Supernatant se v centrifuze Sorvall (2.1) centrifuguje při 15 000xg ($12\,100 \text{ min}^{-1}$) po dobu 12 minut a supernatant se zahodí.

3.8. Světle růžová vrstva na vrchu výsledné pelety se oddělí a resuspenduje v homogenizačním pufru obsahujícím chlorid sodný (9 mg chloridu sodného v 5 ml pufru na 1 g tkáně).

3.9. Suspenze se v centrifuze Beckman (2.3) centrifuguje při 2200xg (4630 min^{-1}) po dobu 12 minut a peleta se zahodí.

3.10. Supernatant se v centrifuze Sorvall (2.1) centrifuguje při 15 000xg ($12\,100 \text{ min}^{-1}$) po dobu 12 minut a supernatant se zahodí.

3.11. Výsledná peleta se resuspenduje v homogenizačním pufru obsahujícím chlorid hořečnatý (0,9 mg chloridu hořečnatého v 0,5 ml pufru na 1 g tkáně). Homogenní suspenze se získá za použití mixéru Braun Miniprimer (2.2), v 100 μl alikvotech zmrazí a je možno ji zkoušet na aktivitu NEP.

4.0. Stanovení aktivity NEP

Aktivita se za použití alikvotů NEP připravených výše popsaným způsobem měří jako schopnost štěpit NEP specifický peptidový substrát.

4.1. Připraví se 4% roztok DMSO v NEP pufru (4 ml DMSO v 96 ml NEP pufru).

4.2. Zásobní substrát, úplný produkt, enzym a roztok fosforamidonu se nechají roztát na ledu.

4.3. Do každé jamky se přidá 50 μl 4% roztoku DMSO v NEP pufru.

4.4. 2mM zásobní substrát se zředí 1 : 4, čímž se získá 50 μ M roztok. Do každé jamky se přidá 100 μ l 50 μ M substrátu (konečná koncentrace 25 μ M).

4.5. Reakce se zahájí přidavkem 50 μ l od každé koncentrace ze sériového ředění enzymu (obvykle se používá ředění 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600 a 1:3200). Do prázdných jamek se přidá 50 μ l NEP pufru.

4.6. 2mM úplný produkt se zředí v poměru 1:80, čímž se získá 25 μ M roztok. 200 μ l 25 μ M produktu se přidá do prvních čtyřech jamek nové destičky.

4.7. Destičky se inkubují v třepacím inkubátoru po dobu 60 minut při 37°C.

4.8. 300 μ M zásobní roztok fosforamidonu se zředí 1:100, čímž se získá 300nM roztok. Reakce se zastaví přidavkem 100 μ l 300nM fosforamidonu. Výsledná směs se inkubuje v třepacím inkubátoru 20 minut při 37°C a odečítá na zařízení Fluostar (ex320/em420).

5. Stanovení NEP inhibice

5.1. Substrát, úplný produkt, enzym a zásobní roztok fosforamidonu se nechají roztát na ledu.

5.2. Zásobní roztoky sloučenin se připraví za použití 100% dimethylsulfoxidu a zředí v poměru 1 : 25 NEP puftrem, čímž se získají 4% dimethylsulfoxidové roztoky. Všechna další ředění se provádějí za použití 4% dimethylsulfoxidového roztoku (4 ml DMSO v 96 ml NEP pufru).

5.3. 50 μ l sloučeniny se dvojmo navzorkuje do 96jamkových destiček; do kontrolních jamek a jamek pro slepý pokus se navzorkuje 50 μ l 4% roztoku DMSO v NEP pufru.

5.4. 2mM zásobní substrát se zředí v poměru 1 : 40 za použití NEP pufru, čímž se získá 50 μ M roztok (275 μ l 2mM substrátu na 10,73 ml pufru postačuje pro 1 destičku).

5.5. Zásobní enzym se zředí NEP puftrem (stanoveno z kontrol aktivity).

5.6. 2mM zásobní úplný produkt se zředí v poměru 1 : 80 NEP puforem, čímž se získá 25 μ M roztok. Do prvních čtyřech jamek separátní destičky se navzorkuje 200 μ l.

5.7. 300 μ M zásobní roztok fosforamidonu se zředí v poměru 1 : 1000, čímž se získá 300nM zásobní roztok (11 μ l fosforamidonu na 10,99 ml NEP pufru).

5.8. Do každé jamky 96jamkové destičky se přidají následující látky:

Tabulka látek, které se mají navzorkovat do 96jamkové destičky

	Sloučenina/ DMSO	Tris pufr	Substrát	Enzym	Úplný produkt
vzorky	2 μ l slouče- niny	50 μ l	100 μ l	50 μ l	žádný
kontrola	2 μ l DMSO	50 μ l	100 μ l	50 μ l	žádný
slepé					
pokusy	2 μ l DMSO	100 μ l	100 μ l	žádný	žádný
s úplným produktem	2 μ l DMSO	žádný	žádný	žádný	200 μ l

5.9. Reakce se zahání přidávkem NEP enzymu a pokračuje jednohodinovou inkubací při 37°C v třepacím inkubátoru.

5.10. Reakce se ukončí 100 μ l 300nM fosforamidonu. Směs se inkubuje 20 minut při 37°C v třepacím inkubátoru. Odečet se provádí za zařízení Fluostar (ex320/em420).

6. Výpočty

Aktivita enzymu NEP se stanoví za přítomnosti a za nepřítomnosti sloučeniny a vyjádří se pomocí procent.

FU = jednotky fluorescence

Kontrolní aktivita (%) (obrat enzymu) =

$$= \frac{\text{Střední hodnota FU kontroly} - \text{Střední hodnota FU slepých pokusů}}{\text{Střední hodnota FU s úplným produktem} - \text{Střední hodnota FU slepých pokusů}} \times 100$$

Aktivita s inhibitorem (%) =

$$= \frac{\text{Střední hodnota FU sloučeniny} - \text{Střední hodnota FU slepých pokusů}}{\text{Střední hodnota FU úplného produktu FU} - \text{Střední hodnota slepých pokusů}} \times 100$$

Aktivita vyjádřená jako % kontroly =

$$= \frac{\text{Aktivita s inhibitorem (\%)}}{\text{Kontrolní aktivita (\%)}} \times 100$$

Proloží se S-křivka závislosti odpovědi na dávce (% aktivity (% kontroly) versus koncentrace sloučeniny) a za použití balíčku LabStats pro extrapolaci křivek v Excelu se vypočítají hodnoty IC₅₀.

Stanovení ACE

Příprava a stanovení rozpustného enzymu konvertujícího angiotensin (ACE) z kůry ledvin vepře a člověka

Rozpustný NEP byl získán z kůry ledviv a jeho aktivita byla stanovena měřením rychlosti štěpení ACE substrátu, Abz-Gly-p-nitro-Phe-Pro-OH, za vzniku jeho fluorescenčního produktu, Abz-Gly.

1. Látky

Veškerá voda byla dvojitě deionizována.

1.1. Lidské ledviny IAM (Pensylvania, USA) nebo

UK Human Tissue Bank (UK HTB)

1.2. ACE z ledvin vepře Sigma (A2580)

1.3. Homogenizační pufr 1

100mM mannitol a 20mM Tris o pH 7,1

2,42 g Tris (Fisher T/P630/60) se zředí 1 litrem vody a pH zředěné směsi se za použití 6M kyseliny chlorovodíkové při teplotě místnosti nastaví na 7,1. K této směsi se přidá 18,22 g mannitolu (Sigma M-9546).

1.4. Homogenizační pufr 2

100mM mannitol a 20mM Tris o pH 7,1 a 10mM hexahydrát chloridu hořečnatého (Fisher M0600/53)

K 500 ml homogenizačního pufru 1 (1.4) se přidá chlorid hořečnatý (1,017 g).

1.4. Tris pufr (ACE pufr)

50mM Tris pH 7,4 a 300mM chlorid sodný o pH 7,4

50 ml 50mM Tris pH 7,4 (Sigma 2663) a 17,52 g chloridu sodného (Fisher S/3160/60) se doplní vodou do objemu 1000 ml.

1.6. Substrát (Abz-D-Gly-p-nitro-Phe-Pro-OH) (Bachem M-1100)

ACE substrát se skladuje ve formě prášku při -20°C.

2mM zásobní suspenze se připraví šetrným resuspendováním substrátu v ACE pufru, přičemž by se nemělo používat ani vířivého pohybu ani sonikace. 400 μ l alikvoty 2mM zásobní suspenze se skladují až 1 měsíc při -20°C.

1.7. Úplný produkt

Na destičku se zařadí vzorky odpovídající 100% konverzi substrátu na produkt, aby bylo možno stanovit % obratu substrátu (viz výpočty). Úplný produkt se vytvoří inkubací 1 ml 2mM substrátu s 20 μ l zásobní suspenze enzymu po dobu 24 hodin při 37°C.

1.8. Ukončovací roztok

0,5M EDTA (Promega CAS (6081/92/6)) se zředí v poměru 1 : 250 ACE pufrem, čímž se získá 2mM roztok.

1.9. Dimethylsulfoxid (DMSO)

1.10. Chlorid hořečnatý ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Fisher M0600/53)

1.11. Černé destičky s 96 jamkami s kulatým dnem (Costar 3915 nebo Packard)

1.12. TopSeal A (Packard 6005185)

1.13. Centrifugační zkumavky

2. Speciální vybavení

2.1. Centrifuga Sorvall RC-5B (rotor SS34 GSA, předchla-zená na 4°C).

2.2. Miniprimer mixér Braun

2.3. Centrifuga Beckman CS-6R

2.4. Fluorstar Galaxy

2.5. Třepací inkubátor Wesbart 1589

3. Postupy

3.1. Tkáňové preparáty

3.2. Lidský ACE se získá z kůry ledvin za použití modifikovaného způsobu popsaného v Booth, A. G. a Kenny, A. J. (1974) Biochem. J. 142, 575 až 581.

3.3. Zmrazené ledviny se nechají roztát při teplotě místnosti a od medully se oddělí kůra.

3.4. Kůra se jemně naseká a homogenizuje přibližně v 10 objemech homogenizačního pufru 1 (1.4) za použití mixéru Miniprimer Braun (2.2)

3.5. K homogenátu se přidá chlorid hořečnatý (1.11) (20,3 mg/g tkáně) a vzniklá směs se 15 minut míchá v lázni z ledové vody.

3.6. Homogenát se v centrifuze Beckman (2.3) centrifuguje při 1500xg (3820 min^{-1}) po dobu 12 minut. Supernatant se přemístí do čerstvé centrifugační zkumavky a peleta se zahodí.

3.7. Supernatant se v centrifuze Sorvall (2.1) centrifuguje při 15 000xg ($12\,100\text{ min}^{-1}$) po dobu 12 minut a supernatant se zahodí.

3.8. Světle růžová vrstva na vrchu výsledné pelety se oddělí a resuspenduje v homogenizačním pufru 2 (1.5) (5 ml pufru na 1 g tkáně).

3.9. Suspenze se v centrifuze Beckman (2.3) centrifuguje při 2200xg (4630 min^{-1}) po dobu 12 minut a peleta se zahodí.

3.10. Supernatant se v centrifuze Sorvall (2.1) centrifuguje při 15 000xg ($12\,100\text{ min}^{-1}$) po dobu 12 minut a supernatant se zahodí.

3.11. Výsledná peleta se resuspenduje v homogenizačním pufru 2 (0,5 ml pufru na 1 g tkáně). Homogenní suspenze se získá za použití mixéru Braun Miniprimer (2.2), v 100 μ l alikvotech zmrazí a je možno ji zkoušet na aktivitu ACE.

4.0. Stanovení aktivity ACE

Aktivita se stanoví za použití alikvotů ACE připravených výše popsaným způsobem měří jako schopnost štěpit ACE specifický peptidový substrát.

Vepřový ACE (1.2) se rozmrazí a resuspenduje v pufru ACE (1.6) při 0,004U/ μ l, a vzniklá suspenze se zmrazí ve formě 50 μ l alikvotů.

4.1. Připraví se 4% roztok DMSO v ACE pufru (4 ml DMSO v 96 ml ACE pufru).

4.2. Substrát (1.7), úplný produkt (1.8), enzym (1.1, 1.2, 1.3) se nechají roztát na ledu.

4.3. Do každé jamky se přidá 50 μ l 4% roztoku DMSO v pufru ACE.

4.4. 2mM zásobní substrát se zředí 1 : 100, čímž se získá 20 μ M roztok. Do každé jamky se přidá 100 μ l 20 μ M substrátu (konečná koncentrace 10 μ M).

4.5. Reakce se zahájí přidavkem 50 μ l od každé koncentrace ze sériového ředění enzymu (obvykle se používá ředění 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600 a 1:3200). Do prázdných jamek se přidá 50 μ l ACE pufru.

4.6. 2mM úplný produkt se zředí v poměru 1:200, čímž se získá 10 μ M roztok. 200 μ l 10 μ M produktu se přidá do prvních čtyřech jamek nové destičky.

4.7. Destičky se inkubují v třepacím inkubátoru po dobu 60 minut při 37°C.

4.8. Reakce se zastaví přidavkem 100 μ l 2mM EDTA v pufru ACE. Výsledná směs se inkubuje v třepacím inkubátoru 20 minut při 37°C a snímá na zařízení Fluostar (ex320/em420).

5. Stanovení inhibice ACE

5.1. Zásobní substrát, úplný produkt a enzym se nechají roztát na ledu.

5.2. Zásobní roztoky sloučenin se připraví za použití 100% dimethylsulfoxidu a zředí v poměru 1 : 25 puftrem ACE, čímž se získají 4% dimethylsulfoxidové roztoky. Všechna další ředění se provádějí za použití 4% dimethylsulfoxidového roztoku v pufru ACE (4 ml DMSO v 96 ml pufru ACE).

5.3. 50 μ l sloučeniny se dvojmo navzorkuje do 96jamkových destiček, do kontrolních jamek a jamek pro slepý pokus se navzorkuje 50 μ l 4% roztoku DMSO v pufru ACE.

5.4. Stupně 5.2 a 5.3 je možno provádět ručně nebo za použití vícesondových robotů Packard.

5.5. 2mM zásobní substrát se zředí v poměru 1 : 100 za použití pufru ACE, čímž se získá 20 μ M roztok (10 μ M konečná zkoušková koncentrace) (110 μ l 2mM substrátu přidaného k 10,89 ml pufru postačuje pro 1 destičku).

5.6. Zásobní enzym se zředí puftrem ACE (stanoveno z kontrol aktivity) (4.0).

5.7. 2mM zásobní úplný produkt se zředí v poměru 1 : 200 puftrem ACE, čímž se získá 10 μ M roztok. Do prvních čtyřech jamek separátní destičky se navzorkuje 200 μ l.

5.8. 0,5mM zásobní roztok EDTA se zředí 1 : 250, čímž se získá 2mM zásobní roztok (44 μ l EDTA v 10,96 ml pufru ACE).

5.9. Do každé jamky 96jamkové destičky se přidají následující látky:

Tabulka látek, které se navzorkují do 96jamkové destičky

	Sloučenina/ DMSO	Tris pufr	Substrát	Enzym ACE	Úplný produkt
vzorky	2 μ l slouče- niny	50 μ l	100 μ l	50 μ l	žádný
kontrola	2 μ l DMSO	50 μ l	100 μ l	50 μ l	žádný
slepé					
pokusy	2 μ l DMSO	100 μ l	100 μ l	žádný	žádný
s úplným produktem	2 μ l DMSO	žádný	žádný	žádný	200 μ l

5.10. 50 μ l každého roztoku sloučenin o nejvyšší koncentraci použité při zkoušce se dvojmo navzorkuje do stejných 96-jamkových destiček jako úplný produkt (5.7). Za účelem stanovení fluorescence se přidá 150 μ l pufru ACE.

5.11. Reakce se zahájí přidavkem enzymu ACE a pokračuje jednogodinovou inkubací při 37°C v třepacím inkubátoru.

5.12. Reakce se ukončí 100 μ l 2mM EDTA. Směs se inkubuje 20 minut při 37°C v třepacím inkubátoru. Odečítání se provádí za použití zařízení BMG Fluostar Galaxy (ex320/em420).

6. Výpočty

Aktivita enzymu ACE se stanoví za přítomnosti a za nepřítomnosti sloučeniny a vyjádří se pomocí procent.

FU = jednotky fluorescence

(i) Kontrolní aktivita (%) (obrat enzymu) =

$$= \frac{\begin{array}{l} \text{Střední hodnota} \\ \text{FU kontroly} \end{array} - \begin{array}{l} \text{Střední hodnota} \\ \text{FU slepých pokusů} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{Střední hodnota} \\ \text{FU s úplným} \\ \text{produktem} \end{array} - \begin{array}{l} \text{Střední hodnota} \\ \text{FU slepých pokusů} \end{array}} \times 100$$

(ii) Aktivita s inhibitorem (%) =

$$= \frac{\begin{array}{l} \text{Střední hodnota} \\ \text{FU sloučeniny} \end{array} - \begin{array}{l} \text{Střední hodnota} \\ \text{FU slepých pokusů} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{Střední hodnota} \\ \text{FU úplného} \\ \text{produktu FU} \end{array} - \begin{array}{l} \text{Střední hodnota} \\ \text{slepých pokusů} \end{array}} \times 100$$

(iii) Aktivita vyjádřená jako % kontroly =

$$= \frac{\text{Aktivita s inhibitorem (\%)}}{\text{Kontrolní aktivita (\%)}} \times 100$$

nebo

$$= \frac{\begin{array}{l} \text{Střední hodnota} \\ \text{FU sloučeniny} \end{array} - \begin{array}{l} \text{Střední hodnota} \\ \text{FU slepých pokusů} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{Střední hodnota} \\ \text{FU kontroly} \end{array} - \begin{array}{l} \text{Střední hodnota} \\ \text{slepých pokusů} \end{array}} \times 100$$

(iv) % Inhibice = 100 - % kontrolní

(v) Pro fluorescentní sloučeniny se střední hodnota FU slepých pokusů obsahujících sloučeninu (5.10) odečte ze střední hodnot FU sloučeniny použitých pro výpočet % aktivity.

Proloží se S-křivka závislosti odpovědi na dávce (% aktivity (% kontroly) versus koncentrace sloučeniny) a za použití balíčku LabStats pro extrapolaci křivek v Excelu se vypočítají hodnoty IC_{50} .

Konkrétní sloučeniny vykázaly hodnotu IC_{50} proti NEP méně než 5000nM.

Kromě toho řada ze zkoušených sloučenin vykázala 300násobnou selektivitu vůči NEP oproti ACE.

Zvířecí model sexuálního vzrušení

Vyvinuli jsme zvířecí model fyziologie odpovědi sexuálního vzrušení, k níž dochází při sexuálním vzrušení u ženy. Tento model přímo reflektuje klinické údaje získané u dobrovolníků. Tento model využívá laserových Dopplerovských technologií pro zaznamenání malých změn vaginálního a klitoriálního prokrvení indukované stimulací pelvického nervu nebo vasoaktivními neurotransmitery. Během sexuálního vzrušení dochází ke zvýšenému prokrvení genitální, které je vyvoláno zvýšenou inervací z pelvického nervu. Toto zvýšení prokrvení genitálií vede ke zvýšení lubrikace a citlivosti genitálií, které je spojeno se sexuálním vzrušením. Hlavní příčinou FSAD je snížené prokrvení genitálií, které se projevuje ve sníženém překrvení vagíny, labií a klitoris. FSAD u žen je možno léčit tak, že se obnoví normální odpověď sexuálního vzrušení. Toho lze dosáhnout zvýšením prokrvení genitálií.

Zvýšení prokrvení vagíny a klitoris stimulací pelvického nervu, pozorované u zvířecího modelu, představuje endogenní vaskulární účinky pozorované během sexuálního vzrušení ženy. Tohoto modelu je tedy možno použít 1) k identifikaci mechanis-

mu, který se podílí na regulaci prokrvení vagíny a klitoris a
2) k validaci nových přístupů ke zvýšení prokrvení genitálií.

Při modelové zkoušce na zvířatech, prováděné podle následujícího protokolu, byla za účelem demonstrace přírůstku vzestupu prokrvení genitálií u králíka vyvolaného stimulací pelvického nervu podávána sloučenina z příkladu 29.

Byly zkoušeny dva způsoby podávání: a) intravenosní a b) topické. Obě zkoušky byly prováděny na anestetizovaných králících, jako modelu, za použití následujícího protokolu.

Postupy

Anestetický protokol

Samice novozélandského králíka (asi 2,5 kg) se premedikují kombinací medetomidinu (Domitor^(R), 0,5 ml/kg i.m.), a ketaminu (Vetalar^(R), 0,25 ml/kg i.m), přičemž se udržuje přívod kyslíku za použití obličejové masky. Králíci se tracheotomizují za použití endotracheální trubice bez manžety Protex^(R) 3 ID., napojí na ventilátor a udržují při ventilační frekvenci 30 až 40 dechů za minutu s průměrným respiračním objemem 18 až 20 ml a maximálním tlaku 981 Pa. Anestezie se poté převede na Isoflurane a ventiluje se provádí kyslíkem (2 l/min). Pravá marginální ušní vena se kanyluje za použití katétru 23G nebo 24G a perfunduje se laktátovaným Ringerovým roztokem (0,5 ml/min). Králík se během invazivní chirurgie udržuje na 3% Isofluranu, který se při udržovací anestezii sníží na 2%.

Stimulace pelvického nervu

Do abdominální dutiny se vede řez střední čarou břicha. Řez je asi 5 cm těsně nad stydkou kostí. Tuk a svaly se tupě

oddělí, čímž se odhalí hypogastrický nerv, který sbíhá do tělní dutiny. Je nezbytné udržet boční stěnu pubis uzavřenou, aby nedošlo k porušení femorální vény a artérie, které leží pod stydkou kostí. Ischiatický a pelvický nerv jsou uloženy hlouběji a objeví se po další disekci na dorsální straně králíka. Po identifikaci ischiatického nervu lze snadno lokalizovat pelvický nerv. Pojem "pelvický nerv" je používán volně; anatomické knihy při identifikaci těchto nervů v dostatečných detailech selhávají. Stimulace tohoto nervu však vyvolává zvýšení vaginálního a klitoriálního prokrvení, a inervaci pánevní oblasti. Pelvický nerv se zbaví obklopujících tkání a kolem něho se umístí bipolární stimulační elektroda Harvard. Nerv se mírně nadzvedne, aby se vyvolalo určité napětí, načež se bezpečně upevní v poloze. Okolo nervu a elektrody se nanese asi 1 ml lehkého parafinového oleje. Ten funguje jako ochranný lubrikant nervu a zabraňuje kontaminaci elektrody krví. Elektroda se spojí se stimulátorem Grass S88. Pelvický nerv se stimuluje při následujících parametrech: 5 V, šířka impulzu 0,5 ms, trvání stimulu 10 sekund a frekvence v rozmezí 2 až 16 Hz. Při stimulaci nervu každých 15 až 20 minut se dosáhne reprodukovatelných odpovědí.

Na začátku každé zkoušky se stanoví křivka závislosti odpovědi na frekvenci za účelem stanovení optimální frekvence, které se používá jako sub-maximální odpovědi, obvykle 4 Hz. Sloučenina (sloučeniny), která se má zkoušet, se podá infuzí do femorální vény za použití infuzní pumpy Harvard 22 umožňující pokračování 15minutového stimulačního cyklu.

Umístění laserové Dopplerovské sondy

Provede se řez ventrální střední čarou na kaudálním konci pubis, aby se exponovala pubická oblast. Pojivové tkáně se odstraní, čímž se exponuje obal klitoris. Tím se zajistí, že

stěna bude zbavena malých cév. Vnější stěna vagíny se také exponuje a zbaví veškeré pojivové tkáně. Jedna laserová Dopplerovská průtoková sonda se vloží 3 cm do vagíny tak, že držadlo sondy zůstává stále viditelné. Druhá sonda se umístí tak, aby ležela právě nad vnější stěnou klitoris. Polohy těchto sond se upravují, dokud se nezíská signál. Druhá sonda se umístí těsně nad povrch cévy vnější vaginální stěny. Obě sondy se v polohách upevní svorkami.

Vaginální a klitoriální prokrvení se zaznamenává buď ve formě čísel přímo z průtokoměru za použití softwarového systému pro sběr dat Po-ne-mah (Ponemah Physiology Platform, Gould Instrument Systems Inc.) nebo nepřímo ze stopy pásového záznamníku Gould. Na začátku zkoušky se provede kalibrace (0 až 125 ml/min/100 g tkáně).

Podání inhibitorů

a) Intravenosní podávání

Kanylace cév

Oblast levého třísla králíka se oholí a podél stehna se provede vertiální řez o délce asi 5 cm. Exponuje se femorální vena a artérie, které se izolují a kanylují PVC katétrem (17G) pro infuzi léčiv a sloučenin. U femorální artérie se kanylace opakuje, přičemž se katétr zavede do hloubky asi 10 cm, aby se zajistilo, že katétr dosáhne abdominální aorty. Arteriální katétr se spojí s systémem Gould, aby bylo možno zaznamenávat krevní tlak. Arteriálním katétrem se také odebírají vzorky pro analýzu krevních plynů. Měří se systolický a diastolický tlak a za použití vzorce $(\text{diastolický} \times 2 + \text{systolický}) / 3$ se vypočítá střední arteriální tlak. Srdeční frekvence se měří pomocí pulzního oxymetru a softwarového systému pro sběr dat

Po-ne-mah (Ponemah Physiology Platform, Gould Instrument Systems Inc.).

Titulní sloučenina z příkladu 29 se připraví jako roztok v solném roztoku nebo roztoku 5% glukosy (200 μ l 50% glukosy v 1,8 ml vody pro injekce). Inhibitor a vehikulum jako kontrola se podávají infuzí použitím pumpy Harvard 22 rychlostí 500 μ l/min pomocí trojcestného napojení do femorální vény. Po infuzi se katétr propláchne heparinizovaným solným roztokem (Hepsaline) tak, aby v katéttru nezůstal žádný inhibitor NEP.

b) Topické podávání inhibitorů

Topická formulace se připraví tak, že se sloučenina z příkladu 29 smísí při 90% nasycení se směsí 50 % propylen-glykolu a 50 % vody. Viskozita směsi se zvýší karboxymethyl-celulosou (CMC), čímž se dosáhne konečné koncentrace asi 2,5 mg/ml. Podání 0,2 ml poskytne maximální dávku 0,5 mg.

Tato formulace se aplikuje topicky na vnitřní stěnu vagíny za použití aplikátoru získaného vlastním vývojem. Při tom se v zásadě postupuje takto: odříznou se trubičky (ID 3 mm, OD 4 mm) o délce 10 cm, které se připojí k 1ml injekčním stříkačkám. Stříkačky se naplní kontrolním gelem (který neobsahuje žádnou účinnou přísadu) nebo výše popsanou formulací. Trubička se vloží 2 cm do vagíny a mírným tlakem, aby se nepoškodila Dopplera sonda, se vytlačí 0,2 ml gelu. Zavedení gelu nevyvolává žádné velké roztažení vagíny, takže během období stimulace i období bez stimulace nedochází k většímu úniku gelu z vagíny.

Výsledky a diskuse

Při našich studiích byl vyvinut robustní reprodukovatelný model fyziologie sexuálního vzrušení. Za použití tohoto modelového organismu, anestetizovaného králíka, jsme schopni měřit malé změny prokrvení genitální za použití laserové Dopplerovské technologie. Pro stimulaci neuronálních efektů sexuálního vzrušení se používá stimulace pelvického nervu. FSAD souvisí se sníženým prokrvením genitálií a může jím být vyvolána.

Naše výsledky ukazují, že titulní sloučenina z příkladu 29 v klinicky relevantních dávkách významně posiluje zvýšení prokrvení genitálií vyvolané stimulací pelvického nervu.

Na obr. 1 je znázorněn vliv intravenosního podání titulní sloučeniny z příkladu 29 na prokrvení vagíny a klitoris. Intravenosní podání podporuje zvýšení vaginálního prokrvení indukované stimulací pelvického nervu při modelové zkoušce sexuálního vzrušení na anestetizovaných králících. Opakovaná stimulace pelvického nervu v 15minutových intervalech indukuje reprodukovatelné zvýšení vaginálního prokrvení (šrafovaný sloupec). Intravenosní podání sloučeniny z příkladu 29 (šedý sloupec) zvedá pík zvýšení vaginálního a klitoriálního prokrvení indukovaného submaximálními stimulačními frekvencemi (například 4Hz) ve srovnání se zvýšeními pozorovanými během srovnávacích kontrolních stimulací nebo za použití kontrolního vehikula (šrafovaný sloupec). Byla pozorována následující simultánní zvýšení - iv. infuze bolu 1,0 mg/kg indukovala 131% zvýšení klitoriálního prokrvení a 92% zvýšení vaginálního prokrvení (n = 3). Data jsou vyjádřena jako střední hodnota ± SEM. Všechny změny byly monitorovány za použití laserové Dopplerovské technologie.

Na obr. 2 je znázorněn účinek na vaginální prokrvení v závislosti na čase po topickém podání titulní sloučeniny z příkladu 29. Nebyly pozorovatelné žádné změny na nestimulované/bazální prokrvení vagíny. Po úvodním zavedení trubičky nebo aplikaci 0,2 ml gelu obsahujícího pouze vehikulum nebyly taktéž pozorovány žádné změny vzhledem k nestimulovanému/bazálnímu prokrvení vagíny.

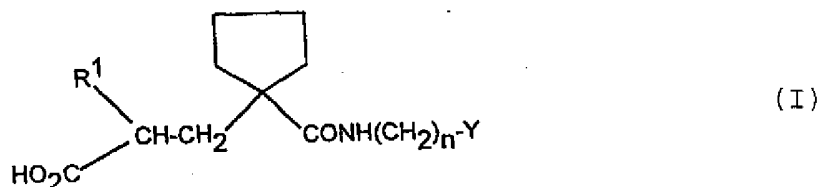
Opakovaná stimulace pelvického nervu při submaximální frekvenci v intervalech 15 minut indukuje reprodukovatelná zvýšení prokrvení vagíny (plné kroužky). Intravaginální aplikace titulního produktu z příkladu 29 (0,2 mg/ml) zvyšuje pík nárůstu prokrvení vagíny (prázdné kroužky) ve srovnání s kontrolními zvýšeními. Titulní produkt z příkladu 29 neovlivňoval bazální (nestimulované) prokrvení (prázdné čtverečky) ve srovnání s kontrolním prokrvením (plné čtverečky). Všechny změny byly monitorovány Dopplerovskou technologií. Data jsou vyjádřena jako střední hodnota $\pm$ SEM ($n = 4$), $p < 0,001$ (Studentův t-test).

Při této zkoušce se ukázalo, že titulní produkt z příkladu 29 při topickém podání významně posiluje zvýšení vaginálního prokrvení vyvolané stimulací pelvického nervu. Nárůst zvýšení je srovnatelný se zvýšeními pozorovanými po intravenosním podání sloučeniny. Je zajímavé, že k nárůstu zvýšení došlo při koncentraci sloučeniny z příkladu 29 v plasmě, při níž by je potenciace vaginálního prokrvení neočekávaná.

Při této zkoušce se tedy ukázalo, že intravaginální, topické podání sloučeniny podle vynálezu vede k nárůstu zvýšení prokrvení vagíny vyvolaného stimulací pelvického nervu.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Použití sloučenin obecného vzorce I



kde

R^1 představuje C_{1-6} alkylskupinu, která je popřípadě substituována jedním nebo více substituenty, které mohou být stejné nebo různé, zvolenými ze souboru sestávajícího z halogenu, hydroxyskupiny, C_{1-6} alkoxyskupiny, C_{2-6} hydroxyalkoxy, C_{1-6} alkoxy(C_{1-6} alkoxy)skupiny, C_{3-7} cykloalkylskupiny, C_{3-7} cykloalkenylskupiny, arylskupiny, aryloxyskupiny, (C_{1-4} alkoxy)aryloxyskupiny, heterocyklylskupiny, heterocyklyloxyskupiny, skupiny $-NR^2R^3$, $-NR^4COR^5$, $-NR^4SO_2R^5$, $-CONR^2R^3$, $-S(O)_pR^6$, $-COR^7$ a $-CO_2(C_{1-4}alkyl)$; nebo R^1 představuje C_{3-7} cykloalkylskupinu, arylskupinu nebo heterocyklylskupinu, z nichž každá je popřípadě substituována jedním nebo více substituenty zvolenými z uvedeného souboru, přičemž tyto substituenty mohou být stejné nebo různé, a tento soubor dále zahrnuje C_{1-6} alkylskupinu; nebo R^1 představuje C_{1-6} alkoxyskupinu, $-NR^2R^3$ nebo $-NR^4SO_2R^5$;

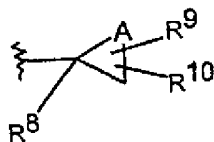
kde

R^2 a R^3 představuje každý nezávisle vodík, C_{1-4} alkylskupinu, C_{3-7} cykloalkylskupinu (popřípadě substituovanou hydroxyskupinou nebo C_{1-4} alkoxyskupinou), arylskupinu, ($C_{1-4}alkyl$)arylskupinu, C_{1-6} alkoxyarylskupinu nebo heterocyklylskupinu; nebo R^2 a R^3 dohromady s atomem uhlíku, k němuž jsou připojeny, tvoří pyrrolidinyl-, piperidino-, morfolino-, piperazinyl- nebo $N-(C_{1-4}alkyl)$ piperazinylskupinu;

- R^4 představuje vodík nebo C_{1-4} alkylskupinu;
- R^5 představuje C_{1-4} alkylskupinu, CF_3 , arylskupinu, $(C_{1-4}$ alkyl)arylskupinu, $(C_{1-4}$ alkoxy)arylskupinu, heterocyklylskupinu, C_{1-4} alkoxyskupinu nebo skupinu $-NR^2R^3$, kde R^2 a R^3 mají výše uvedený význam;
- R^6 představuje C_{1-4} alkylskupinu, arylskupinu, heterocyklylskupinu nebo skupinu NR^2R^3 , kde R^2 a R^3 mají výše uvedený význam; a
- R^7 představuje C_{1-4} alkylskupinu, C_{3-7} cykloalkylskupinu, aryl nebo heterocyklylskupinu;
- p představuje číslo 0, 1, 2 nebo 3;
- n představuje číslo 0, 1 nebo 2;

spojovací skupina $-(CH_2)_n-$ je popřípadě substituována C_{1-4} alkylskupinou, C_{1-4} alkylskupinou substitutovanou jedním nebo více atomy fluoru nebo fenylskupinou, C_{1-4} alkoxy-skupinou, hydroxyskupinou, hydroxy(C_{1-3} alkyl)skupinou, C_{3-7} cykloalkylskupinou, arylskupinou nebo heterocyklylskupinou;

Y představuje skupinu vzorce



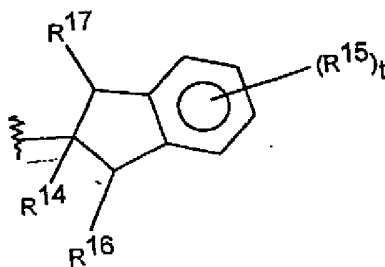
kde

- A představuje skupinu $-(CH_2)_q-$, kde q představuje číslo 1, 2, 3 nebo 4 tak, aby doplňovala 3- až 7-členný karbocyk-

lický kruh, který může být nasycený nebo nenasycený; R^8 představuje vodík, C_{1-6} alkylskupinu, $-CH_2OH$, fenylskupinu, fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu nebo $CONR^{11}R^{12}$; každý z R^9 a R^{10} představuje nezávisle vodík, skupinu $-CH_2OH$, $-C(O)NR^{11}R^{12}$, C_{1-6} alkylskupinu, fenylskupinu (popřípadě substituovanou C_{1-4} alkylskupinou, halogenem nebo C_{1-4} alkoxyskupinou), nebo fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu (jejíž fenylová část je popřípadě substituována C_{1-4} alkylskupinou, halogenem nebo C_{1-4} alkoxyskupinou), nebo R^9 a R^{10} dohromady tvoří dioxolan; R^{11} a R^{12} , které mohou být stejné nebo různé představují vodík, C_{1-4} alkylskupinu, skupinu R^{13} nebo $S(O)_rR^{13}$, kde r představuje číslo 0, 1 nebo 2, a R^{13} představuje fenylskupinu nebo fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu, přičemž fenyl je popřípadě substituován C_{1-4} alkylskupinou; nebo

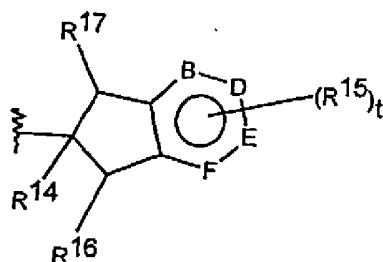
Y představuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$, kde R^{11} a R^{12} mají výše uvedený význam s tím rozdílem, že R^{11} a R^{12} oba současně nepředstavují vodík; nebo

Y představuje skupinu vzorce



kde R^{14} představuje vodík, skupinu CH_2OH nebo $C(O)NR^{11}R^{12}$ kde R^{11} a R^{12} mají výše uvedený význam; R^{15} , pokud je přítomen, může mít stejný význam jako jiný R^{15} nebo může mít rozdílný význam než jiný R^{15} a je zvolen z hydroxyskupiny, C_{1-4} alkylskupiny, C_{1-4} alkoxyskupiny, halogenu a CF_3 ; t představuje číslo 0, 1, 2, 3 nebo 4; a R^{16} a R^{17} představují nezávisle vodík nebo C_{1-4} alkyl; nebo

Y představuje skupinu vzorce



kde jeden nebo dva z B, D, E a F představují dusík a zbývající představují uhlík; a R¹⁴ až R¹⁷ a t mají výše uvedený význam; nebo

Y představuje popřípadě substituovaný 5- až 7-členný heterocyklický kruh, který může být nasycený, nenasycený nebo aromatický a obsahuje dusík, kyslík nebo síru a popřípadě jeden, dva nebo tři další kruhové atomy dusíku a je popřípadě anelovaný s benzoskupinou a popřípadě substituovaný:

C₁₋₆alkoxyskupinou; hydroxyskupinou; oxoskupinou; aminoskupinou; mono- nebo di(C₁₋₄alkyl)aminoskupinou; C₁₋₄alkanoylaminoskupinou; nebo

C₁₋₆alkylskupinou, která je popřípadě substituována jedním nebo více substituenty, které mohou být stejné nebo různé, zvolenými ze souboru sestávajícího z C₁₋₆alkoxyskupiny, C₁₋₆halogenalkoxyskupiny, C₁₋₆alkylthioskupiny, halogenu, C₃₋₇cykloalkylskupiny, heterocyklylskupiny a fenylskupiny; nebo

C₃₋₇cykloalkylskupinou, arylskupinou nebo heterocyklylskupinou, z nichž každá je popřípadě substituována jedním nebo více substituenty, které mohou být stejné nebo různé, zvolenými ze souboru sestávajícího z C₁₋₆alkylskupiny, C₁₋₆alkoxyskupiny, C₁₋₆haloalkoxyskupiny, C₁₋₆alkyl-

thioskupiny, halogenu, C_{3-7} cykloalkylskupiny, heterocyklylskupiny a fenylskupiny;

příčemž v případě oxosubstituce na heterocyklickém kruhu tento kruh obsahuje jeden nebo dva atomy dusíku a oxosubstituce je v sousední poloze vzhledem ke kruhovému atomu dusíku; nebo

Y představuje skupinu $-NR^{18}S(O)_uR^{19}$, kde R^{18} představuje vodík nebo C_{1-4} alkylskupinu; R^{19} představuje arylskupinu, aryl C_{1-4} alkylskupinu nebo heterocyklylskupinu (přednostně pyridylskupinu); a u představuje číslo 0, 1, 2 nebo 3;

a jejich farmaceuticky vhodných solí a solvátů, polymorfů a proléčiv těchto entit, při výrobě léčiva pro léčení ženské sexuální dysfunkce.

2. Sloučeniny obecného vzorce I, kde R^1 , n a Y mají význam uvedený v nároku 1, přičemž však Y nepředstavuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$ a když R^1 představuje propylskupinu nebo fenylethylskupinu, potom R^{14} nepředstavuje skupinu $-CH_2OH$, jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

3. Sloučeniny obecného vzorce I, kde R^1 , n a Y mají výše uvedený význam, přičemž však Y nepředstavuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$ a R^{14} nepředstavuje vodík nebo skupinu $-CH_2OH$, jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

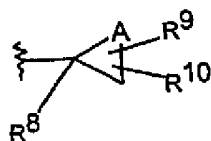
4. Sloučeniny podle nároku 2 nebo 3, kde R^1 představuje C_{1-6} alkylskupinu, C_{1-6} alkoxyskupinu, C_{1-6} alkoxy(C_{1-3})alkylskupinu, C_{1-6} alkoxy C_{1-6} alkoxy C_{1-3} alkylskupinu nebo C_{1-6} alkylskupinu

substituovanou arylskupinou; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

5. Sloučeniny podle nároku 4, kde R^1 představuje C_{1-6} alkylskupinu, C_{1-6} alkoxyskupinu, C_{1-6} alkoxy(C_{1-3})alkylskupinu nebo C_{1-6} alkoxy C_{1-6} alkoxy C_{1-3} alkylskupinu; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

6. Sloučeniny podle nároku 5, kde R^1 představuje C_{1-4} alkylskupinu nebo C_{1-6} alkoxy(C_{1-3})alkylskupinu; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

7. Sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 2 až 6, kde když Y představuje skupinu



a karbocyklický kruh je zcela nasycený, potom přednostně jeden z R^9 a R^{10} představuje skupinu $-CH_2OH$; $-C(O)NR^{11}R^{12}$; C_{1-6} alkylskupinu; fenylskupinu popřípadě substituovanou C_{1-4} alkylskupinou; nebo fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu, jejíž fenylová část je popřípadě substituována C_{1-4} alkylskupinou; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

8. Sloučeniny podle nároku 7, kde je karbocyklický kruh 5-, 6- nebo 7-členný, kde jeden z R^9 a R^{10} představuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$, a druhý představuje C_{1-6} alkylskupinu; fenylskupinu popřípadě substituovanou C_{1-4} alkylskupinou; nebo fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu, jejíž fenylová část je popřípadě substituována C_{1-4} alkylskupinou.

9. Sloučeniny podle nároku 7 nebo 8, kde R^9 a R^{10} jsou připojeny k sousedním kruhovým atomům uhlíku; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

10. Sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 7 až 9, kde R^8 představuje skupinu CH_2OH ; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

11. Sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 2 až 6, kde když Y představuje skupinu $-NR^{18}S(O)_uR^{19}$, R^{18} přednostně představuje vodík; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

12. Sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 2 až 6 nebo 11, kde R^{19} představuje benzylskupinu nebo fenylskupinu; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

13. Sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 2 až 6 a 11 a 12, kde u představuje číslo 2; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

14. Sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 2 až 6, kde Y představuje popřípadě substituovaný 5- až 7-členný heterocyklický kruh; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

15. Sloučeniny podle nároku 14, kde 5- až 7-členným heterocyklickým kruhem je popřípadě substituovaný aromatický kruh; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

16. Sloučeniny podle nároku 15, kde aromatickým kruhem je pyridyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, pyridazinyl, pyrazolyl, triazolyl, tetrazolyl, oxadiazolyl, thiazolyl, thiadiazolyl, oxazolyl, isoxazolyl, indolyl, isoindolyl, chinolyl, isochinolyl, pyridonyl, chinoxalinylny nebo chinazolinylny, z nichž každý je popřípadě substituován způsobem definovaným v nároku 1; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

17. Sloučeniny podle nároku 16, kde aromatickým kruhem je oxadiazol, pyridon nebo thiadiazol, z nichž každý je popřípadě substituován způsobem definovaným v nároku 1; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

18. Sloučeniny podle nároku 17, kde aromatickým kruhem je 1,2,5-oxadiazol, 1,3,4-oxadiazol, 2-pyridon nebo 1,3,4-thiadiazol, z nichž každý je popřípadě substituován způsobem definovaným v nároku 1; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

19. Sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 14 až 18, kde 5- až 7-členný heterocyklický kruh je substituován jedním nebo více substituenty zvolenými z C_{1-6} alkylskupiny, fenylskupiny a fenyl C_{1-4} alkylskupiny; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

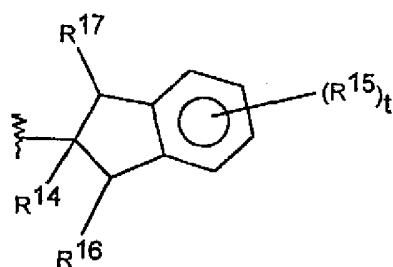
20. Sloučeniny podle nároku 19, kde 5- až 7-členný heterocyklický kruh je substituován C_{1-4} alkylskupinou nebo benzylskupinou; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

21. Sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 17 až 20, kde Y představuje pyridon, přičemž tento pyridon je N-substituo-

vaný pyridon; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

22. Sloučeniny podle nároku 14, kde Y představuje laktam vázaný na dusíku; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

23. Sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 2 až 6, kde Y představuje skupinu vzorce

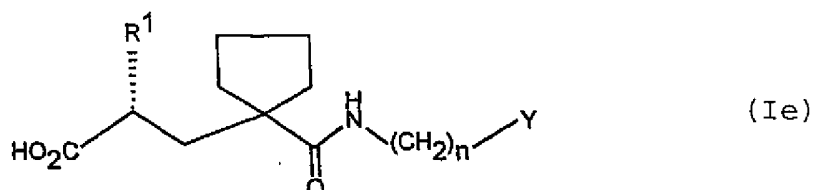


kde R^{14} představuje skupinu CH_2OH nebo $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

24. Sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 2 až 6 a 23, kde R^{16} a R^{17} představují vodík; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

25. Sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 2 až 6, 23 a 24, kde parametr t představuje číslo 0; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

26. Sloučeniny obecného vzorce Ie



kde R^1 , Y a n mají význam uvedený ve kterémkoliv z nároků 2 až 25; jejich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a proléčiva těchto entit.

27. Sloučeniny zvolené ze souboru sestávajícího z

2-[(1-{[(1-benzyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridinyl)amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]-4-methoxybutanové kyseliny (příklad 35);

2-[(1-({[3-(2-oxo-1-pyrrolidinyl)propyl]amino}karbonyl}cyklopentyl)methyl]-4-fenylbutanové kyseliny (příklad 40);

(+)-2-{[1-({[2-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl}cyklopentyl)methyl]-4-fenylbutanové kyseliny (příklad 44);

2-[(1-{[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]-4-fenylbutanové kyseliny (příklad 43);

cis-3-(2-methoxyethoxy)-2-[(1-{[(4-{[(fenylsulfonyl)amino]karbonyl}cyklohexyl)amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]propanové kyseliny (příklad 38);

(+)-2-{[1-({[2-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl}cyklopentyl)methyl}pentanové kyseliny (příklad 31);

(2R)-2-[(1-{[(5-ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]pentanové kyseliny nebo (-)-2-[(1-{[(5-ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)-methyl]pentanové kyseliny (příklad 29);

(2S)-2-[(1-{[(5-ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}-cyklopentyl)methyl]pentanové kyseliny nebo (+)-2-[(1-{[(5-ethyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)-methyl]pentanové kyseliny (příklad 30);

2-({1-[(3-benzylanilino)karbonyl]cyklopentyl)methyl}pentanové kyseliny (příklad 21);

2-[(1-{[(1-benzyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridinyl)amino]karbonyl}cyklopentyl)methyl]pentanové kyseliny (příklad 22);

2-{[1-({[(1R,3S,4R)-4-(aminokarbonyl)-3-butylcyklohexyl]-amino}karbonyl)cyklopentyl)methyl}pentanové kyseliny (příklad 9);

trans-3-[1-({[2-(4-chlorfenyl)cyklopropyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]-2-(methoxymethyl)propanové kyseliny (příklad 46);

trans-3-[1-({[2-(4-methoxyfenyl)cyklopropyl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(methoxyethyl)propanové kyseliny (příklad 47);

trans-3-[1-({[2-pentylcyklopropyl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(methoxyethyl)propanové kyseliny (příklad 48);

3-[1-({[5-benzyl[1,3,4]-thiadiazol-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(methoxyethyl)propanové kyseliny (příklad 49);

3-[1-({[4-butylpyridin-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(methoxyethyl)propanové kyseliny (příklad 50);

3-[1-({[4-fenylpyridin-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(methoxyethyl)propanové kyseliny (příklad 51);

3-[1-({[1-hydroxymethyl-3-fenylcyklopentyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]-2-(methoxyethyl)propanové kyseliny (příklad 52);

2-{[1-({[2-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]amino}-karbonyl)cyklopentyl]methyl}-4-methoxybutanové kyseliny (příklad 53);

trans-3-[1-({[2-fenylcyklopropyl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(methoxyethyl)propanové kyseliny (příklad 54);

(R)-2-{[1-({[2-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]methyl}-4-methoxybutanové kyseliny (příklad 55) a

(S)-2-{[1-({[2-(hydroxymethyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]methyl}-4-methoxybutanové kyseliny (příklad 56);

a jejich farmaceuticky vhodných solí, solvátů, polymorfů a proléčiv těchto entit.

28. Použití podle nároku 1, při němž léčená ženská sexuální dysfunkce zahrnuje alespoň poruchu sexuální vzrušivosti u žen, FSAD.

29. Použití podle nároku 1 nebo 28, při němž se léčivo podává systemicky.

30. Použití podle nároku 29, při němž se léčivo podává perorálně.

31. Použití sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 2 až 27 pro výrobu léčiva pro léčení nebo profylaxi stavu, při němž

lze pozitivní terapeutické odpovědi dosáhnout inhibicí neutrální endopeptidasy.

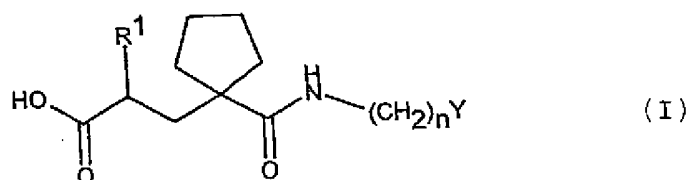
32. Sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 2 až 27 pro použití v medicíně.

33. Farmaceutická formulace, **vyznačující se tím**, že obsahuje sloučeninu definovanou ve kterémkoliv z nároků 2 až 27 spolu s farmaceuticky vhodným excipientem.

34. Způsob léčení nebo profylaxe ženské sexuální dysfunkce, **vyznačující se tím**, že se pacientu podává účinné množství sloučeniny podle kteréhokoliv z nároků 1 až 27.

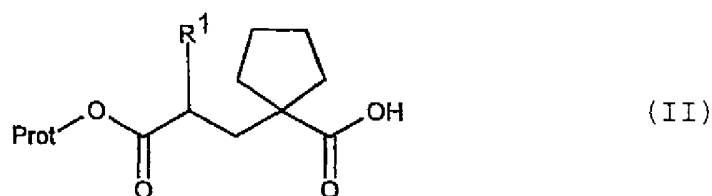
35. Farmaceutická formulace pro léčení ženské sexuální dysfunkce, **vyznačující se tím**, že obsahuje sloučeninu podle kteréhokoliv z nároků 2 až 27 spolu s farmaceuticky vhodným excipientem.

36. Způsob výroby sloučenin obecného vzorce nebo jejich solí



kde R^1 , n a Y mají význam definovaný ve kterémkoliv z nároků 2 až 27, **vyznačující se tím**, že zahrnuje

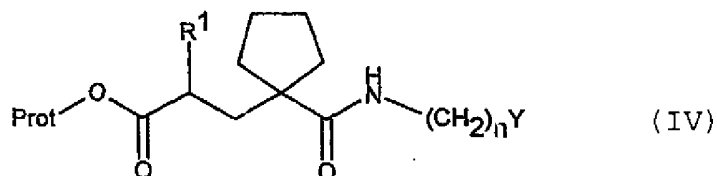
a) stupeň, v němž se sloučenina obecného vzorce II



kde Prot představuje vhodnou chránicí skupinu, nechá reagovat se sloučeninou obecného vzorce III



za vzniku sloučeniny obecného vzorce IV

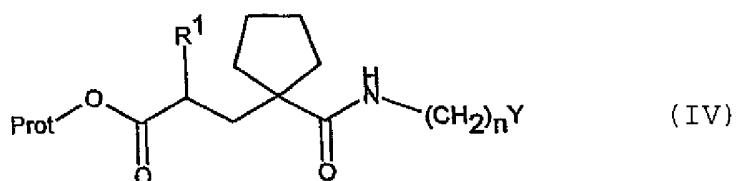


a následně

b) stupeň, v němž se sloučenina obecného vzorce IV nechá reagovat za vhodných deprotekčních podmínek, čímž se získá sloučenina obecného vzorce I; a následně

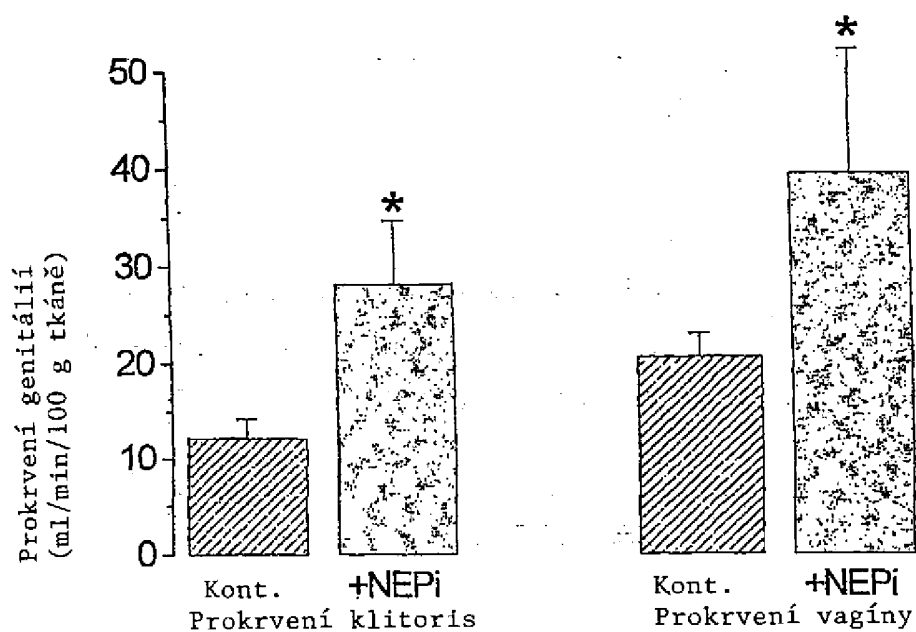
c) popřípadě stupeň, v němž se připraví sůl.

37. Sloučeniny obecného vzorce IV



kde R^1 , n a Y mají význam uvedený ve kterémkoliv z nároků 2 až 27, a Prot představuje chránicí skupinu.

Obr. 1



Obr. 2

