

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

2003 - 1514

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **30.11.2001**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **01.12.2000 19.03.2001**
06.04.2001 30.08.2001

(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/0004458 2001/0100965 2001/0101239**
2001/0102921

(33) Země priority: **SE SE SE SE**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **13.08.2003**
(Věstník č. 8/2003)

(86) PCT číslo: **PCT/SE01/02657**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO02/044145**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

C 07 D 205/04	A 61 K 31/397
C 07 D 207/10	A 61 K 31/401
C 07 D 401/12	A 61 K 31/4427
C 07 D 403/12	A 61 K 31/506
C 07 C 47/575	A 61 P 7/02
C 07 C 59/52	
C 07 C 59/64	
C 07 C 69/734	

(71) Přihlašovatel:
ASTRAZENECA AB, Södertälje, SE;

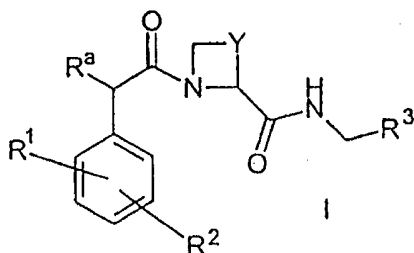
(72) Původce:
Inghardt Tord, Mölndal, SE;
Johansson Anders, Mölndal, SE;
Svensson Arne, Mölndal, SE;

(74) Zástupce:
Hakr Eduard Ing., Přístavní 24, Praha 7, 17000;

(54) Název přihlášky vynálezu:
Nové deriváty kyseliny mandlové a jejich použití
jako inhibitory trombinu

(57) Anotace:

Řešení se týká sloučenin obecného vzorce I, kde R^a , R^1 , R^2 , Y a R^3 mají význam uvedený v popise a jejich farmaceuticky přijatelných derivátů (včetně proléčiv), které jsou užitečné jako kompetitivní inhibitory trypsinu podobných serinproteáz, jako je trombin a zejména při léčbě stavů, při kterých je žádoucí inhibice trombinu (například trombóze) nebo jako antikoagulanty.



29.05.03

181501/HK

1

2003-1514

Nové deriváty kyseliny mandlové a jejich použití jako inhibitory trombinu

Oblast techniky

Tento vynález se týká nových farmaceuticky užitečných sloučenin, obzvláště sloučenin, které jsou, a/nebo sloučenin, které jsou metabolisovány na sloučeniny které jsou, kompetitivními inhibitory trypsinu podobných serinproteáz, obzvláště trombinu, jejich použití jako léčiv, farmaceutických přípravků je obsahujících a syntetických postupů jejich výroby.

Dosavadní stav techniky

Srážení krve je klíčovým procesem zahrnutým jak v hemostázi (tj. prevence ztrát krve z poškozené cévy), tak v trombóze (tj. tvorba krevní sraženiny v cévě, někdy vedoucí k jejímu uzavření).

Koagulace je výsledkem komplexních sérií enzymatických reakcí. Jedním z konečných kroků v této řadě reakcí je konverze proenzymu protrombinu na aktivní enzym trombin.

O trombinu je známo, že v koagulaci hraje ústřední roli. Aktivuje destičky, což vede k jejich agregaci, přeměňuje fibrinogen na monomery fibrinu, které spontánně polymerují na fibrinové polymery a aktivuje faktor XIII, který naopak spojuje polymery do sítí, aby se vytvořil nerozpustný fibrin. Trombin navíc aktivuje faktor V a faktor VIII, což vede k „pozitivní zpětné vazbě“ při tvorbě trombinu z protrombinu.

Díky inhibici agregace destiček a tvorby a zesíťování fibrinu lze u účinných inhibitorů trombinu očekávat, že budou vykazovat

antitrombotickou aktivitu. Navíc by se dalo očekávat, že antitrombotická aktivita by mohla být posílena účinnou inhibicí mechanismu pozitivní zpětné vazby.

Dosavadní stav techniky

Počáteční vývoj inhibitorů trombinu o nízké molekulární hmotnosti je popsán Cleassonem v Blood Coagul. Fibrinol. (1994), 5, 411.

Blombäck a kol., (v J. Clin. Lab. Invest., 24, suppl. 107, 59, (1969)) popsal inhibitory trombinu založené na sekvenci aminokyselin umístěné okolo místa štěpení A-alfa řetězce fibrinogenu. Z diskutovaných sekvencí aminokyselin tyto autoři navrhli jako nejúčinnější inhibitor tripeptidovou sekvenci Phe-Val-Arg (P9-P2-P1, dále označovaná jako sekvence P3-P2-P1).

Inhibitory trombinu založené na dipetidylových derivátech s alfa,omega-aminoalkylguanidinem v pozici P1 jsou známy z US patentu č. 4 346 078 a mezinárodní patentové přihlášky WO 93/11152. Byly také popsány podobné, strukturně příbuzné dipeptidylové deriváty. Například mezinárodní patentová přihláška WO 94/29336 popisuje sloučeniny, které například mají v pozici P1 aminomethylbenzamidiny, cyklické aminoalkylamidiny a cyklické aminoalkylguanidiny (mezinárodní patentová přihláška WO 97/23499 popisuje prekurzory léčiv určitých těchto sloučenin); evropská patentová přihláška 0 648 780 popisuje sloučeniny, které mají v pozici P1 například cyklické aminoalkylguanidiny.

Inhibitory trombinu založené na peptidylových derivátech, které mají v pozici P1 také cyklické aminoalkylguanidiny (např. buď 3- nebo 4-aminomethyl-1-amidinopiperidin) jsou známy z evropských patentových přihlášek 0 468 231, 0 559 046 a 0 641 779.

Inhibitory trombinu založené na tripeptidylových derivátech s argininaldehydem v pozici P1 byly poprvé popsány v evropské patentové přihlášce 0 185 390.

V nedávné době byly popsány peptidylové deriváty založené na argininaldehydu modifikované v pozici P3. Například mezinárodní patentová přihláška WO 93/18060 popisuje hydroxykyseliny, evropská patentová přihláška 0 526 877 des-aminokyseliny a evropská patentová přihláška 0 542 525 o-methylmandlové kyseliny v pozici P3.

Jsou také známy inhibitory serinproteáz (např. trombinu) založené na elektrofilních ketonech v pozici P1. Například evropská patentová přihláška 0 195 212 popisuje peptidyl alfa-ketoestery a amidy, evropská patentová přihláška 0 362 002 fluoralkylamid-ketony, evropská patentová přihláška 0 364 344 alfa,beta,delta-triketosloučeniny a evropská patentová přihláška 0 530 167 alfa-alkoxyketonové deriváty argininu v pozici P1.

Jiné strukturně odlišné inhibitory trypsinu podobných serinproteáz založené na derivátech kyseliny borité na C-konci argininu a jejich izothiouroniových analogích jsou známy z evropské patentové přihlášky 0 293 881.

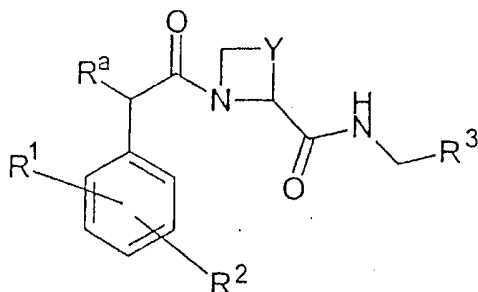
V nedávné době byly zveřejněny inhibitory trombinu založené na peptidylových derivátech v evropské patentové přihlášce 0 669 317 a mezinárodních patentových přihláškách WO 95/35309, WO 95/23609, WO 96/25426, WO 97/02284, WO 97/46577, WO 96/32110, WO 96/31504, WO 96/03374, WO 98/06740, WO97/49404, WO 98/57932, WO 99/29664, WO 00/35869 a WO 00/42059.

Zejména WO 97/02284 a WO 00/42059 popisují inhibitory trombinu se substituovanou mandlovou kyselinou v poloze P3.

Přetrvává však potřeba účinných inhibitorů trypsinu podobných serinproteáz jako je trombin. Dále také existuje potřeba sloučenin, které mají příznivý farmakokinetický profil a jsou selektivní při inhibici trombinu ve srovnání s jinými serinproteázami, zejména ty, které jsou zahrnuty v hemostázi. U sloučenin, které vykazují kompetitivní inhibiční aktivitu vůči trombinu lze očekávat, že budou obzvláště užitečné jako antikoagulanty a tedy užitečné při terapeutickém léčení trómbózy a souvisejících poruch.

Podstata vynálezu

Podle tohoto vynálezu se poskytuje sloučenina obecného vzorce I



kde

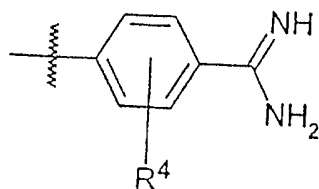
R^a znamená skupinu -OH nebo skupinu -CH₂OH;

R^1 znamená alespoň jeden případný halogenový substituent;

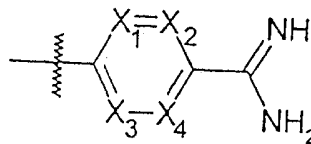
R^2 znamená jeden nebo dva alkoxy substituenty obsahující 1 až 3 atomy uhlíku, kde alkylové části substituentů jsou samotné substituovány jedním nebo více fluorovými substituenty (tj. R^2 znamená jednu nebo dvě fluoralkoxyskupiny obsahující 1 až 3 atomy uhlíku);

Y znamená skupinu $-\text{CH}_2-$ nebo $-(\text{CH}_2)_2-$; a

R^3 znamená strukturní skupinu obecného vzorce I(i) nebo I(ii):



I(i)



I(ii)

kde

R^4 znamená atom vodíku nebo jeden nebo více fluorových substituentů; a

jedno nebo dvě z X_1 , X_2 , X_3 a X_4 představuje skupinu $-\text{N}-$ a zbývající představují skupinu $-\text{CH}-$,
nebo její farmaceuticky přijatelné deriváty.

Výraz „farmaceuticky přijatelné deriváty“ zahrnuje farmaceuticky přijatelné soli (například adiční soli s kyselinou).

Zkratky jsou uvedeny na konci popisu. Vlnité čáry na fragmentech vzorců I(i) a I(ii) označují vazebné polohy fragmentů.

Halogenové skupiny, které může představovat skupina R^1 zahrnují atom fluoru, atom chloru, atom bromu a atom jodu. Abychom se vyhnuli pochybnostem v představě alespoň jedné případné halogenové skupiny, R^1 může nebo nemusí být přítomné (a tak může být nahrazené atomem vodíku, proto jsou pravidla pro valenci připojena) nebo může představovat jeden nebo více atomů halogenu.

Jestliže R^3 znamená strukturní zlomek obecného vzorce I(i), kde R^4 znamená jeden nebo více fluorových substituentů, výhodné sloučeniny obecného vzorce I zahrnují ty sloučeniny, kde R^4 znamená jeden fluorový substituent ve 2- nebo 3- poloze nebo 2

fluorové substituenty, buď ve 2- a 5- poloze nebo výhodněji 2- a 6- poloze (kde substituční polohy jsou vztaženy k bodu připojení strukturního fragmentu obecného vzorce I(i) ke zbytku molekuly (tj. k -NHCH₂- skupině)).

Jestliže skupiny R³ představují strukturní fragment obecného vzorce I(ii), výhodné sloučeniny obecného vzorce I zahrnují ty, ve kterých buď:

- (a) jedno z X₁, X₂, X₃ a X₄ znamená skupinu -N- a zbývající představují skupinu -CH-; nebo
- (b) buď X₁ a X₃ nebo X₂ a X₄ obě znamenají skupinu -N- a ostatní dvě (jak je to vhodné) znamenají skupinu -CH-.

Výhodné sloučeniny obecného vzorce I zahrnují ty, kde:

R¹ znamená jeden fluorový substituent, jeden chlorový substituent nebo jeden bromový substituent;

R² znamená alkoxy skupinu s 1 až 2 atomy uhlíku, substituovanou jedním nebo více fluorovými substituenty, jako jsou -OCHF₂, -OCF₃, -OCH₂CF₃, -OCH₂CHF₂, -OCH₂CH₂F nebo -OCH(CH₂F)₂;

R³ znamená strukturní vzorek obecného vzorce I(i);

R⁴ znamená atom vodíku.

Výhodnější jsou sloučeniny obecného vzorce I, ve kterých:

R^a znamená skupinu OH;

R¹ znamená jeden chlorový substituent;

R² znamená skupinu -OCF₃, výhodně -OCH₂CHF₂ nebo výhodněji -OCHF₂ nebo -OCH₂CH₂F.

Výhodné polohy substituce R¹ a R² na příslušné relevantní fenylové skupině sloučenin obecného vzorce I zahrnují dvě meta-polohy vzhledem k bodu připojení této fenylové skupiny ke zbytku molekuly (tj. ve 3- a/nebo 5- poloze (výhodně substituce 3,5))

vzhledem k atomu uhlíku nesoucímu α - nebo β -hydroxylovou skupinu kyseliny.

Sloučeniny obecného vzorce, které mohou být zmíněny, zahrnují ty sloučeniny, kde:

R^2 znamená jeden nebo dva alkoxylové substituenty s 1 až 2 atomy uhlíku, kde alkylové části těchto substituentů jsou samotné substituovány jedním nebo více fluorovými substituenty;

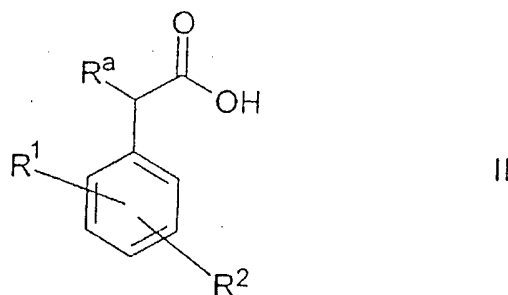
nebo

R^2 znamená jeden nebo dva alkoxylové substituenty se 3 atomy uhlíku, kde alkylové části těchto substituentů jsou samotné substituovány jedním nebo více fluorovými substituenty.

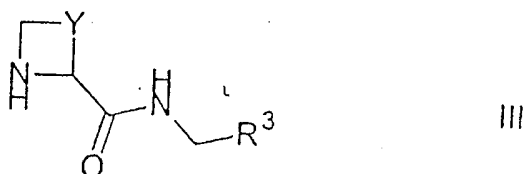
Sloučeniny obecného vzorce I se mohou připravit způsoby, které jsou odborníkovi známe, například jak jsou popsány dále.

Podle toho, další aspekt předkládaného vynálezu poskytuje způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce I, který zahrnuje:

(i) kondenzaci sloučeniny obecného vzorce II,

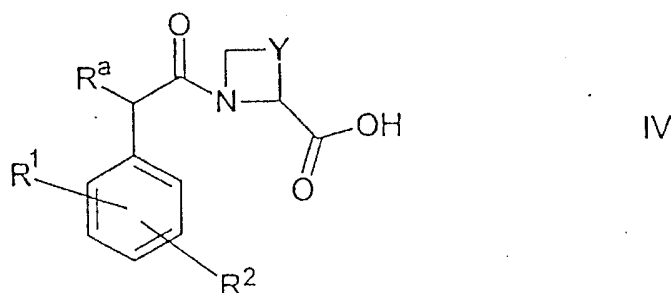


kde R^a , R^1 a R^2 mají význam definovaný shora, se sloučeninou obecného vzorce III,



kde Y a R³ mají význam definovaný shora, například v přítomnosti kondenzačního činidla (například oxalylchloridu v DMF, EDC, DCC, HBTU, HATU, PyBOP nebo TBTU) vhodné báze (například pyridinu, DMAP, TEA, 2,4-kolidinu nebo DIPEA) a vhodného organického rozpouštědla (například dichlormethanu, acetonitrilu, EtOAc nebo DMF);

(ii) kondenzací sloučeniny obecného vzorce IV,



kde R^a, R¹, R² a Y mají význam definovaný shora se sloučeninou obecného vzorce V



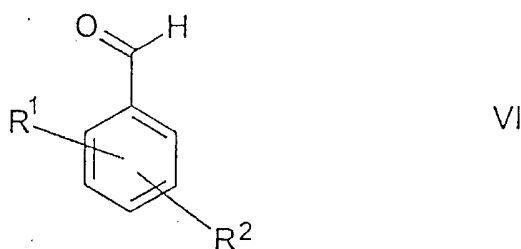
kde R³ má význam uvedený shora, například při podmínkách jak je popsáno v postupu (i) shora;

(iii) pro sloučeniny obecného vzorce I, kde R¹ není přítomné, redukcí odpovídající sloučeniny obecného vzorce Ia, jak je definováno shora, kde R⁵ znamená skupinu OR⁶, kde R⁵ a R⁶ mají význam definovaný shora, například hydrogenací v přítomnosti vhodného katalyzátoru (například kovového katalyzátoru, jako je Pd/C (například 10% (objem/objem Pd/C)) a vhodného rozpouštědla (například nižšího (například s 1 až 6 atomy uhlíku) alkylalkoholu, jako je ethanol) a případně v přítomnosti vhodné kyseliny (například kyseliny octové) a/nebo jak je popsáno v Synth. Comm (1998) 4351; nebo

(iv) reakci odpovídající sloučeniny obecného vzorce XVIA nebo XVIB, jak je popsáno dále, s vhodným zdrojem amoniaku (například octanem amonným nebo plynným amoniakem) za podmínek, které jsou odborníkovi známe, jako je reakce ethylimidoátového meziprojektu (tvořeného reakcí sloučeniny obecného vzorce XVIA nebo XVB s plynným HCl v ethanolu) s plynným amoniakem v ethanolu nebo za podmínek, popsaných v Tetrahedron Lett. 40, 7067 (1999), uváděný zde jako odkaz (například při přípravě sloučenin obecného vzorce I, kde R^3 znamená strukturní vzorec I(ii), kde X_2 nebo X_4 znamená atom dusíku, reakci odpovídající sloučeniny obecného vzorce XVIB s octanem amonným (například 1 až 30 ekvivalenty octanu amonného) v přítomnosti N-acetylcysteinu (například 1 až 30 ekvivalenty N-acetylcysteinu) a vhodného rozpouštědla (například nižšího alkyl (například s 1 až 6 atomy uhlíku) alkoholu, jako je methanol)).

Sloučeniny obecného vzorce II jsou dostupné za použití známých a/nebo standardních technik.

Například sloučeniny obecného vzorce II, kde R^a znamená OH skupinu se mohou připravit reakcí aldehydu obecného vzorce VI



kde R^1 a R^2 mají význam definovaný shora, s:

(a) sloučeninou obecného vzorce VII

$R''CN$

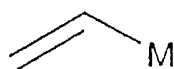
VII

kde R" znamená atom vodíku nebo skupinu $(\text{CH}_3)_3\text{Si}$, například při teplotě místnosti nebo zvýšené teplotě (například pod $100\text{ }^\circ\text{C}$) v přítomnosti vhodného organického rozpouštědla (například chloroformu nebo methylenchloridu) a je-li to nezbytné, v přítomnosti vhodné báze (například TEA) a vhodného katalytického systému (například benzylamoniumchloridu nebo jodidu zinečnatého), za použití chirálního katalyzátoru, jak je například popsáno v Chem. Rev. (1999), 99, 3649), a následnou hydrolýzou za podmínek, které jsou odborníkovi velmi dobře známé (například jak je popsáno dále);

(b) NaCN nebo KCN, například v přítomnosti NaHSO_3 a vody a následnou hydrolýzou;

(c) chloroformem, například za zvýšené teploty (například nad teplotou místnosti ale pod $100\text{ }^\circ\text{C}$) v přítomnosti vhodného organického rozpouštědla (například chloroformu) a, je-li to nezbytné, v přítomnosti vhodného katalytického systému (například benzylamoniumchloridu) a následnou hydrolýzou;

(d) sloučeninou obecného vzorce VIII,



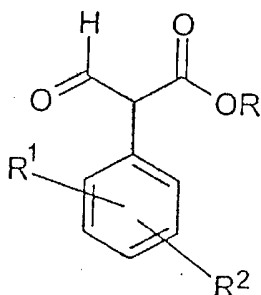
VIII

kde M znamená atom hořčíku nebo lithia a následným oxidačním štěpením (například ozonolýzou nebo katalyzovaným osmiem nebo rutheniem), za podmínek, které jsou odborníkovi velmi dobře známé; nebo

(e) tris(methylthio)methanem za podmínek, které jsou odborníkovi

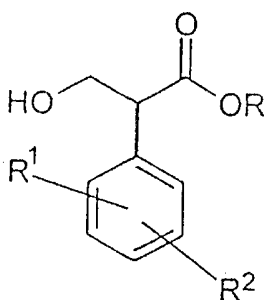
velmi dobře známé a následnou hydrolýzou v přítomnosti například HgO a HBF_4 .

Sloučeniny obecného vzorce II, kde R^a znamená skupinu $-\text{CH}_2\text{OH}$ se mohou připravit redukcí sloučeniny obecného vzorce IX,



IX

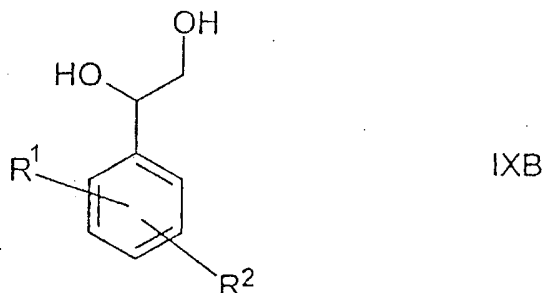
kde R znamená alkylovou skupinu obsahující 1 až 6 atomů uhlíku, alkylfenylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části a R^1 a R^2 mají význam definovaný shora, například při teplotě místnosti nebo nižší, v přítomnosti vhodného redukčního činidla (například borohydridu sodného) a vhodného organického rozpouštědla (například methanolu, ethanolu, THF nebo jejich směsi) a následnou hydrolýzou vzniklého meziproduktu esteru kyseliny tropové obecného vzorce IXA,



IXA

kde R, R^1 a R^2 mají význam uvedený shora, za podmínek, které jsou odborníkovi známé, jak je například popsáno dále. Odborník v oboru zná, že stupně redukce a hydrolýzy se mohou provést v jedné nádobě, například jak je popsáno dále.

Sloučeniny obecného vzorce II, kde R^a znamená skupinu -OH se mohou alternativně připravit oxidací sloučeniny obecného vzorce IXB,



nebo jejího derivátu, který je případně chráněn na sekundární hydroxylové skupině, kde R^1 a R^2 mají význam definovaný shora, v přítomnosti vhodného oxidačního činidla (například kombinace vhodného radikálového oxidačního činidla (jako je TEMPO) a vhodné chlornanové soli (jako je chlornan sodný)) za podmínek, které jsou odborníkovi známe, například při teplotě mezi $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a teplotou místnosti, v přítomnosti vhodného rozpouštědla (například vody, acetonu nebo jejich směsi), vhodné soli (například halogenidu alkalického kovu, jako je bromid draselný) a vhodné báze (například uhličitanu alkalického kovu nebo hydrogenuhličitanu alkalického kovu, jako je hydrogenuhličitan sodný).

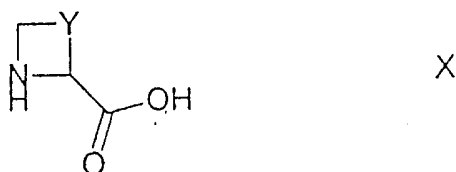
Enantiomerní formy sloučeniny obecného vzorce II, kde R^a znamená skupinu -OH (tj. sloučeniny mající různé konfigurace substituentů okolo C-atomu α - skupiny $-\text{CO}_2\text{H}$) se mohou oddělit enantiospecifickým derivatizačním stupněm. Toho se může dosáhnout například enzymovým postupem. Takový enzymový postup zahrnuje například transesterifikaci α -OH skupiny při teplotě mezi teplotou místnosti a teplotou zpětného toku (například při teplotě mezi 45 a $65\text{ }^{\circ}\text{C}$) v přítomnosti vhodného enzymu (například Lipase PS

Amano), vhodného esteru (například vinylacetátu) a vhodného rozpouštědla (například methyl-*tec*-butyletheru). Derivatizovaný izomer se může poté oddělit od nezreagovaného izomeru konvenčními separačními technikami (například chromatografií).

Skupiny, které jsou zavedené do sloučenin obecného vzorce II v takovém derivatizačním stupni se mohou odstranit před kteroukoli další reakcí nebo v kterémkoli dalším stupni v syntéze sloučenin obecného vzorce I. Tyto přidané skupiny se mohou odstranit obvyklými technikami (například pro estery skupiny α -OH hydrolýzou za podmínek, které jsou odborníkovi známy (například při teplotě mezi teplotou místnosti a teplotou zpětného toku, v přítomnosti vhodné báze (například NaOH) a vhodného rozpouštědla (například MeOH, vody nebo jejich směsí)).

Enantiomerní formy sloučeniny obecného vzorce II, kde R^a znamená skupinu $-\text{CH}_2\text{OH}$ se mohou oddělit chromatografickými technikami (například chirální HPLC).

Sloučeniny obecného vzorce III se mohou připravit kondenzací sloučeniny obecného vzorce X,



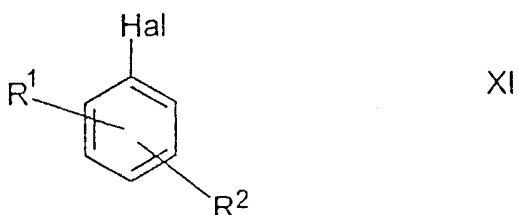
kde Y má význam definovaný shora, se sloučeninou obecného vzorce V, jak je definováno shora, například za podmínek, které jsou podobné podmínkám popsaným v tomto dokumentu pro přípravu sloučenin obecného vzorce I.

Sloučeniny obecného vzorce IV se mohou připravit kondenzací sloučeniny obecného vzorce II jak je popsáno shora, se sloučeninou

obecného vzorce X, jak je popsáno shora, například za podmínek podobných podmínkám pro přípravu sloučenin obecného vzorce I.

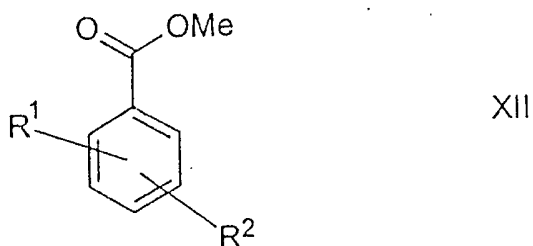
Sloučeniny obecného vzorce VI jsou dostupné za použití známých a/nebo standardních technik. Například se mohou připravit:

(i) metalací (kde kov může být například alkalický kov, jako je Li, nebo výhodně, dvojmocný kov, jako je Mg) sloučeniny obecného vzorce XI,



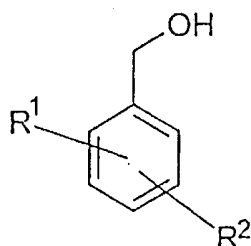
kde Hal znamená atom halogenu vybraný z Cl, Br a I a R^1 a R^2 mají význam definovaný shora, reakcí s vhodným zdrojem formylové skupiny, jako je (N,N-dimethylformamid), například za podmínek, které jsou popsány shora;

(ii) redukcí sloučeniny obecného vzorce XII



kde R^1 a R^2 mají význam definovaný shora, v přítomnosti vhodného redukčního činidla (například DIBAL-H); nebo

(iii) oxidací sloučeniny obecného vzorce XIII,

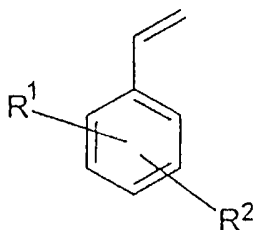


XIII

kde R^1 a R^2 mají význam definovaný shora, v přítomnosti vhodného oxidačního činidla (například MnO_2 , pyridiniumchlorformátu, kombinace DMSO a oxalylchloridu nebo komplexu pyridinu a SO_3 v DMSO).

Sloučeniny obecného vzorce IX se mohou připravit z odpovídajícího fenylacetátu (který se může například získat z odpovídajícího acetofenonu, jak je popsáno v J. Am. Chem. Soc. 98, 6750 (1976) nebo z odpovídajícího benzylyanidu standardními hydrolytickými postupy) obvyklými technikami, například analogicky k technikám popsaným v J. Org. Chem. 54, 3831 (1989) a/nebo jak je popsáno dále.

Sloučeniny obecného vzorce IXB se mohou připravit dihydroxylací odpovídající sloučeniny obecného vzorce XIII A



XIII A

kde R^1 a R^2 mají význam definovaný shora, v přítomnosti vhodného dihydroxylačního činidla (například činidla nebo reakční směsi, která poskytuje OsO_4 , jako je AD-mix- α nebo zejména AD-mix- β), například za podmínek, které jsou odborníkovi známe, například při teplotě mezi $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a teplotou místnosti v přítomnosti

vhodného rozpouštědla (například vody, terc-butanolu nebo jejich směsí). Pokud se použijí asymetrická oxidační činidla, jako je AD-mix- α a AD-mix- β , tato metoda se může použít k přípravě sloučenin obecného vzorce IXB, které mají specifickou konfiguraci skupin (tj. R nebo S) okolo obou C-atomů, ke kterým jsou primární a sekundární hydroxylové skupiny vázané.

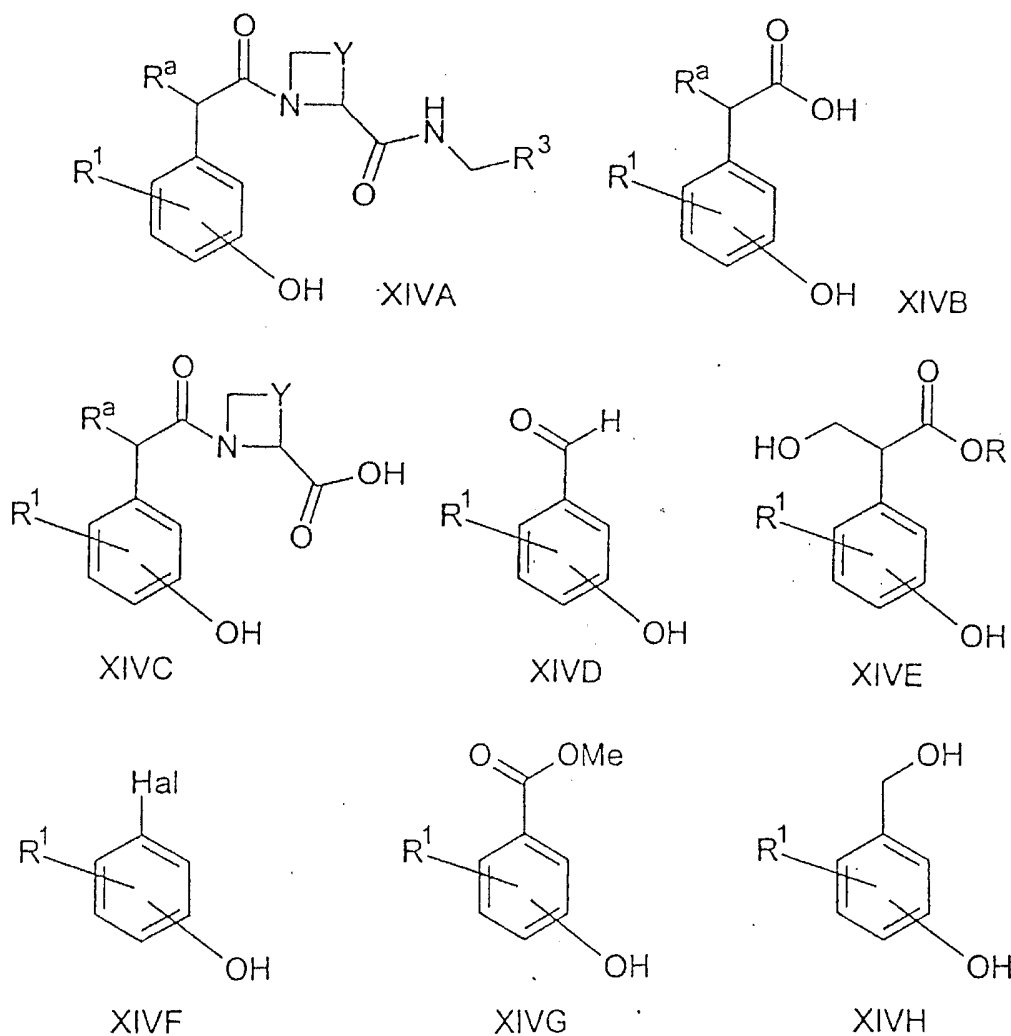
Sloučeniny obecného vzorce XIII A se mohou připravit reakcí sloučeniny obecného vzorce XI, jak je definována shora, s vhodným zdrojem vinylového anionu (například tributyl(vinyl)tinu) za podmínek, které jsou odborníkovi známe, například při teplotě mezi teplotou místnosti a teplotou zpětného toku rozpouštědla (například 50 °C), v přítomnosti vhodného rozpouštědla (například toluenu), vhodného kondenzačního činidla (například koordinačního komplexu palladium(0), jako je tetrakis(trifenylfosfin)palladium(0)) a případně v přítomnosti vhodného katalyzátoru (například 2,6-di-terc-butyl-4-methylfenolu).

Sloučeniny obecných vzorců V, VII, VIII, X, XI, XII a XIII jsou buď komerčně dostupné, jsou známe v literatuře nebo se mohou získat buď postupy, které jsou analogické s postupy popsány v tomto dokumentu nebo obvyklými syntetickými postupy, v souladu se standardními technikami, ze snadno dostupných výchozích materiálů, za použití vhodných reakčních složek a reakčních podmínek. Sloučeniny obecných vzorců Ia, XVI A a XVI B se mohou získat postupy, které jsou popsány dále.

Substituenty na fenylovém kruhu sloučenin obecných vzorců I, II, III, IV, V, VI, IX, IXA, IXB, XI, XII, XIII a XIII A se mohou zavést nebo navzájem přeměnit za použití technik, které jsou odborníkovi známe, standardními vzájemnými přeměnami funkčních

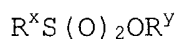
skupin, v souladu se standardními technikami, ze snadno dostupných výchozích materiálů, za použití vhodných reakčních činidel a reakčních podmínek.

Například, sloučeniny obecných vzorců I, II, IV, VI, IXA, XI, XII a XIII se mohou připravit z odpovídajících sloučenin obecných vzorců XIVA, XIVB, XIVC, XIVD, XIVE, XIVF, XIVG a XIVH



kde R^a , R , R^1 , R^3 , Y a Hal (jak je vhodné) mají význam definovaný shora, například:

- (a) reakcí s odpovídajícím fluorovaným halogenalkanem (například fluorovaným chloralkanem) například při teplotě místnosti nebo vyšší (například při zpětném toku) v přítomnosti vhodné báze (například terc-butoxidu draselného, KOH nebo NaOH, například ve vodném roztoku) a vhodného organického rozpouštědla (například THF, chloroformu nebo izopropanolu); nebo
- (b) reakcí se sloučeninou obecného vzorce XIVJ



XIVJ

kde R^x znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, perfluoralkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo fenylovou skupinu (případně substituovanou methylovou skupinou, nitroskupinou nebo atomem halogenu) a R^y znamená skupinu CH_2CF_3 , CH_2CHF_2 , CH_2CH_2F nebo $CH(CH_2F)_2$, například v přítomnosti vhodné báze (například K_2CO_3) a vhodného rozpouštědla (například DMF), například v obou případech, jak je popsáno dále

Odborník v oboru zná, že tyto transformace funkčních skupin mohou být provedeny v dřívějším stádiu v průběhu syntézy sloučenin obecných vzorců II, IV, VI, IXA, XI, XII a XIII (tj. na vhodných prekurzorech sloučenin obecných vzorců XIVB, XIVC, XIVD, XIVE, XIVF, XIVG a XIVH).

Sloučeniny obecných vzorců XIVB, XIVC, XIVD, XIVE, XIVF, XIVG, XIVH a XIVJ jsou buď komerčně dostupné, jsou známe v literatuře, nebo se mohou získat analogicky s postupy popsány v tomto dokumentu nebo konvenčními syntetickými postupy, v souladu se standardními technikami, ze snadno dostupných výchozích materiálů, za použití vhodných reakčních činidel nebo reakčních podmínek. Například, sloučeniny obecných vzorců XIVA, XIVB, XIVC,

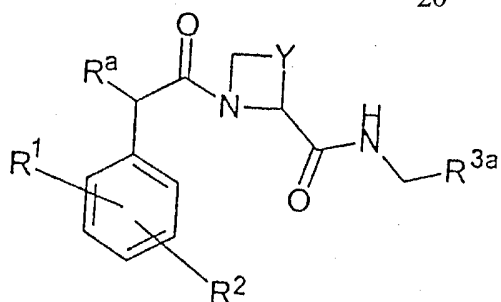
XIVD, XIVE, XIVF, XIVG a XIVH se mohou získat odstraněním chránicí skupiny odpovídajících chráněných fenolů (kde chránicí skupina může být například methylová skupina, allylová skupina, benzylová skupina nebo terc-butylová skupina), za standardních podmínek. Dále, sloučeniny obecného vzorce XIVD, kde R^1 je jednotlivý chlorový substituent se mohou získat z di- nebo trihalosubstituovaného benzenu (například 1-Br, 3-Cl, 5-F-benzenu, substitucí atomu fluoru s methoxyskupinou (například reakcí s NaOMe ve směsi 1-methyl-2-pyrrolidinon/methanol při zvýšené teplotě), vytěsněním bromové skupiny s formylovou skupinou (například jak je popsáno shora pro přípravu sloučenin obecného vzorce VI) a poté demethylací (například za použití PhSH v 1-methyl-2-pyrrolidinonu v přítomnosti K_2CO_3)).

Rovněž, sloučeniny obecného vzorce I, kde R^1 je nepřítomné, se mohou připravit z odpovídajících sloučenin obecného vzorce I (nebo přes jejich vhodné prekurzory), kde R^1 představuje atom halogenu (jako je atom chloru), například hydrogenací za podmínek, které jsou odborníkovi známe.

Sloučeniny obecného vzorce I se mohou izolovat ze svých reakčních směsí za použití obvyklých technik.

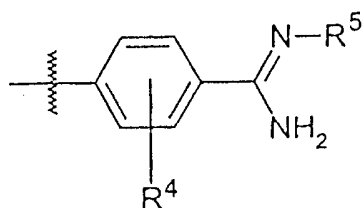
V souladu s předkládaným vynálezem, farmaceuticky přijatelné deriváty sloučenin obecného vzorce I také zahrnují „chráněné“ deriváty a/nebo sloučeniny, které působí jako proléčiva sloučenin obecného vzorce I.

Sloučeniny, které působí jako proléčiva sloučenin obecného vzorce I, které mohou být zmíněny, zahrnují sloučeniny obecného vzorce Ia,

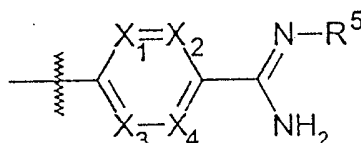


Ia

kde R^{3a} znamená strukturní fragment obecného vzorce I(iii) nebo (Iiv):



I(iii)



I(iv)

kde R^5 znamená skupinu OR^6 nebo skupinu $C(O)OR^7$;

R^6 znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku, alkylarylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části nebo alkyloxyarylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části (příčemž alkylové části později uváděných dvou skupin jsou případně přerušeny jedním nebo více atomy kyslíku a arylové části, později uváděných dvou skupin jsou případně substituovány jedním nebo více substituenty vybranými z atomů halogenu, fenylové skupiny, methylové skupiny nebo methoxyskupiny, přičemž později uváděné tři skupiny jsou případně substituovány jedním nebo více atomy halogenu);

R^7 znamená alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku (příčemž později uváděná skupina je případně přerušena jedním nebo více atomy kyslíku) nebo alkylarylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části nebo alkyloxyarylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části (příčemž alkylové části později uváděných dvou skupin jsou případně přerušeny jedním nebo více atomy kyslíku a arylové části, později uváděných dvou skupin jsou

případně substituovány jedním nebo více substituenty vybranými z atomů halogenu, fenylové skupiny, methylové skupiny nebo methoxyskupiny, přičemž později uváděné tři skupiny jsou případně substituovány jedním nebo více atomy halogenu); a R^a , R^1 , R^2 , Y , R^4 , X_1 , X_2 , X_3 a X_4 mají význam definovaný shora, a jejich farmaceuticky přijatelné deriváty.

Výraz „farmaceuticky přijatelné deriváty“ sloučenin obecného vzorce I zahrnuje farmaceuticky přijatelné soli (například adiční soli s kyselinou).

Vlnité čáry na fragmentech vzorců I(iii) a I(iv) označují vazebné polohy fragmentů.

Alkoxyarylové skupiny, které mohou představovat R^6 a R^7 obsahují alkylovou a arylovou skupinu, vázanou k atomu kyslíku.

Alkylarylové a alkyloxyarylové skupiny jsou vázány ke zbytku molekuly přes alkylovou část těchto skupin, jejichž alkylová část může (pokud je dostatečný počet (například tři) atomů uhlíku) být s přímým nebo rozvětveným řetězcem. Arylové části alkylarylových a alkyloxyarylových skupin, které mohou R^6 a R^7 představovat, nebo kterými mohou být substituovány, zahrnují karbocyklické a heterocyklické aromatické skupiny, jako je fenylová skupina, naftylová skupina, pyridinylová skupina, oxazolylová skupina, izoxazolylová skupina, thiadiazolylová skupina, indolylová skupina a benzofuranylová skupina a podobně.

Alkylové části, které mohou R^6 a R^7 představovat, mohou být s přímým řetězcem, nebo pokud je dostatečný počet (tj. minimálně tři) atomů uhlíku s rozvětveným řetězcem a/nebo mohou být cyklické. Dále, pokud je přítomen dostatečný počet (tj. minimálně čtyři) atomů uhlíku, takové alkylové skupiny mohou také být

částečně cyklické/acyklické. Takové alkylové skupiny mohou být nasycené, nebo když je dostatečný počet (tj. minimálně dva) atomů uhlíku, mohou být nenasycené.

Halogenové skupiny, kterými mohou být R^6 a 7 substituovány, zahrnují atom fluoru, atom chloru, atom bromu a atom jodu.

Jestliže R^5 znamená skupinu $C(O)OR^7$, výhodně R^7 znamená:

- (a) lineární, rozvětvenou nebo cyklickou alkylovou skupinu obsahující 3 až 6 atomů uhlíku, například cykloalkylovou skupinu obsahující 4 až 6 atomů uhlíku;
- (b) alkylarylovou skupinu s 1 až 2 atomy uhlíku v alkylové části, jako je například benzylová skupina, případně substituována jak je indikováno shora.

Výhodné sloučeniny obecného vzorce Ia jsou ty, kde R^5 znamená skupinu OR^6 .

Když R^5 znamená skupinu OR^6 , výhodně R^6 zahrnuje:

- (a) atom vodíku;
- (b) nesubstituovanou, lineární, rozvětvenou nebo cyklickou alkylovou skupinu s 1 až 8 atomy uhlíku (například s 1 až 6 atomy uhlíku), jako je lineární alkylová skupina s 1 až 3 atomy uhlíku (například ethylová skupina nebo zejména methylová skupina), rozvětvenou alkylovou skupinu obsahující 3 až 8 atomů uhlíku (například izopropylovou skupinu, izobutylovou skupinu nebo 4-heptylovou skupinu) nebo cyklickou alkylovou skupinu se 4 až 7 atomy uhlíku (tj. cyklickou alkylovou skupinu se 4 až 7 atomy uhlíku, například cyklobutylovou skupinu nebo cyklohexylovou skupinu);
- (c) alkyloxyfenylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části (například alkyloxyfenylovou skupinu se dvěma atomy uhlíku

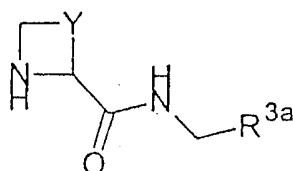
v alkylové části), kde fenylová skupina je případně substituována jedním nebo více substituenty jak je indikováno shora (například trifluormethylovou skupinu);

(d) alkylarylovou skupinu s 1 až 2 atomy uhlíku v alkylové části (například methylarylovou skupinu), kde arylová skupina je fenylová skupina, pyridinylová skupina, oxazolylová skupina nebo izoxazolylová skupina, přičemž tři později uvedené skupiny jsou případně substituovány jedním nebo více substituenty, jak je indikováno shora (například methoxyskupinou, methylovou skupinou, bromem a/nebo chlorem).

Výhodné sloučeniny obecného vzorce Ia zahrnují ty sloučeniny, kde R^5 znamená skupinu OR^6 a R^6 znamená lineární, rozvětvenou (jak je vhodné) nebo cyklickou (jak je vhodné) alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku (například alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku), jako je methylová skupina, ethylová skupina, n-propylová skupina, izopropylová skupina nebo cyklobutylová skupina.

Sloučeniny obecného vzorce Ia se mohou připravit následujícími způsoby:

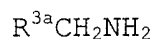
(a) reakcí odpovídající sloučeniny obecného vzorce II jak je definováno shora, se sloučeninou obecného vzorce XV,



XV

kde Y a R^{3a} mají význam definovaný shora, například za podmínek podobných podmínkám popsaným shora pro přípravu sloučenin obecného vzorce I;

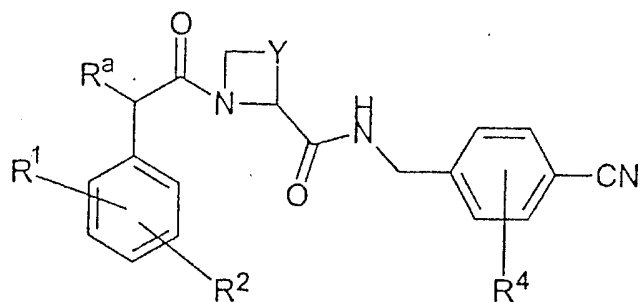
(b) reakcí odpovídající sloučeniny obecného vzorce IV jak je definováno shora, se sloučeninou obecného vzorce XVI,



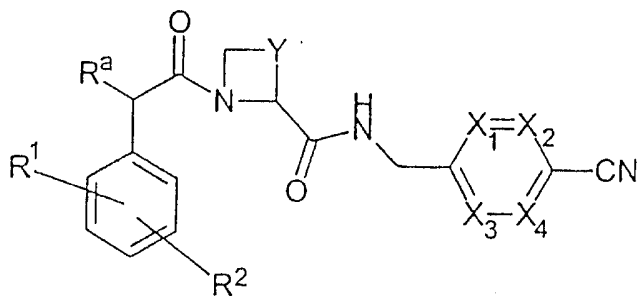
XVI

kde R^{3a} má význam definovaný shora, například za podmínek podobných podmínkám popsaným shora pro přípravu sloučenin obecného vzorce I;

(c) pro sloučeniny obecného vzorce Ia, kde R^5 znamená OH skupinu, reakci odpovídající sloučeniny obecného vzorce XVIA nebo XVIB,



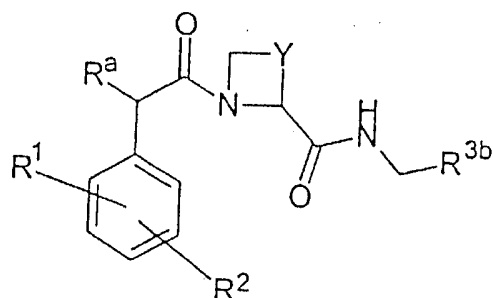
XVIA



XVIB

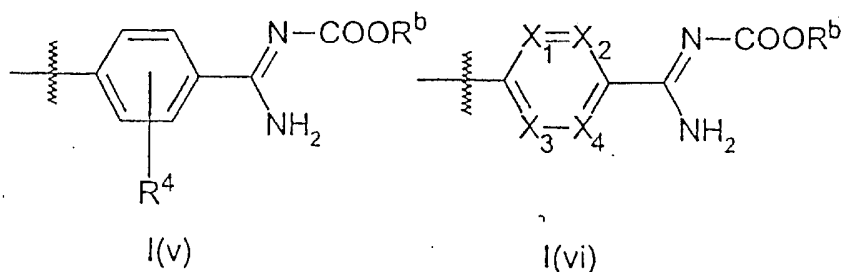
kde R^a , R^1 , R^2 , R^4 , Y , X_1 , X_2 , X_3 a X_4 mají význam definovaný shora, s hydroxylaminem, například za podmínek, které jsou odborníkovi známe;

(d) pro sloučeniny obecného vzorce Ia, kde R^5 znamená skupinu OR^6 , reakci chráněného derivátu odpovídající sloučeniny obecného vzorce I, která je například sloučeninou obecného vzorce XVII,



XVII

kde R^{3b} znamená strukturní fragment obecného vzorce I(v) nebo I(vi):



kde R^b znamená například skupinu $-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ nebo benzylovou skupinu nebo její tautomer a R^a , R^1 , R^2 , Y , R^4 , X_1 , X_2 , X_3 a X_4 mají význam definovaný shora, se sloučeninou obecného vzorce XVIII,



XVIII

kde R^6 má význam definovaný shora, nebo jejích adičních solí s kyselinou, například při teplotě mezi teplotou místnosti a teplotou zpětného toku, v přítomnosti vhodného organického rozpouštědla (například THF, CH_3CN , DMF nebo DMSO) a následným odstraněním skupiny $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^b$ za podmínek, které jsou odborníkovi známe (například reakcí s QF nebo TFA (například jak je popsáno dále));

(e) pro sloučeniny obecného Ia, kde R^5 znamená OH, reakci sloučeniny obecného vzorce XVII, jak je definována shora, kde R^b

znamená benzylovou skupinu, s hydroxylaminem nebo jeho adiční solí s kyselinou, například za podmínek, které jsou odborníkovi známe;

(f) pro sloučeniny obecného vzorce Ia, kde R^5 znamená skupinu COOR^7 , reakci odpovídající sloučeniny obecného vzorce I, jak je definována shora, se sloučeninou obecného vzorce XIX



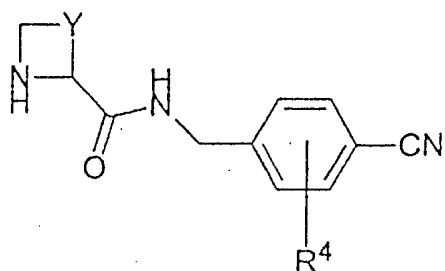
XIX

kde L^1 je vhodná odštěpující se skupina, jako je například atom halogenu nebo nitrofenylová skupina (například 4-nitrofenylová skupina) a R^7 má význam uvedený shora, například při teplotě okolo teploty místnosti, v přítomnosti vhodné báze (například NaOH, například ve vodném roztoku) a vhodného organického rozpouštědla (například methylenchloridu); nebo

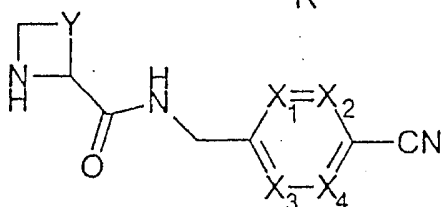
(g) pro sloučeniny obecného vzorce Ia, kde R^5 znamená skupinu OCH_3 nebo OCH_2CH_3 , reakci odpovídající sloučeniny obecného vzorce Ia, kde R^5 znamená skupinu OH, s dimethylsulfátem nebo diethylsulfátem, například v přítomnosti vhodné báze (například hydroxidu alkalického kovu, jako je KOH (například ve formě 50% hmotn. vodného roztoku) a vhodného katalyzátoru (například kvartérního amonium halogenidu, jako je benzyltrimethylammoniumchlorid (například 10% hmotn. roztok v CH_2Cl_2 nebo THF)).

Vlnité čáry na fragmentech vzorců I(v) a I(vi) označují vazebné polohy fragmentů.

Sloučeniny obecného vzorce XVIA a XVIB se mohou připravit reakcí odpovídající sloučeniny obecného vzorce II, jak je popsána shora, se sloučeninou obecného vzorce XIXA nebo XIXB,



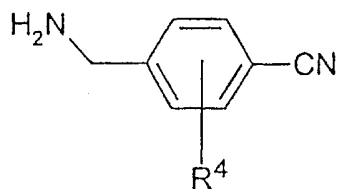
XIXA



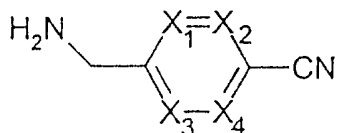
XIXB

kde R^4 , X_1 , X_2 , X_3 a X_4 mají význam definovaný shora, například za podmínek, které jsou podobné podmínkám popsaným shora pro syntézu sloučenin obecného vzorce I.

Sloučeniny obecného vzorce XVIA a XVIB se mohou alternativně připravit reakcí odpovídající sloučeniny obecného vzorce IV, jak je popsána shora, se sloučeninou obecného vzorce XIXC nebo XIXD,



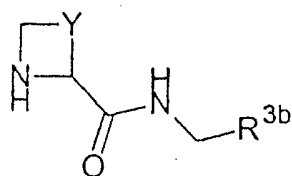
XIXC



XIXD

kde R^4 , X_1 , X_2 , X_3 a X_4 mají význam definovaný shora, například za podmínek, které jsou podobné podmínkám popsaným shora pro syntézu sloučenin obecného vzorce I.

Sloučeniny obecného vzorce XVII se mohou připravit reakcí odpovídající sloučeniny obecného vzorce II, jak je definována shora, se sloučeninou obecného vzorce XX,

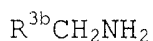


XX

kde Y a R^{3b} mají význam definovaný shora, například za podmínek podobných těm, které jsou popsány shora pro přípravu sloučenin obecného vzorce I.

Alternativně se sloučeniny obecného vzorce XVII mohou připravit reakcí odpovídající sloučeniny obecného vzorce I se sloučeninou odpovídající sloučenině obecného vzorce XIX, kde namísto skupiny R^7 je přítomná skupina R^b , kde R^b má význam uvedený shora, například za podmínek popsanych shora s ohledem na přípravu sloučeniny obecného vzorce Ia.

Sloučeniny obecného vzorce XV a XX se mohou připravit reakcí odpovídající sloučeniny obecného vzorce X jak je definována shora, se sloučeninou obecného vzorce XVI, jak je definována shora, nebo sloučeninou XXI



XXI

kde R^{3b} má význam definovaný shora, například za podmínek, které jsou podobné těm, které jsou popsány shora pro přípravu sloučenin obecného vzorce I.

Sloučeniny obecného vzorce XVI, XVIII, XIX, XIXA, XIXB, XIXC, XIXD a XXI jsou buď komerčně dostupné, jsou známe v literatuře nebo se mohou získat buď analogickými postupy, jak jsou popsány v předkládaném dokumentu nebo obvyklými syntetickými postupy,

v souladu se standardními technikami, ze snadno dostupných výchozích materiálů, za použití vhodných reakčních činidel a reakčních podmínek. Například sloučeniny obecného vzorce XIXA a XIXB se mohou připravit reakcí odpovídající sloučeniny obecného vzorce XIXC nebo XIXD (jak je vhodné) se sloučeninou obecného vzorce X, například za podmínek popsaných podobných těm, které jsou popsány shora.

Sloučeniny obecného vzorce I a Ia jak jsou definovány shora a jejich deriváty jsou dále uváděny jako „sloučeniny podle vynálezu“.

Výhodné sloučeniny podle vynálezu zahrnují sloučeniny příkladů popsaných dále. Sloučeniny podle vynálezu, které mohou být zmíněny zahrnují:

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt);
 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OnPr);
 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OiPr);
 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu);
 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH);
 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(COOCpentyl);
 Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z);
 Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;
 Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe);
 Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH₂-3-(5-Me-izoxazol));
 Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH₂-3-pyridin);
 Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OiBu);
 Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt);
 Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Obn);
 Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcHexyl);

dinyl);

Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-((2-methoxyamidino)-5-pyridinyl);

Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-((5-amidino)-2-pyrimidinyl);

Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-((5-methoxyamidino)-2-pyrimidinyl);

Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(3-F);

Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF);

Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(OMe);

Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF); a

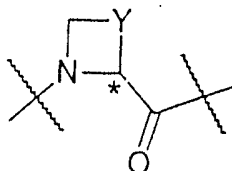
Ph(3-Cl, 5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe).

Sloučeniny podle vynálezu mohou vykazovat tautomerismus. Všechny tautomerní formy a jejich směsi jsou zahrnuty do rozsahu předkládaného vynálezu. Konkrétní tautomerní formy, které mohou být zmíněny zahrnují ty, které jsou spojeny s polohou dvojné vazby v amidinové funkční skupině ve sloučeninách obecného vzorce Ia a polohách substituentu R⁵.

Sloučeniny podle vynálezu také obsahují dva nebo více asymetrických atomů uhlíku a mohou tedy vykazovat optickou diastereomerii. Diastereomery se mohou oddělit za použití obvyklých technik, například chromatografií. Různé stereoizomery se mohou izolovat rozdělením racemických nebo jiných směsí sloučenin za použití obvyklých technik, například HPLC. Alternativně se žádané optické izomery mohou připravit reakcí příslušně opticky aktivních výchozích materiálů za podmínek, které nezpůsobí racemizaci nebo epimerizaci nebo derivatizací, například s homochirální kyselinou a následnou separací diastereomerních derivátů obvyklými prostředky (například HPLC, chromatografií na silikagelu). Všechny stereoizomery jsou zahrnuty do rozsahu předkládaného

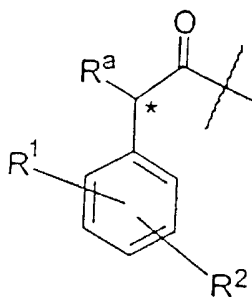
vynálezu.

Sloučeniny podle vynálezu, kde



fragment je v S-konfiguraci jsou výhodné.

Výhodné sloučeniny podle vynálezu zahrnují ty sloučeniny, kde zlomek



je v R-konfiguraci, když R^a znamená -OH nebo je v S-konfiguraci, když R^a znamená $-\text{CH}_2\text{OH}$.

Vlnité čáry na vazbách shora uvedených fragmentů označují vazebné polohy fragmentů.

Sloučeniny podle vynálezu, které mohou být uvedeny, zahrnují $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-CH(OH)C(O)-Aze-Pab}$ (kde Aze znamená azetidin-2-karboxylát) tj. v (R)- a/nebo (S)-konformaci) a rovněž ekvivalentní sloučeniny, ve kterých, místo atomu vodíku v amidinové jednotce v Pab, je přítomná skupina OR^6 (jak je definována shora), kde R^6 znamená alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku (tj. $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$, $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt)}$, $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-CH(OH)C(O)-Aze-}$

Pab(OnPr) nebo $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OiPr)}$.

Sloučeniny podle vynálezu, které mohou být zmíněny zahrnují ty, které nejsou specifické sloučeniny identifikované v předchozí větě.

Odborník v oboru zjistí, že v postupech popsaných shora a dále bude nutné chránit funkční skupiny meziproductů chránicími skupinami.

Funkční skupiny, které bude nutné chránit zahrnují hydroxy-skupiny, aminoskupiny a skupiny karboxylové kyseliny. Vhodné chránicí skupiny pro hydroxylovou skupinu zahrnují případně substituované a/nebo nenasycené alkylové skupiny (například methylovou skupinu, allylovou skupinu, benzylovou skupinu nebo terc-butylovou skupinu), trialkylsilylové nebo diarylalkylsilylové skupiny (například terc-butyldimethylsilylovou skupinu, terc-butyldifenylsilylovou skupinu nebo trimethylsilylovou skupinu) a tetrahydropyranylovou skupinu. Vhodné chránicí skupiny pro karboxylovou skupinu zahrnují alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo benzylestery. Vhodné chránicí skupiny pro aminovou a midinovou skupinu zahrnují terc-butyloxykarbonylovou skupinu, benzyloxakarbonylovou skupinu nebo 2-trimethylsilylethoxykarbonylovou skupinu (Teoc). Amidinové atomy dusíku také může být chráněn hydroxyskupinou nebo alkoxyskupinou a může být chráněn jeden nebo dva atomy dusíku.

Chránění funkčních skupin a odstranění chránících skupin může být provedeno před nebo po kondenzaci nebo před kteroukoli reakcí ve shora uvedených schématech.

Chránicí skupiny mohou být odstraněny v souladu s postupy, které jsou odborníkovi v oboru dobře známy a jak je zde dále popsáno.

Odborník v oboru zjistí, že k získání sloučenin podle vynálezu alternativním a, při určitých příležitostech, vhodnějším způsobem, mohou být jednotlivé kroky postupu uvedené shora prováděny v odlišném pořadí a/nebo mohou být jednotlivé reakce prováděny v jiných stupních celkového postupu (tj. substituenty mohou být ve spojitosti s určitou reakcí adovány na jiné meziprodukty a/nebo vytvořeny chemickou přeměnou prováděnou na jiných meziproduktech než jsou zde výše zmíněny). To může negovat nebo nutně vyžadovat potřebu chránicích skupin.

Tudíž řád a typ zahrnuté chemické reakce bude diktovat potřebu a typ chránicích skupin stejně jako pořadí kroků k uskutečnění syntézy.

Použití chránicích skupin je plně popsáno v „Protective Groups in Organic Chemistry“ kterou vydal J. W. F. McOmie, Plenum Press (1973) a „Protective Groups in organic Synthesis“, 3. vydání, T. W. Greene a P.G. M. Wutz, Wiley-Interscience (1999).

Chráněné deriváty sloučenin podle vynálezu mohou být chemicky převedeny na sloučeniny podle vynálezu použitím standardních postupů odstranění chránicích skupin (např. hydrogenace).

Odborník v oboru zjistí, že určité sloučeniny obecného vzorce Ia mohou být považovány za „chráněné deriváty“ jiných sloučenin obecného vzorce I.

Lékařské a farmaceutické použití

Sloučeniny podle tohoto vynálezu mohou mít farmakologickou aktivitu jako takové. Sloučeniny podle tohoto vynálezu, které mohou mít takovou aktivitu, zahrnují, nikoliv však s omezením,

sloučeniny obecného vzorce I.

Nicméně, další sloučeniny podle vynálezu (včetně sloučenin obecného vzorce Ia) nemusejí mít farmakologickou aktivitu, ale mohou být podány parenterálně nebo orálně a poté mohou být v těle metabolizovány k vytvoření sloučenin, které jsou farmakologicky aktivní (včetně, nikoliv však s omezením, odpovídajících sloučenin obecného vzorce I). Takové sloučeniny (které rovněž zahrnují sloučeniny, které mohou mít určitou farmakologickou aktivitu, ale tato aktivita je zřetelně nižší než aktivita „aktivních“ sloučenin na něž se metabolizují) mohou být tedy popsány jako "prekurzory léčiva" aktivních sloučenin.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou tedy užitečné, protože mají farmakologickou aktivitu a/nebo jsou metabolizovány v těle po orálním nebo parenterálním podání za vytvoření sloučenin, které mají farmakologickou aktivitu. Sloučeniny podle tohoto vynálezu jsou tedy indikovány jako farmaceutika.

Podle dalšího aspektu tohoto vynálezu jsou tedy poskytnuty sloučeniny podle tohoto vynálezu pro použití jako farmaceutika.

Zejména jsou sloučeniny podle tohoto vynálezu silnými inhibitory trombinu buď jako takové nebo (v případě prekurzorů léčiv) jsou metabolizovány po podání za vzniku silných inhibitorů trombinu, například jak může být demonstrováno v testech popsaných dále.

Pod pojem „prekurzor léčiva inhibitoru trombinu“ se zahrnují sloučeniny, které tvoří inhibitor trombinu, v experimentálně detekovatelném množství a v předem určený čas (např. okolo 1 hodiny) po orálním nebo parenterálním podání (viz například test E dále) nebo alternativně, po inkubaci v přítomnosti jaterních

mikrosomů (viz například test G dále).

U sloučenin podle předloženého vynálezu se tedy předpokládá, že budou užitečné při těch stavech, kde je vyžadována inhibice trombinu a/nebo stavech, kde je indikována antikoagulační terapie, zahrnující následující:

Léčbu a/nebo profylaxi trombózy a hyperkoagulability v krvi a/nebo tkáních živočichů včetně člověka. Je známo, že hyperkoagulabilita může vést k tromboembolickým onemocněním. Stavy spojené s hyperkoagulabilitou a tromboembolickými nemocemi, které mohou být zmíněny, zahrnují dědičnou nebo získanou aktivovanou rezistenci na protein C, jako je mutace faktoru V (faktor V Leiden), a dědičné nebo získané deficiencie antitrombinu III, proteinu C, proteinu S a heparinového kofaktoru II. Jiné stavy, o nichž je známo že jsou spojeny s hyperkoagulabilitou a tromboembolickým onemocněním zahrnují cirkulační antifosfolipidové protilátky (Lupus antikoagulant), homocysteinemi, heparinem navozenou trombocytopenii a poruchy fibrinolýzy a rovněž koagulační syndromy (například roztroušenou intravaskulární koagulaci (DIC)) a vaskulární poškození obecně (v důsledku chirurgie).

Sloučeniny podle předloženého vynálezu jsou dále indikovány při léčení stavů, kde se vyskytují nežádoucí nadměrné hladiny trombinu bez známek hyperkoagulability, například při neurodegenerativních onemocněních jako je Alzheimerova nemoc.

Zvláštní chorobné stavy, které mohou být zmíněny, zahrnují terapeutické a/nebo profylaktické podávání při venózní trombóze (například DVT) a plicní embolii, arteriální trombóze (např. infarktu myokardu, nestabilní angíně, mrtvici založené na

trombóze a periferní arteriální trombóze) a systemickou embolií, obvykle z atria během arteriální fibrilace (například nevalvulární atriální fibrilace) nebo z levé komory po transmuralním infarktu myokardu nebo způsobená kongestivním srdečním selháním; při profylaxi reokluze (tj. trombózy) po trombolýze, perkutánní transluminální angioplastice (PTA) a zavedení koronárního bypassu; prevenci retrombózy po mikrochirurgických zákrocích a zákrocích na cévách obecně.

Další indikace zahrnují terapeutické a/nebo profylaktické použití při diseminované intravaskulární koagulaci způsobené bakteriemi, mnohočetným traumatem, intoxikací nebo jakýmkoli jiným mechanismem; antikoagulační léčbě, kdy je krev v kontaktu s cizími povrchy v těle, jako jsou cévní štěpy, cévní stenty, cévní katetry, mechanické a biologické protetické chlopně nebo jakýkoli jiný prostředek zdravotnické techniky; a při antikoagulační léčbě, kdy je krev v kontaktu s prostředky zdravotnické techniky mimo tělo, jako při kardiovaskulárním chirurgickém zákroku při použití mimotělního oběhu nebo při hemodialýze; pro terapeutické a/nebo profylaktické použití při idiopatickém syndromu dechové tísně a při syndromu dechové tísně dospělých, plicní fibróze po léčení ozáření nebo chemoterapií, septickém šoku, septikémií, zánětlivých odpovědích, které zahrnují, nikoliv však s omezením, edém, akutní nebo chronickou aterosklerózu, jako je choroba srdečních arterií a tvorba aterosklerotických plátů, choroba mozkových arterií, mozkový infarkt, mozková trombóza, mozková embolie, choroba periferních arterií, ischemie, angína (včetně nestabilní angíny), poškození po reperfuzi a restenóza po perkutánní transluminální angioplastice (PTA) a bypassu koronární artérie.

Sloučeniny podle předloženého vynálezu, které inhibují trypsin

a/nebo trombin mohou také být užitečné při léčbě pankreatitidy.

Sloučeniny podle předkládaného vynálezu jsou indikovány jak pro terapeutickou, tak pro profylaktickou léčbu těchto stavů.

Podle dalšího aspektu předloženého vynálezu je poskytnut způsob léčení stavu, kde je vyžadována inhibice trombinu, přičemž tento způsob zahrnuje podávání terapeuticky účinného množství sloučeniny podle předloženého vynálezu osobě trpící takovým stavem nebo osobě na tento stav citlivé.

Sloučeniny podle předloženého vynálezu budou normálně podávány orálně, intravenózně, subkutánně, bukálně, rektálně, dermálně, nasálně, tracheálně, bronchiálně, jakoukoli jinou parenterální cestou nebo cestou inhalace, ve formě farmaceutických přípravků zahrnujících aktivní sloučeninu buď jako volnou bázi nebo farmaceuticky přijatelnou netoxickou adiční sůl s organickou nebo anorganickou kyselinou ve farmaceuticky přijatelné dávkovací formě.

Výhodná cesta podání sloučenin podle vynálezu je orální cesta. Výhodné farmaceutické preparáty zahrnují farmaceutické prostředky s modifikovaným uvolňováním, obsahující sloučeniny podle vynálezu. Výraz farmaceutický prostředek „s modifikovaným uvolňováním“ odborník chápe tak, že zahrnuje jakýkoli prostředek, ve kterém je nástup a/nebo rychlost uvolňování léčiva (tj. sloučenina podle vynálezu) měněna galenickými manipulacemi a tak zahrnuje definici uváděnou v United States Pharmacopeia (USP XXII) na stranách Xliii a Xliv předmluvy.

Vhodné formulace s modifikovaným uvolňováním odborník může připravit standardními postupy ve farmacii (viz například

Pharmaceutisch Weekblad Scientific Edition, 6, 57 (1984); Medical Application of Controlled Release, vol II, vyd. Langer a Wise (1984) Boca Raton, Florida, str. 1 až 34; Industrial Aspects of Pharmaceuticals, vyd. Swedish Pharmaceutical Press (1993), str. 93 až 104; a str. 191 až 211 „Pharmaceutics: The Science of Dosage Form Design“, vyd. M.E. Aulton (1988) Churchill Livingstone)).

Výhodné formulace s modifikovaným uvolňováním jsou ty, kde je vhodná sloučenina podle vynálezu uložena v polymerní matrici. Z tohoto hlediska pokládáme za výhodné, když formulace obsahující sloučeniny podle vynálezu jsou poskytovány pro orální podání ve formě systému s modifikovaným uvolňováním, kdy dochází k bobtnání nebo systému s modifikovaným uvolňováním využívající gelové matrice, ve kterém je sloučenina podle vynálezu poskytována současně s polymerem, který bobtná ve vodném prostředí („hydrofilní gelující složka“).

Zejména je výhodné, když jsou sloučeniny podle vynálezu formulovány společně v prostředku využívajícím gelové matrice, obsahující jota-karagén. a jeden nebo více gelujících polymerů.

Jota-karagén je přítomen v takovém výhodném preparátu v množství větším než 15 % hmotnostních. Výhodný stupeň pro jota-karagén je jota karagén farmaceutického stupně (dostupný od FMC Biopolymer), který nemá viskozitu menší než 5 centipoise (cpc), výhodně v rozsahu 5-10 cps (pro 1,5% roztok zahřátý na teplotu 82 °C, načež se měří viskozita při 75 °C s viskosimetrem Brookfield LV opatřeném s vřetenem č. 1, otáčejícím se rychlostí 30 otáček/minutu) a jota karagén technického stupně (dostupný od Fluka Biochemica), který má výhodně viskozitu ne menší než 14

mPa.s pro 0,3% vodný roztok, zahřátý na 20 °C načež se měří viskositá za použití viskosimetru s padající kuličkou typu Haake, používaného společně s Laudovým termostatem C3 a Hakke Mess-Systémem III a používající zlatem povlečené nerezové kuličky o hustotě 7,8 g/cm³.

Neutrální gelující polymer může být jednotlivý nebo směs jednoho nebo více erodovatelných polymerů, mající gelující vlastnosti a mající v podstatě na pH nezávislou rozpustnost. Neutrální gelující polymer je výhodně přítomný ve formulaci v množství větším než 10 %, ale výhodněji v množstvím větším než 20 % hmotnostních.

Vhodné neutrální gelující polymery zahrnují polyethylenoxid (PEO), deriváty a členy PEO rodiny (například polyethylenglykol (PEG), výhodně nacházející se přirozeně v pevném stavu, o vhodné molekulární hmotnosti nebo viskosity). Pokud se použije jednotlivý neutrální gelující polymer, PEO má výhodně molekulovou hmotnost ≥ 4 miliony, odpovídající viskozitě ve vodném roztoku v rozsahu 1650-5500 mPa.s (nebo 1650-5500 cps; měřeno pro 1% roztok při 25 °C, za použití viskosimetru Brookfield RVF, s vřetenem č. 2, při 2 otáčkách za minutu). Další příklad y vhodných PEO zahrnují PEO o molekulové hmotnosti okolo 5 milionů, odpovídající viskozitě vodného roztoku v rozsahu 5500-7500 mPa.s nebo PEO o molekulové hmotnosti okolo 8 milionů, odpovídající viskozitě vodného roztoku v rozsahu 1000-15000 mPa.s. Tento rozsah zahrnuje hodnoty pro typickou viskozitu roztoku (v cps) měřenou při 25 °C vypočtenou pro tento polymer podle USP 24/NF 19, vyd. 2000, str. 2285-2286. Pokud se použije jednotlivý neutrální gelující polymer, má výhodně vysokou molekulární hmotnost, například okolo 2000, odpovídající viskozitě v rozsahu

2700-3500 mPa.s (nebo 2700-3500 cps), měřeno za použití 50% vodného roztoku (hmotnost/hmotnost) při teplotě 20 °C, za použití kapilárního viskosimetru (Ubbelohde nebo ekvivalentního) [Odkaz: European Pharmacopoeia, 3. vyd., 2000, Dodatek, str. 908-909].

Další vhodné gelující polymery zahrnují deriváty celulózy, jako je hydroxypropylcelulóza (HPMC) nebo hydroxyethylcelulóza (HEC) s vhodně vysokou viskositou (například „HPMC 10000 cps“, „HPMC 15000 cps“, „HEC typu HH“ nebo „HEC typu H“). Pokud se použije jednotlivý neutrální polymer, hydroxypropylmethylcelulóзовý polymer, jako „HPMC 10000 cps“ a „HPMC 15000 cps“, mají zřejmě viskosity 7500-14000 mPa.s (nebo 7500-14000 cps) a 11250-21000 mPa.s (nebo 11250-21000 cps), když se měří při 20 °C v 2% (hmotnost/hmotnost) vodného roztoku, počítáno vzhledem k sušené substanci, za použití kapilárního viskosimetru (Ubbelohde nebo ekvivalentu). Jeden typ hydroxyethylcelulóзовého polymeru, například „Natrosal 250 Pharma, typ HH“ od Hercules Incorporated (Aqualon) vykazuje typickou Brookfieldovu viskositu okolo 20000 mPas, za použití zařízení Brookfield Synchro-Letric Model LVF, při 1% koncentraci, vřetena č. 4, rychlosti otáčení 30 otáček/minutu, faktoru 200, 25 °C (viz Natrosol Physical and Chemical Properties booklet, 33:007-E6 (1993), str. 21).

Zvláštní formulace, které mohou být uvedeny zahrnují ty, ve kterých je sloučenina podle vynálezu formulována společně s jota-karagenem a HPMC (10000 cps) v poměru 50:50 (hmotnostní %) nebo společně s jota-karagenem a PEO 4 miliony v poměru 50:50 (hmotnostně).

Výhodné další pomocné látky v takových formulacích zahrnují mazadla, jako je stearyl-fumarát sodný.

Prostředky podle vynálezu mohou být podávány v různých dávkách v závislosti na chorobě léčeného pacienta a cestě podání.

Sloučeniny podle předloženého vynálezu mohou být také kombinovány a/nebo podávány společně s jakoukoli antitrombotickou látkou s odlišným mechanismem účinku, jako jsou protidestičkové látky kyselina acetylsalicylová, tiklopidin, klopido-^grel; inhibitory receptoru tromboxanu a/nebo inhibitory syntetázy; antagonisté receptoru fibrinogenu; mimetika prostacyklinu a inhibitory fosfodiesterázy a antagonisté ADP-receptoru (P_2T) a inhibitory karboxypeptidázy.

Sloučeniny podle předloženého vynálezu mohou být dále kombinovány a/nebo podávány společně s trombolitiky, jako jsou aktivátor tkáňového plasminogenu (přirozený, rekombinantní nebo modifikovaný), streptokináza, urokináza, prourokináza, anisoylovaný aktivační komplex plasminogen-streptokináza (APSAC), aktivátory plasminogenu ze zvířecích slinných žláz apod., při léčení trombotických nemocí, obzvláště infarktu myokardu.

Podle dalšího aspektu předloženého vynálezu je tedy poskytnut farmaceutický přípravek zahrnující sloučeninu podle tohoto vynálezu ve směsi s farmaceuticky přijatelným adjuvantem, ředidlem nebo nosičem.

Vhodné denní dávky sloučenin podle tohoto vynálezu při terapeutickém použití u lidí jsou okolo 0,001 až 100 mg/kg tělesné hmotnosti při perorálním podání a 0,001 až 50 mg/kg tělesné hmotnosti při parenterálním podání.

Aby nedošlo k pochybnostem, výraz „léčba“ zahrnuje terapeutickou

a/nebo profylaktickou léčbu.

Sloučeniny podle tohoto vynálezu mají tu výhodu, že mohou být účinnější, méně toxické, déle působící, mohou mít širší pole účinnosti, mohou být silněji působící, mohou vést k méně nežádoucím vedlejším účinkům, mohou být snadněji absorbovány a/nebo mají lepší farmakokinetický profil (například vyšší biologickou dostupnost a/nebo nižší klearanci) než sloučeniny dosud známé ve stavu techniky. Sloučeniny podle vynálezu mají další výhodu v tom, že mohou být podávány s menší frekvencí než dosud známé sloučeniny ve stavu techniky.

Biologické testy

Mohou se použít následující testovací postupy

Test A

Stanovení trombinového srážecího času (TT)

Roztok inhibitoru (25 μ l) se 3 minuty inkubuje s plasmou (25 μ l). Potom se přidá lidský trombin (T 6769; Sigma Chem Co nebo Hematologic Technologies) v pufrovaném roztoku, pH 7,4 (25 μ l, 4,0 NIH jednotek/ml) a měří se čas srážení na automatickém přístroji (KC 10; Amelung).

Čas srážení (TT) se vyjádří jako absolutní hodnoty (sekundy) stejně jako poměr TT bez inhibitoru (TT_0) k TT s inhibitorem (TT_i). Posledně uvedené poměry (rozmezí 1 - 0) se vynesou proti koncentraci inhibitoru (převeden logaritmicky) a proloží se se sigmoidálními křivkami dávka-odpověď podle rovnice

$$y = a/[1+(x/IC_{50})^s]$$

kde a = maximální rozmezí, tj. 1; s = sklon křivky dávka-odpověď;
 IC_{50} = koncentrace inhibitoru, která zdvojnásobuje čas srážení.
Výpočty se provedou na PC za použití softwarového programu GraFit
Version 3, přičemž rovnice se nastaví na: start v 0, úplný konec
= 1 (Erithacus Software, Robin Leatherbarrow, Imperial College of
Science, Londýn, UK).

Test B

Stanovení inhibice trombinu pomocí chromogenní robotizované zkoušky

Síla inhibice trombinu se měří pomocí metody chromogenního
substrátu v robotizovaném mikroplotnovém přístroji Plato 3300
(Rosys AG, CH-8634 Hombrechtikon, Švýcarsko), za použití
mikrotitračních poloobjemových ploten s 96 jamkami (Costar,
Cambridge, MA USA, Cat. No 3690). Zásobní roztoky testované látky
v DMSO (72 μ l), 0,1 až 1 mmol/litr se sériově naředí 1:3 (24 + 48
 μ l) v DMSO, aby se získaly různé koncentrace, které se analyzují
jako vzorky při zkoušce. 2 μ l testovacího vzorku se naředí 124 μ l
pufru pro zkoušku a přidá se 12 μ l roztoku chromogenního
substrátu (S-2366, Chromogenix, Mölndal, Švédsko) v pufru ve
zkušebním pufru a konečné 12 μ l roztoku alfa-trombinu (lidský
alfa-trombin, Sigma Chemical Co nebo Hematologic Technologies) ve
zkušebním pufru a vzorky se smísí. Konečné koncentrace stanovení
byly: testovaná látka 0,00068 až 13,3 μ mol/litr, S-2366 0,30
mmol/litr, alfa-trombin 0,020 NIHU/ml. Pro výpočet procenta
inhibice pro testované vzorky se použije zvýšení lineární

absorbance během 40 minut inkubace při 37 °C, ve srovnání se slepým pokusem bez inhibitoru. Robotická hodnota IC_{50} , odpovídající koncentraci inhibitoru, která způsobí 50% inhibici aktivity trombinu, se vypočítá z křivky log koncentrace proti % inhibice.

Test C

Stanovení inhibiční konstanty K_i pro lidský trombin

Stanovení K_i se provedou za použití metody chromogenního substrátu provedené při 37 °C na centrifugálním analyzátoru Cobas Bio (Roche, Basilej, Švýcarsko). Zbytková enzymová aktivita po inkubaci lidského alfa-trombinu s různými koncentracemi testované sloučeniny se stanoví při 3 různých koncentracích substrátu a měří se jako změna optické absorbance při 405 nm.

Roztok testovaných sloučenin (100 μ l; normálně v pufru nebo fyziologickém roztoku obsahujícím BSA 10 g/litr) se smíchají s 200 μ l lidského alfa-trombinu (Sigma Chemical Co.) ve zkušebním pufru (0,05 mol/litr Tris-HCl pH 7,4, iontová síla 0,15 upravená pomocí NaCl) obsahujícím BSA (10 g/litr) a analyzuje se jako vzorky v přístroji Cobas Bio. K 320 μ l substrátu S-2238 (Chromogenix AB, Mölndal, Švédsko) ve zkušebním pufru se přidá 60 μ l vzorku spolu s 20 μ l vody a monitoruje se změna absorbance ($\Delta A/\text{min}$). Konečné koncentrace S-2238 byly 16, 24 a 50 μ mol/litr a trombinu 0,125 NIHU/ml.

K sestrojení Dixonových křivek, tj. diagramů koncentrace inhibitoru proti $1/(\Delta A/\text{min})$, se použije míra reakce v rovnovážném stavu. Pro reversibilní, kompetitivní inhibitory, datové body pro

různé koncentrace substrátů typicky tvoří přímé čáry, které se kříží při $x = -K_i$.

Test D

Stanovení času aktivovaného částečného tromboplastinu (APTT)

APTT se stanoví ve shromážděné lidské plasmě ošetřené citrátem pomoci činidla PTT Automated 5 vyrobeným firmou Stago. K plasmě se přidají inhibitory (10 μ l roztoku inhibitoru na 90 μ l plasmy) a inkubuje se 3 minuty s činidlem APTT, potom se přidá 100 μ l roztoku chloridu vápenatého (0,025M) a APTT se stanoví ve směsi použitím analyzátoru koagulace KC10 (Amelung) podle pokynů výrobce činidla.

Čas srážení se vyjádří jako absolutní hodnoty (sekundy) stejně jako poměr APTT bez inhibitoru ($APTT_0$) k APTT s inhibitorem ($APTT_i$). Posledně uvedené poměry (rozmezí 1 - 0) se vynesou proti koncentraci inhibitoru (převedeno logaritmicky) a proloží se se sigmoidálními křivkami dávka-odpověď podle rovnice

$$y = a/[1+(x/IC_{50})^s]$$

kde a = maximální rozmezí, tj. 1; s = sklon křivky dávka-odpověď; a IC_{50} = koncentrace inhibitoru, která zdvojnásobuje čas srážení. Výpočty se provedou na PC za použití softwarového programu GraFit Version 3, přičemž rovnice se nastaví na: start v 0, úplný konec = 1 (Erithacus Software, Robin Leatherbarrow, Imperial College of Science, Londýn, UK).

IC_{50} APTT je definována jako koncentrace inhibitoru v lidské

plasmě, která zdvojnásobí čas aktivovaného částečného tromboplastinu.

Test E

Stanovení trombinového času ex vivo

Inhibice trombinu po orálním podání sloučenin podle vynálezu rozpuštěných ve směsi ethanol:SolutolTM:voda (5:5:90) se zkoumá na krysách při vědomí, které se 1 nebo 2 dny před experimentem vybaví

katetrem pro odebírání vzorků krve z krkavice. V den experimentu se ve stanovených časech po podání sloučeniny odeberou vzorky krve do plastických zkumavek obsahujících 1 díl roztoku citratu sodného (0,13 mol na litr) a 9 dílů krve. Zkumavky se odstředí, aby se získala plasma chudá na destičky.

50 μ l vzorky plasmy se sráží 100 μ l studeného acetonitrilu.

Vzorky se odstřeďují 10 minut při 4000 otáčkách/minutu. 75 μ l supernatantu se zředí 75 μ l 0,2% kyseliny mravenčí. Analyzují se 10 μ l objemy výsledných roztoků za použití LC-MS/MS a koncentrace inhibitoru trombinu se stanoví standardními křivkami.

Test F

Stanovení klearance plasmy u krysy

Klearance plasmy se zkoumá u samců krys Sprague Dawley.

Sloučeniny se rozpustí ve vodě a podají se jako subkutánní bolusová injekce v dávce 4 μ mol/kg. Vzorky krve se seberou v častých intervalech do 5 hodin po podání. Vzorky krve se

odstředí a plasma se oddělí od krevních buněk a přenesse se do lékovky obsahující citrát (10% finální koncentrace). 50 μ l vzorky plasmy se sráží 100 μ l studeného acetonitrilu. Vzorky se odstřeďují 10 minut při 400 otáčkách za minutu. 75 μ l supernatantu se zředí 75 μ l 0,2% kyseliny mravenčí. 10 μ l objemy vzniklých roztoků se analyzují LC-MS/MS a koncentrace inhibitoru trombinu se stanoví za použití standardních křivek. Plocha pod křivkou koncentrace v plasmě vůči času se určí za použití log/lineárního trapezoidálního pravidla a extrapoluje se na nekonečný čas. Klearance plasmy (CL) sloučeniny se stanoví jako

$$CL = \text{Dávka}/\text{AUC}$$

Hodnoty se uvádějí v ml/min/kg.

Test G

Stanovení stability in vitro

Jaterní mikrosomy se připraví z krys Sprague-Dawley a lidské jaterní vzorky podle SOP (Standard Operating Procedures). Sloučeniny se inkubují při 37 °C při celkové mikrosomové proteinové koncentraci 3 mg/ml v 0,05 mol/l pufru TRIS při pH 7,4, v přítomnosti kofaktorů NADH (2,5 mmol/l) a NADPH (0,8 mmol/l). Počáteční koncentrace sloučeniny je 5 nebo 10 μ mol/l. Vzorky se analyzují 60 minut po začátku inkubace. Enzymová aktivita v sebraném vzorku se bezprostředně zastaví přidáním 20% kyseliny myristové v objemu, odpovídajícímu 3,3 % celkového objemu vzorku. Koncentrace sloučeniny (FINAL CONC) ve vzorku po 60 minutách se stanoví LCMS za použití vzorku sebraném v čase nula jako reference (START CONC). Procenta degradovaného inhibitoru trombinu se vypočtou jako:

$$100 \% \times \frac{[\text{START CONC}] - [\text{FINAL CONC}]}{[\text{START CONC}]}$$

Test H

Arteriální trombotický model

Poškození cévy se indukuje aplikací chloridu železitého (FeCl_3) na karotickou artérii. Krysy se anestetizují intraperitoneální injekcí pentobarbitalu sodného (80 mg/kg; Apoteksbolaget; Umeå, Švédsko), a následnou kontinuální infuzí (12 mg/kg) v průběhu experimentu. Teplota těla krysy se udržuje během experimentu na 38 °C vnějším zahříváním. Experiment začíná s 5 min. kontrolní periodou. Pět minut později se intravenózně podá lidský ^{125}I -fibrinofen (80 kBq; IM53; Amersham International, Buckinghamshire, UK) a použije se jako značkovač pro následné začlenění fibrin(ogenu) do trombu. Proximální konec segmentu karotické artérie se vloží do plastické zkumavky (6 mm; Silastic®; Dow Corning, MI, USA) podélně rozříznuté, obsahující FeCl_3 nasáklý (2 μl ; 55% hmotnost/hmotnost; Merck, Darmstadt, Německo) filtrační papír (průměr 3 mm; 1F; Munktel, Grycksbo, Švédsko). Levá karotidní artérie se vystaví účinkům FeCl_3 na dobu 10 minut a poté se odstraní z plastické zkumavky a nasákne se fyziologickým roztokem. Po 50 minutách se artérie odstraní a promyje se fyziologickým roztokem. Referenční vzorky krve se také odeberou na stanovení ^{125}I -aktivity krve 10 minut po injekci ^{125}I -fibrinogenu a na konci experimentu. ^{125}I -aktivita v referenčních vzorcích krve a cévních segmentech se měří v gama čítači (1282 Compugamma; LKB Wallac Oy, Turku, Finsko) ve stejný den, kdy je proveden experiment. Velikost trombu se určí jako množství ^{125}I -aktivity

začleněné do cévního segmentu vzhledem k ^{125}I -aktivitě v krvi (cpm/mg).

Obecné experimentální podrobnosti

TLC se provádí na silikagelu. Chirální HPLC analýza se provádí za použití kolony 46 mm x 250 mm Chiracel OD s 5 cm předkolonou.

Teplota v koloně se udržuje na 35 °C. Průtoková rychlost je 1,0 ml/minutu. Používá se detektor Gilson 115 UV při 228 nm. Mobilní fáze se skládá z hexanů, ethanolu a kyseliny trifluoroctové a pro každou sloučeninu jsou zaznamenány příslušné poměry. Typicky se produkt rozpustí v minimálním množství ethanolu a ten se zředí s mobilní fází.

LC-MS/MS se provádí za použití zařízení HP-1100, opatřené injektorem CTC-PAL a 5 μm , 4 x 100 mm ThermoQuest, Hypersil BDS-C18 kolonou. Použije se detektor API-3000 (Sciex) MS. Průtoková rychlost je 1,2 ml/min a mobilní fáze obsahuje 10-90 % acetonitrilu s 90-10 % 4 mM vodného octanu amonného, oba obsahují 0,2 % kyseliny mravenčí.

^1H NMR spektra se zaznamenávají za použití tetramethylsilanu jako vnitřního standardu. ^{13}C NMR spektra se zaznamenávají za použití uvedených deuterovaných rozpouštědel jako vnitřní standard.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O}) - \text{Aze} - \text{Pab}(\text{OcBu})$

(i) 3-Chlor-5-methoxybenzaldehyd

3,5-Dichloranisol (74,0 g, 419 mmol) v THF (200 ml) se přidá po kapkách při teplotě 25 °C ke kovovému hořčíku (14,2 g, 585 mmol, předem promytému s 0,5 N HCl) v THF (100 ml). Po přidání se po kapkách přidá 1,2-dibromethan (3,9 g, 20,8 mmol). Vzniklá tmavohnědá směs se zahřívá při zpětném toku po dobu 3 hodin. Směs se ochladí na 0 °C a v jedné dávce se přidá dimethylformamid (60 ml). Směs se rozdělí s diethyletherem (3 x 400 ml) a 6N HCl (500 ml). Spojené organické extrakty se promyjí solankou (300 ml), suší se (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují se ve vakuu a získá se olej. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí Hex:EtOAc (4:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (38,9 g, 54 %) jako žlutý olej.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,90 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 3,87 (s, 3H).

(ii) 3-Chlor-5-hydroxybenzaldehyd

Roztok 3-chlor-5-methoxybenzaldehydu (22,8 g, 134 mmol; viz stupeň (i) shora) v CH_2Cl_2 (250 ml) se ochladí na 0 °C. Poté se přidá po kapkách během 15 minut bromid boritý (15,8 ml, 167 mmol). Reakční směs se míchá 2 hodiny a pomalu se přidá voda (50 ml). Roztok se poté extrahuje s Et_2O (2 x 100 ml). Organické vrstvy se spojí, suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí Hex:EtOAc (4:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (5,2 g, 25 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,85 (s, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,20 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 3,68 (s, 1H)

(iii) 3-Chlor-5-difluormethoxybenzaldehyd

Roztok 3-chlor-5-hydroxybenzaldehydu (7,5 g, 48 mmol; viz stupeň (ii) shora) v 2-propanolu (250 ml) a 30% KOH (100 ml) se zahřívá při zpětném toku. Za míchání se reakční směsí probublává CHClF_2 po dobu 2 hodin. Reakční směs se ochladí, okyselí se 1N HCl a extrahuje se s EtOAc (2 x 100 ml). Organické podíly se promyjí solankou (100 ml) suší se (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí Hex:EtOAc (4:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (4,6 g, 46 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,95 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,40 (s, 1H), 6,60 (t, $J_{\text{H-F}} = 71,1$ Hz, 1H)

(iv) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$

Roztok 3-chlor-5-difluormethoxybenzaldehydu (4,6 g, 22,3 mmol; viz stupeň (iii) shora) v CH_2Cl_2 (200 ml) se ochladí na 0 °C. Přidá se ZnI_2 (1,8 g, 5,6 mmol) a trimethylsilylkyanid (2,8 g, 27,9 mmol) a reakční směs se nechá zahřát na teplotu místnosti a míchá se 15 hodin. Směs se částečně koncentruje ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu jako kapalina, která se použije přímo ve stupni (v) dále bez dalšího čištění nebo charakterizace.

(v) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(NH)OEt}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$ (6,82 g, 22,3 mmol; viz stupeň (iv) shora) se přidá po kapkách ke směsi HCl/EtOH (500 ml). Reakční směs se míchá 15 hodin, poté se částečně koncentruje ve

vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu, jako kapalina, která se použije ve stupni (vi) bez dalšího čištění nebo charakterizace.

(vi) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OEt}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(NH)OEt}$ (6,24 g, 22,3 mmol; viz stupeň (v) shora) se rozpustí v THF (250 ml), přidá se 0,5 M H_2SO_4 (400 ml) a reakční směs se míchá při teplotě 40 °C po dobu 65 hodin, ochladí se a částečně se koncentruje ve vakuu k odstranění většiny THF. Reakční směs se poté extrahuje s Et_2O (3 x 100 ml), suší se (Na_2SO_4), filtruje se a koncentruje se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu jako pevná látka, která se použije ve stupni (vii) bez dalšího čištění nebo charakterizace.

(vii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$

Roztok $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OEt}$ (6,25 g, 22,3 mmol; viz stupeň (vi) shora) v 2-propanolu (175 ml) a 20% KOH (350 ml) se míchá při teplotě místnosti 15 hodin. Reakční směs se poté částečně koncentruje ve vakuu k odstranění většiny 2-propanolu. Zbývající směs se okyselí 1M H_2SO_4 , extrahuje se s Et_2O (3 x 100 ml), suší se (Na_2SO_4) a koncentruje se ve vakuu a získá se pevná látka. Mžíkovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí $\text{CH}_3\text{Cl}:\text{MeOH}:\text{koncentrovaný NH}_4\text{OH}$ (6:3:1) se získá amonná sůl sloučeniny uvedené v podnázvu. Tato amonná sůl se poté rozpustí ve směsi EtOAc (75 ml) a H_2O (75 ml) a okyselí se 2N HCl. Organická vrstva se oddělí a promyje se solankou (50 ml), suší se (Na_2SO_4) a koncentruje se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (3,2 g, 57 % ze stupně (iv) na (vii)).

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,38 (s, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 6,89 (t, $J_{\text{H-F}} = 71,1$ Hz, 1H), 5,16 (s, 1H)

(viii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)}\text{CH(OH)C(O)OH}$ (a) a $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(S)}\text{CH(OAc)C(O)OH}$ (b)

Směs $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R,S)}\text{CH(OH)C(O)OH}$ (3,2 g, 12,7 mmol; viz stupeň (vii) shora) a Lipase PS "Amano" (cca 2,0 g) ve vinylacetátu (125 ml) a MTBE (125 ml) se zahřívá při zpětném toku 48 hodin. Reakční směs se ochladí, filtruje se pře Celit[®] a filtrační koláč se promyje s EtOAc. Filtrát se koncentruje ve vakuu a podrobí se mžikové chromatografii na silikagelu eluováním směsí $\text{CHCl}_3\text{:MeOH:koncentrovaný NH}_4\text{OH}$ (6:3:1) a získá se amonná sůl sloučeniny uvedené v názvu (a) a (b). Sloučenina (a) jako sůl se rozpustí v H_2O , okyselí se s 2N HCl a extrahuje se s EtOAc. Organická vrstva se promyje solankou, suší se (Na_2SO_4), filtruje se a koncentruje se ve vakuu a získá se sloučenina (a) uvedená v podnázvu (1,2 g, 37 %).

Pro sloučeninu (a) podnázvu

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,38 (s, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 6,89 (t, $J_{\text{H-F}} = 71,1$ Hz, 1H), 5,17 (s, 1H)

(ix) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)}\text{CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)}\text{CH(OH)C(O)OH}$ (1,1 g, 4,4 mmol; viz stupeň (viii) shora a H-Aze-Pab(Teoc) (viz mezinárodní patentovou přihlášku WO 00/42059, 2,6 g, 5,7 mmol) v DMF (50 ml) se při teplotě 0 °C přidá PyBOP (2,8 g, 5,3 mmol) a kolidin (1,3 g, 10,6 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C 2 hodiny a poté při

teplotě místnosti dalších 15 hodin. Reakční směs se koncentruje ve vakuu a mžikovou chromatografií na silikagelu (3 x), eluováním nejprve $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (9:1) a poté $\text{EtOAc}:\text{EtOH}$ (20:1) a nakonec eluováním $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (95:5) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (1,0 g, 37 %) jako bílá pevná látka.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ , směs rotamerů) δ 7,79-7,85 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,15-7,48 (m, 5H), 6,89 a 6,91 (t, $J_{\text{H-F}} = 71,1$ Hz, 1H), 5,12 a 5,20 (s, 1H), 4,75-4,85 (m, 1H), 3,97-4,55 (m, 6H), 2,10-2,75 (m, 2H), 1,05-1,15 (m, 2H), 0,09 (s, 9H)
MS (m/z) 611 ($M + 1$)⁺

(x) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu, Teoc)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0,051 g, 0,08 mmol; viz stupeň (ix) shora), se rozpustí ve 3 ml acetonitrilu a přidá se 0,062 g (0,5 mmol) O-cyclobutylhydroxylaminhydrochloridu. Směs se zahřívá na 70 °C po dobu 4,5 hodin. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se rozdělí mezi vodu a ethylacetát. Vodná fáze se extrahuje ještě dvakrát ethylacetátem a spojená organická fáze se promyje s vodou, solankou, suší se (Na_2SO_4), filtruje se a odpaří. Výtěžek: 0,054 g (95 %).

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 8,66-8,50 (m, 1H), 7,45 (d, 2H), 7,29 (m, 3H), 7,15 (m, 2H), 6,88 (t, 1H většinový rotamer), 6,85 (t, 1H menšinový rotamer), 5,18 (s, 1H většinový rotamer), 5,12 (s, 1H menšinový rotamer), 5,16 (m, 1H menšinový rotamer), 4,78 (m, 1H většinový rotamer), 4,70 (m, 1H), 4,50-4,30 (m, 3H), 4,19-3,93 (m, 3H), 2,71-2,44 (m, 1H), 2,34-2,11 (m, 5H), 1,78 (m, 1H), 1,62 (m, 1H), 0,96 (m, 2H), 0,01 (s, 9H)

(xi) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OcBu, Teoc)}$ (0,054 g, 0,08 mmol; viz stupeň (x) shora), se rozpustí v 0,5 ml CH_2Cl_2 a 3 ml TFA. Reakční směs se nechá 60 minut. TFA se odpaří a zbytek se čistí preparativní HPLC. Frakce, které jsou předmětem zájmu se spojí a suší vymrazováním (2 x) a získá se 23 mg sloučeniny uvedené v názvu.

MS (m/z) 536 ($M-1$)⁻; 538 ($M+1$)⁺

¹H-NMR (400 MHz; CD_3OD): δ 7,56 (d, 2H), 7,33 (m, 3H), 7,15 (m, 2H), 6,89 (t, 1H většinový rotamer), 6,86 (t, 1H menšinový rotamer), 5,18 (s, 1H většinový rotamer; a m, 1H menšinový rotamer), 5,11 (s, 1H menšinový rotamer), 4,77 (m, 1H většinový rotamer), 4,58 (m, 1H), 4,42 (m, 2H), 4,34 (m, 1H většinový rotamer), 4,15 (m, 1H většinový rotamer), 4,06 (m, 1H menšinový rotamer), 3,97 (m, 1H menšinový rotamer), 2,66 (m, 1H menšinový rotamer), 2,52 (m, 1H většinový rotamer), 2,33-2,25 (m, 3H), 2,01-2,20 (m, 2H), 1,75 (m, 1H), 1,59 (m, 1H)

¹³C-NMR (100 MHz; CD_3OD) (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery δ 172,4, 172,3, 171,9, 171,4, 152,3

Příklad 2

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)}$

(i) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH, Teoc)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0,148 g, 0,24 mmol; viz příklad 1(ix) shora), se rozpustí v 9 ml acetonitrilu a přidá se 0,101 g (1,45 mmol) hydroxylaminhydrochloridu. Směs se

zahřívá na 70 °C po dobu 2,5 hodin, filtruje se přes Celit[®] a odpaří se. Surový produkt (0,145 g; 75% čistota) se použije přímo v dalším stupni bez čištění.

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH, Teoc)}$ (0,145 g, 0,23 mmol; viz stupeň (i) shora), se rozpustí v 0,5 ml CH_2Cl_2 a 9 ml TFA. Směs se nechá reagovat 60 minut. TFA se odpaří a zbytek se čistí preparativní HPLC. Frakce, které jsou předmětem zájmu se spojí a suší se vymrazováním (2x) a získá se 72 mg (výtěžek 62 % během 2 stupňů) sloučeniny uvedené v názvu.

MS (m/z) 482 ($M - 1$)⁻; 484 ($M + 1$)⁺

¹H-NMR (400 MHz; CD_3OD): δ 7,58 (d, 2H), 7,33 (m, 3H), 7,15 (m, 2H), 6,89 (t, 1H většinový rotamer), 6,86 (t, 1H menšinový rotamer), 5,18 (s, 1H většinový rotamer; a m, 1H menšinový rotamer), 5,12 (s, 1H menšinový rotamer), 4,77 (m, 1H většinový rotamer), 4,42 (m, 2H), 4,34 (m, 1H většinový rotamer), 4,14 (m, 1H většinový rotamer), 4,06 (m, 1H menšinový rotamer), 3,95 (m, 1H menšinový rotamer), 2,66 (m, 1H menšinový rotamer), 2,50 (m, 1H většinový rotamer), 2,27 (m, 1H většinový rotamer), 2,14 (m, 1H menšinový rotamer)

¹³C-NMR (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 172,4, 172,3, 172,0, 171,4 152,3, 152,1

Příklad 3

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0,045 g, 0,074

mmol; viz příklad 1(ix) shora), se rozpustí ve 3 ml TFA a nechá se reagovat 1 hodinu. TFA se odpaří a zbytek se suší vymrazováním ze směsi voda/acetonitril a získá se 0,043 g (100 %) sloučeniny uvedené v podnázvu jako TFA sůl.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,8-7,75 (m, 2H), 7,55-7,5 (m, 2H), 7,35 (m, 1H, většinový rotamer), 7,31 (m, 1H, menšinový rotamer), 7,19 (m, 1H, většinový rotamer), 7,15 (m, 1H), 7,12 (m, 1H, menšinový rotamer), 6,89 (t, 1H, většinový rotamer), 6,87 (t, 1H, menšinový rotamer), 5,22 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,20 (s, 1H, většinový rotamer), 5,13 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,80 (m, 1H, většinový rotamer), 4,6-4,4 (m, 2H), 4,37 (m, 1H, většinový rotamer), 4,19 (m, 1H, většinový rotamer), 4,07 (m, 1H, menšinový rotamer), 3,98 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,70 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,55 (m, 1H, většinový rotamer), 2,29 (m, 1H, většinový rotamer), 2,15 (m, 1H, menšinový rotamer)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 172, 6, 172,5, 172,0, 171,7, 167,0

MS (m/z) 465 ($\text{M} - 1$)⁻, 467 ($\text{M} + 1$)⁺

Příklad 4

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(\text{COO}c\text{Pentyl})$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}$ x TFA (74 mg, 0,13 mmol; viz příklad 3 shora) a cyclopentylchlorformiátu (44 mg, 0,30 mmol) v methylenchloridu (5 ml) se přidá vodný NaOH (0,5 ml, 2M, 1 mmol). Směs se míchá při teplotě místnosti a reake se sleduje s HPLC. Po 2,5 hodinách se přidá voda a kapalná fáze se oddělí. Vodná fáze se extrahuje dvakrát s methylenchloridem. Spojené organické fáze se suší (MgSO_4) a čistí se na silikagelu

(nejprve methylenchloridem a poté EtOAc). Po odstranění rozpouštědla ve vakuu se pevný zbytek rozpustí ve směsi acetonitril/voda a sušením vymrazováním se získá sloučenina uvedená v názvu jako bílá pevná látka. Výtěžek: 33 mg (44 %)

MS (m/z) 579 (M + 1)⁺

¹H NMR (400MHz; CD₃OD): δ 7,79 (d, 2H), 7,43-7,30 (m, 5H), 7,20-7,11 (m, 2H), 6,90 (t, 1H, většinový rotamer), 6,87 (t, 1H, menšinový rotamer), 5,19 (dd, 1H, menšinový rotamer), 5,18 (s, 1H, většinový rotamer), 5,13 (m, 1H), 5,11 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,78 (dd, 1H, většinový rotamer), 4,45 (m, 2H), 4,35 (m, 1H, většinový rotamer), 4,16 (s, 1H, většinový rotamer), 4,06 (s, 1H, menšinový rotamer), 3,97 (s, 1H, menšinový rotamer), 2,68 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,52 (s, 1H, většinový rotamer), 2,28 (s, 1H, většinový rotamer), 2,16 (s, 1H, menšinový rotamer), 1,90 (m, 2H), 1,77 (m, 4H), 1,61 (m, 2H)

¹³C NMR (karbonylové a/nebo amidinové protony; 100 MHz): δ 173,6, 173,1, 172,6, 170,3, 165,6

Příklad 5

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z)

Sloučenina uvedená v názvu se připraví podle postupu popsaném v příkladu 4, vycházejí z Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA (73 mg, 0,13 mmol; viz příklad 3 shora) a benzylchlorformiátu (35 mg, 0,21 mmol). Další čištění HPLC (0,1M octan amonný/MeCN 40/60) s reverzními fázemi je nezbytné. Příslušné frakce se koncentrují ve vakuu a extrahují se s EtOAc. Výtěžek: 24 mg (32 %).

MS (m/z) 602 (M + 1)⁺

¹H NMR (400MHz ; CD₃OD): δ 7,80 (d, 2H), 7,43-7,25 (m, 8H), 7,20-7,10 (m, 2H), 6,90 (t, 1H, většinový rotamer), 6,88 (t, 1H, menšinový rotamer), 5,18 (dd, 1H, menšinový rotamer), 5,18 (s, 2H), 5,17 (s, 1H, rotamer), 5,11 (s, 1H, rotamer), 4,78 (dd, 1H, většinový rotamer), 4,45 (m, 2H), 4,34 (m, 1H, většinový rotamer), 4,15 (s, 1H, většinový rotamer), 4,06 (s, 1H, menšinový rotamer), 3,97 (s, 1H, menšinový rotamer), 2,66 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,51 (s, 1H, většinový rotamer), 2,27 (s, 1H, většinový rotamer), 2,15 (s, 1H, menšinový rotamer)

¹³C NMR (karbonylové a/nebo amidinové protony; 100 MHz): δ 173,6, 173,1, 172,6, 170,5, 164,9

Příklad 6

Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 2-Nitro-5-trifluormethoxybenzoová kyselina

K roztoku 3-trifluormethoxybenzoové kyseliny (49,0 g, 0,24 mol) v kyselině sírové (500 ml) se při méně než 0 °C (lázeň led-MeOH) přidá během 20 minut roztok dusičnanu draselného (31,3 g, 0,31 mol) v kyselině sírové (200 ml). Vzniklý roztok se míchá při teplotě 0 °C po dobu 2 hodin a poté se zahřeje na teplotu místnosti a míchá se 18 hodin. Reakční směs se vlije do ledu a vzniklý kyselý roztok se extrahuje s EtOAc (5x). Spojené organické podíly se promyjí H₂O (1x), solankou (2x), H₂O (1x) a solankou (1x), suší se (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují se ve vakuu a získá se surová sloučenina uvedená v podnázvu (65,7 g) jako pevná látka, znečištěná s HOAc. Tato surová sloučenina se

rozpustí v EtOAc a toluenu a koncentruje se ve vakuu a získá se pevná látka prostá HOAc (58,4 g, 97 %), která se použije v dalším stupni bez čištění.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 10,10 (br s, 1H), 8,02 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,69 (d, 1H, $J = 2$ Hz), 7,54 (dd, 1H, $J = 2$ Hz, $J = 8$ Hz)

(ii) 2-Amino-5-trifluormethoxybenzoová kyselina

K roztoku 2-nitro-5-trifluormethoxybenzoové kyseliny (56,8 g, 0,23 mol; viz stupeň (i) shora) v EtOH (1000 ml) se přidá 10% Pd/C (5,7 g). Vzniklý roztok se proplachuje vodíkem po dobu 5 hodin, filtruje se přes Celit[®] a koncentruje se ve vakuu a získá se surová sloučenina uvedená v podnázvu (49,7 g, 98 %) jako pevná látka, která se použije v příštím stupni bez čištění.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7,66 (m, 1H), 7,17 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 6,77 (d, 1H, $J = 8$ Hz)

(iii) 2-Amino-3-chlor-5-trifluormethoxybenzoová kyselina

K roztoku 2-amino-5-trifluormethoxybenzoové kyseliny (49,0 g, 0,22 mol; viz stupeň (ii) shora) v HOAc (1200 ml) se pomalu přidá sulfurylchlorid (41,8 g, 0,31 mol). Dojde k vývoji plynu. Vzniklá heterogenní směs se míchá při teplotě místnosti 1 hodinu. Za míchání se přidá další HOAc (300 ml) a poté se přidává v 5 ml dávkách další výchozí materiál, dokud se veškerý výchozí materiál nespotřebuje (sledováno TLC). Reakční směs se koncentruje ve vakuu za získání pevné látky, která se propláchně na rotační odpařovačce s EtOAc (2x) a poté s Et_2O (1x), k odstranění HOAc. Vzniklá pevná látka se suší a získá se HCl sůl surové sloučeniny

uvedené v podnázvu (60,5 g, 94 %), která se použije v příštím stupni bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7,72 (s, 1H), 7,44 (s, 1H), 7,22 (s, zaměnitelné)

(iv) 3-Chlor-5-trifluormethoxybenzoová kyselina

K roztoku 2-amino-3-chlor-5-trifluormethoxybenzoové kyseliny (60,5 g, 0,22 mol; viz stupeň (iii) shora) v 1,4-dioxanu (1000 ml) se přidá 6N HCl (750 ml). Některé organické podíly vytvoří olejovou vrstvu. Dioxanový roztok s ochladí na teplotu méně než 0 °C (lázeň led-MeOH). Během 15 minut se přidá z dělicí nálevky roztok dusitanu sodného (18,2 g, 0,26 mol) v H_2O (250 ml). Vzniklý roztok se míchá 45 minut. Pomalu se přidá z dělicí nálevky kyselina fosforná (221,5 ml 50% hmotn. ve vodě, 291,2 g, 2,20 mol). Roztok se míchá při teplotě 0 °C po dobu 1,5 hodiny a poté se zahřeje na teplotu místnosti (pozoruje se vývoj plynu) a míchá se 18 hodin. Surový roztok se přenesse do dělicí nálevky a extrahuje s Et_2O (4x). Spojené organické podíly se extrahují s vodným NaHCO_3 (3x). Bazická vodná vrstva se opatrně okyselí 6N HCl a extrahuje se s CH_2Cl_2 (3x). CH_2Cl_2 extrakty se suší (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují se ve vakuu a získá se surová sloučenina uvedená v podnázvu (26,5 g, 46 % z 3-trifluormethoxybenzoové kyseliny) jako pevná látka, která se použije v dalším stupni bez čištění.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD): δ 7,98 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,58 (s, 1H)

(v) 3-Chlor-5-trifluormethoxybenzylalkohol

K roztoku 3-chlor-5-trifluormethoxybenzoové kyseliny (22,5 g, 93,5 mmol; viz stupeň (iv) shora) v bezvodém THF (1200 ml) se pod atmosférou dusíku a při teplotě místnosti přidá roztok komplexu $\text{BH}_3\cdot\text{THF}$ (140 ml 1M v THF; 140,3 mmol). Roztok se zahřívá při zpětném toku 2 hodiny, ochladí se na teplotu místnosti a míchá se 18 hodin. Poté se opatrně zalije vodou a koncentruje se ve vakuu k odstranění většiny THF. Zbytek se zředí s EtOAc a organické podíly se promyjí solankou (3x), suší se (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují ve vakuu a získá se surová sloučenina uvedená v podnázvu (21,2 g, 100 %) jako olej, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,33 (s, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,14 (s, 1H), 4,72 (s, 2H), 2,05 (br s, 1H)

(vi) 3-Chlor-5-trifluormethoxybenzaldehyd

Roztok DMSO (16,1 g, 205,9 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (300 ml) se ochladí na teplotu -78°C . Pomalu se injekční stříkačkou přidá oxalylchlorid (13,1 g, 103,0 mmol), přičemž dochází k vývoji plynu. Vzniklý roztok se míchá při -75°C po dobu 15 minut. Poté se přidá z dělicí nálevky roztok 3-chlor-5-trifluormethoxybenzylalkoholu (21,2 g, 93,6 mmol; viz stupeň (v) shora v CH_2Cl_2 (200 ml). Zakalený roztok se míchá při -78°C po dobu 48 minut a z dělicí nálevky se přidá během 10 minut DIPEA (60,5 g, 468,0 mmol). Vzniklý homogenní roztok se míchá při teplotě -78°C po dobu 1,5 hodiny, poté se zahřeje na teplotu místnosti a míchá se 18 hodin. Surový roztok se koncentruje ve vakuu, zbytek se zředí s EtOAc a promyje se vodou (1x), 2N HCl (1x), solankou (1x), vodným NaHCO_3 (1x) a solankou (1x). Organické podíly se suší

(Na₂SO₄), filtrují a koncentrují ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (19,9 g, 95 %), která se použije v příštím stupni bez dalšího čištění.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 10,00 (s, 1H), 7,83 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,51 (s, 1H)

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCF₃)(R,S)CH(OTMS)CN

K roztoku 3-chlor-5-trifluormethoxybenzaldehydu (19,9 g, 88,6 mmol; viz stupeň (vi) shora) v CH₂Cl₂ (600 ml) se při teplotě 0 °C přidá ZnI₂ (1,4 g, 4,4 mmol) a trimethylsilylkyanid (9,7 g, 97,5 mmol). Směs se míchá při teplotě 0 °C 1,5 hodiny a při teplotě místnosti 2 hodiny. TLC vykazuje pouze výchozí materiál. Přidává se po částech ZnI₂, dokud reakce probíhá (celkově se přidá více než 30,0 g ZnI₂). Směs se míchá při teplotě místnosti 16 hodin, poté se reakční směs uhasí vodou a organické podíly se oddělí. Organické podíly se suší (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují ve vakuu a získá se surová sloučenina uvedená v podnázvu (27,7 g, 96 %) jako kapalina, která se použije bez dalšího čištění.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,43 (s, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,25 (s, 1H), 5,49 (s, 1H), 0,38 (s, 9H)

(viii) Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Suspenze Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R,S)CH(OTMS)CN (27,7 g, 85,6 mmol; viz stupeň (vii) shora) v koncentrované HCl (300 ml) se zahřívá při zpětném toku 3 hodiny. Vzniklá hnědá heterogenní směs se ochladí na teplotu místnosti a extrahuje se s Et₂O (2x). Původní organické podíly se extrahují s 2N NaOH (2x), bazická vrstva se

okyselí 2N HCl a extrahuje se s Et₂O. Et₂O se suší (Na₂SO₄), filtruje se a koncentruje se ve vakuu a získá se surová sloučenina uvedená v podnázvu (4,9 g, 21 %). TLC analýza původních organických podílů ukazuje, že sloučenina uvedená v podnázvu je dosud přítomná, takže se extrakce a okyselení opakuje za použití 6N NaOH a získá se další surová sloučenina uvedená v podnázvu (2,8 g, 12 %). TLC analýza původních organických podílů ukazuje, že sloučenina uvedená v podnázvu je ještě přítomná, proto se organické podíly suší (Na₂SO₄) a koncentrují se ve vakuu a získá se sodná sůl sloučeniny uvedené v podnázvu (18,3 g) jako olej. Tato sůl se poté znovu rozpustí v Et₂O a organické podíly se okyselí 2N HCl a promyjí se solankou. Vzniklé organické podíly se suší (Na₂SO₄), zpracují se aktivním uhlím, filtrují se přes Celit[®], ošetří se aktivním uhlím, filtrují se přes Celit[®] a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (14,3 g, 62 %) jako pevná látka, která se použije v příštím stupni bez dalšího čištění.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 7,53 (s, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 5,23 (s, 1H)

(ix) Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)OH (a) a Ph(3-Cl)(5-OCF₃)(S)CH(OAc)C(O)OH (b)

Směs Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (7,7 g, 28,5 mmol; viz stupeň (viii) shora) a Lipase PS "Amano" (3,8 g) v MTBE (100 ml) a vinylacetátu (50 ml) se míchá při 60 °C po dobu 26 hodin. Reakční směs se ochladí a filtruje přes Celit[®] a filtrační koláč se promyje s EtOAc. Spojené organické podíly se koncentrují ve vakuu. Mžikovou chromatografií na siliakgelu eluováním směsí CHCl₃:MeOH:koncentrovaný NH₄OH (6:3:1) se získá směs amonné soli sloučeniny (a) uvedené v podnázvu a sloučeniny (b) (6,7 g) a

čistý vzorek amonné soli sloučeniny (a) uvedené v podnázvu (1,2 g) s méně než 95 % e.e. Příslušné frakce se rozpustí v Et₂O a promyjí se 2N HCl (1x) a solankou (1x), suší se (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují a získají se odpovídající karboxylové kyseliny (6,7 g a 1,1 g). Tyto frakce se poté znovu rozpustí a čistí pokud to je nezbytné chromatografií na silikagelu eluováním s CHCl₃:MeOH:koncentrovaný NH₄OH (6:3:1 nebo 75:20:5 nebo 145:45:10) podle potřeby. Čištěná sloučenina (a) uvedená v podnázvu se okyselí vodnou HCl nebo kyselinou citronovou před dalším použitím. Amonná sůl sloučeniny (b) uvedené v podnázvu se použije bez charakterizace.

Pro sloučeninu (a) uvedenou v podnázvu

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 7,53 (s, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,29 (s, 1H), 5,23 (s, 1H)

¹³C NMR (75 MHz, CD₃OD): δ 174,9, 150,9, 145,4, 136,3, 126,8, 122,0, 120,6, 118,9, 72,9

MS (m/z) 269 (M -1)⁻¹

(x) Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Roztok Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)OH (0,73 g, 2,70 mmol; viz stupeň (ix) shora) v DMF (40 ml) se ochladí pod atmosférou dusíku na 0 °C. K roztoku se přidá H-Aze-Pab(Teoc) (1,46 g, 3,24 mmol), kolidin (0,82 g, 6,75 mmol) a PyBOP (1,83 g, 3,51 mmol). Roztok se míchá při teplotě 0 °C 2 hodiny, zahřeje se na teplotu místnosti a míchá se 18 hodin, poté se směs zalije vodou a koncentruje se ve vakuu. Zbytek se zředí s EtOAc a promyje se vodou (1x), vodným NaHCO₃ (1x), vodnou kyselinou citronovou (1x) a solankou (1x), suší se (Na₂SO₄) a koncentruje se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu. Mžikovou chromatografií na silikagelu (2x) eluováním směsí EtOAc:MeOH (30:1) a poté

$\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (93:7) se získá sloučenina uvedená v podnázvu ve formě rozmělnitelné pěny.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů): δ 7,78-7,82 (d, 2H, $J = 8$ Hz), 7,25-7,54 (m, 5H), 5,25 a 5,16 (s, 1H), 5,22 a 4,79 (m, 1H), 3,92-4,58 (m, 6H), 2,20-2,76 (m, 2H), 1,04-1,13 (m, 2H), 0,08 (s, 9H)

MS (m/z) 629 ($M + 1$)⁺

(xi) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}$

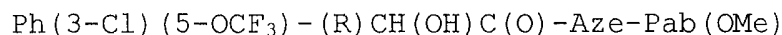
Kyselina trifluoroctová (1,0 ml) se přidá k míchanému ledem a vodou chlazenému roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab-(Teoc)}$ (101 mg; 160 μmol ; viz stupeň (x) shora), v methylenchloridu (10 ml). Chladicí lázeň se po 1 hodině odstaví. Po 1,5 hodině se při teplotě místnosti přidá acetonitril (30 ml) a rozpouštědlo se pomalu odstraní za sníženého tlaku. Zbytek se rozpustí ve vodě a po sušení vymrazováním se získá 90 g (92 %) sloučeniny uvedené v názvu jako sůl TFA.

MS (m/z) 483 ($M - 1$)⁻; 485 ($M + 1$)⁺

^1H NMR (300 MHz; CD_3OD): (komplex způsobený směsí diastereomery/rotamery): δ 7,70-7,80 (m, 2H), 7,45-7,58 (m, 3H), 7,24-7,38 (m, 2H), 5,26 (s, 1H), 5,17 (m, 1H, menšinový rotamer), 4,82 (m, 1H, většinový rotamer), 4,35-4,6 (m, 3H), 4,22 (m, 1H, většinový rotamer), 3,92-4,12 (m, 2H, menšinový rotamer), 2,70 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,55 (m, 1H, většinový rotamer), 2,30 (m, 1H, většinový rotamer), 2,16 (m, 1 H, menšinový rotamer)

^{13}C NMR (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery): δ 173, 7, 173,4, 173,0, 172,8, 168,1

Příklad 7



HATU (71 mg; 0,19 mmol) se přidá k míchanému, ledem chlazenému roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (39 mg; 0,14 mmol; viz příklad 6(ix) shora) v DMF (3 ml). Po 30 minutách se přidá roztok $\text{H-Aze-Pab(OMe)} \times 2\text{HCl}$ (69 mg; 0,21 mmol; viz mezinárodní patentovou přihlášku WO 00/42059) a 2,4,6-kolidin (0,080 ml; 0,58 mmol) v DMF (1,5 ml). Reakční směs se nechá přes noc a teplota se nechá pomalu stoupnout na teplotu okolí. Rozpouštědla se odpaří ve vakuu a surový produkt se čistí HPLC s reverzními fázemi (acetonitril; 0,1M vodný octan amonný) a po sušení vymrazováním se získají vhodné frakce sloučeniny uvedené v názvu (61 mg, 97 %) jako bezbarvá pevná látka.

MS (m/z) 513 ($\text{M}-1$)⁻, 515 ($\text{M}+1$)⁺

¹H NMR (500 MHz; CD₃OD): δ 7,97 (bt, 1H), 7,53 (d, 2H), 7,27 (t, 1H), 7,22 (d, 2H), 7,19 (t, 1H), 7,11 (t, 2H), 6,77 (s, 1H), 4,92 (s, 1H), 4,9 (bs, 3H), 4,81 (m, 2H), 4,40 (m, 2H), 4,09 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 2,58 (m, 1H), 2,37 (m, 1H)

¹³C NMR (125 MHz; CD₃OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky): δ 171,8, 169,9, 156,8

Příklad 8

Paralelní syntézy alkoxyamidinů

Syntézy se provádí v 96-jamkovém Robbinsově bloku. Do jamek obsahujících příslušné množství O-substituovaného hydroxylaminu

(specifikováno dále; všechny jsou komerčně dostupné nebo se připraví známými způsoby) se přidá roztok $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (10 mg; 17 μmol ; viz příklad 6(x) shora) v acetonitrilu (1,0 ml). Blok se uzavře a reakční směs se míchá přes noc v sušárně při teplotě 60 °C. Po ochlazení a filtraci se pevné podíly promyjí acetonitrilem (3 x 0,3 ml). Spojené kapalně frakce se koncentrují ve vakuové odstředivce. Zbytek se rozdělí mezi vodu (0,4 ml) a ethylacetát (0,4 ml). Jakmile extrakce kapalina-kapalina skončí, vše se filtruje přes kolonu HydromatrixTM. Po promytí třikrát s ethylacetátem se spojené filtráty koncentrují ve vakuové odstředivce. Odstranění chránicí skupiny se provede přidáním methylenchloridu (0,1 ml) a kyseliny trifluoroctové (0,3 ml). Směs se míchá při teplotě místnosti 3 hodiny a rozpouštědla se odstraní ve vakuu. Zbytek se rozdělí mezi vodný nasycený hydrogenuhličitán sodný (0,5 ml) a ethylacetát (0,5 ml). Po extrakci, filtraci přes HydromatrixTM a koncentraci (viz dále) se zbytek rozpustí ve směsi izopropanol/voda (7/3) (1 ml). Okolo 2 % tohoto roztoku se odebere a zředí se směsí izopropanol/voda (7/3) (1 ml) pro analýzu LC-MS. Po odstranění rozpouštědel ve vakuu se pevný zbytek přenesení do 96-jamkové plotny za použití acetonitrilu a ethylacetátu, aby došlo k rozpouštění sloučeniny. Rozpouštědla se odpaří na vakuové odpařovače a získají se následující sloučeniny:

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH}_2\text{-3-(5-Me-izoxazol))}$
(z 3-[(aminooxy)methyl]-5-methylizoxazolu x HCl (18 mg; 0,11 mmol)). Výtěžek: 3,64mg (35 %) (MS (m/z) 596 (M + 1)⁺);

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OCH}_2\text{-3-pyridin)}$
(z 3-[(aminooxy)methyl]pyridinu x 2 HCl (19 mg; 96 μmol)).

Výtěžek: 5,14 mg (50 %) (MS (m/z) 592 (M + 1)⁺);

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OiBu)}$

(z O-izobutylhydroxylaminu x HCl (17 mg; 140 μ mol). Výtěžek: 4,4 mg (45 %). MS (m/z) 557 (M + 1)⁺;
Ph(3-Cl) (5-OCF₃) - (R) CH(OH) C(O) -Aze-Pab(OEt)
(z O-ethylhydroxylaminu x HCl (14 mg; 140 μ mol). Výtěžek: 4,04 mg (42 %). MS (m/z) 529 (M+1)⁺;
Ph(3-Cl) (5-OCF₃) - (R) CH(OH) C(O) -Aze-Pab(Obn)
(z O-benzylhydroxylaminu x HCl (17 mg; 110 μ mol). Výtěžek: 3,22 mg (29 %). MS (m/z) 591 (M + 1)⁺;
Ph(3-Cl) (5-OCF₃) - (R) CH(OH) C(O) -Aze-Pab(OcHexyl)
(z O-cyklohexylhydroxylaminu x HCl (15 mg; 99 μ mol). Výtěžek: 2,9 mg (26 %). MS (m/z) 583 (M + 1)⁺;
Ph(3-Cl) (5-OCF₃) - (R) CH(OH) C(O) -Aze-Pab(OcBu)
(z O-cyklobutylhydroxylaminu x HCl (17 mg; 140 μ mol). Výtěžek: 3,3 mg (30 %). MS (m/z) 555 (M + 1)⁺;
Ph(3-Cl) (5-OCF₃) - (R) CH(OH) C(O) -Aze-Pab(OCH₂CH₂OPh(3-CF₃))
(z O-[2-[3-(trifluormethyl)fenoxyl]ethyl]hydroxylaminu x HCl (24 mg; 93 μ mol). Výtěžek: 6,52 mg (46 %). MS (m/z) 689 (M+1)⁺;
Ph(3-Cl) (5-OCF₃) - (R) CH(OH) C(O) -Aze-Pab(Obn(4-Cl))
(z O-(4-chlorbenzyl)hydroxylaminu x HCl (16 mg; 82 μ mol). Výtěžek: 3,47 mg (29 %). MS (m/z) 625 (M + 1)⁺;
Ph(3-Cl) (5-OCF₃) - (R) CH(OH) C(O) -Aze-Pab(Obn(3-MeO))
(z O-(3-methoxybenzyl)hydroxylaminu x HCl (18 mg; 94 μ mol). Výtěžek: 4,33 mg (36 %). MS (m/z) 621 (M+1)⁺;
Ph(3-Cl) (5-OCF₃) - (R) CH(OH) C(O) -Aze-Pab(Obn(2-Br))
(z O-(2-bromobenzyl)hydroxylaminu x HCl (23 mg; 96 μ mol). Výtěžek: 3,87 mg (30 %). MS (m/z) 671 (M + 1)⁺;
Ph(3-Cl) (5-OCF₃) - (R) CH(OH) C(O) -Aze-Pab(Obn(4-Me))
(z O-(4-methylbenzyl)hydroxylaminu x HCl (14 mg; 81 μ mol). Výtěžek: 2,91 mg (25 %). MS (m/z) 605 (M + 1)⁺; a
Ph(3-Cl) (5-OCF₃) - (R) CH(OH) C(O) -Aze-Pab(O-4-heptyl)

(z O-(4-heptyl)hydroxylaminu x HCl (15 mg; 89 μ mol). Výtěžek: 17 mg (100 %). MS (m/z) 599 ($M + 1$)⁺).

Příklad 9

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(S)CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) 3-Chlor-5-methoxybenzoová kyselina

Hořčíkové hoblinky (Fluka purum pro Grignardovy reakce se předem upraví následujícím způsobem: Hoblinky se umístí do nálevky ze slinutého skla a přidá se k nim 0,1 M kyselina chlorovodíková. Hoblinky se míchají několik vteřin skleněnou tyčinkou a poté se kyselina promyje 3 díly vody. Nakonec se hoblinky promyjí 2 díly acetonu a uloží se do lahvičky. Tetrahydrofuran (100 ml, 99,5%) se vysuší přidáním RedAl (1 g, 70% hmotn. v toluenu). Ošetřené hořčíkové hoblinky (5 g, 200 mmol) se vloží do baňky s kulatým dnem a propláchnou se 3x dusíkem. Dichloranisol (26 g, 146 mmol) se rozpustí v THF (100 ml, sušený RedAl) a přidá se dibromethan (10 ml). Reakční směs se propláchně dusíkem a poté se zahřívá při zpětném toku 2 hodiny. Zahřívání se přeruší a během 2 minut se přidá po částech suchý led (10 g). Jakmile se suchý led rozpustí, reakční směs se vlije do ledu obsahujícího kyselinu chlorovodíkovou (400 ml, 2M). Extrakcí (ether, 300 ml) se získá 11,2 g, 60,2 mmol (výtěžek: 41 %) sloučeniny uvedené v podnázvu.

¹H-NMR (500 MHz; aceton-d₆): δ 7,57 (m, 1H), 7,49 (m, 1H), 7,23 (m, 1H), 3,91 (s, 3H)

(ii) 3-Chlor-5-hydroxybenzoová kyselina

Alumina (1,65 g, 60 mmol) a jod (21 g, 82 mmol) se zahřívají při zpětném toku v toluenu (200 ml) po dobu 2 hodin. Přidá se 3-chlor-5-methoxybenzoová kyselina (11,2 g, 60,2 mmol; viz stupeň (i) shora) rozpuštěná v toluenu (50 ml) společně s tetrabutylamoniumjodidem (1,5 g, 4 mmol) a směs se zahřívá při zpětném toku 2 hodiny. Po ochlazení na teplotu okolí se provede extrakce a získá se 8,7 g, 50 mmol (výtěžek: 83 %) sloučeniny uvedené v podnázvu.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; aceton- d_6): δ 9,27 (s, 1H), 7,48 (m, 1H), 7,44 (m, 1H), 7,11 (m, 1H)

(iii) 3-Chlor-5-difluormethoxybenzoová kyselina

3-Chlor-5-hydroxybenzoová kyselina (6,4 g, 37,2 mmol; viz stupeň (ii) shora), rozpuštěná v chloroformu (200 ml) se přenesse do 500 ml tříhrdlé baňky s kulatým dnem opatřené chladičem se suchým ledem a trubicí pro přívod plynu. Za intenzivního míchání se přidá hydroxid sodný (100 ml, 5M). Poté se přidá vstupní trubicí při teplotě okolí po částech chlordifluormethan (Freon 22; 25 g, 290 mmol). Po 2 hodinách je reakce kompletní. Provede se extrakce a získá se 6,2 g, 28 mmol (výtěžek: 75 %) sloučeniny uvedené v podnázvu.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz; aceton- d_6): δ 7,87 (m, 1H), 7,74 (m, 1H), 7,54 (m, 1H), 7,19 (t, 1H, $J_{\text{H-F}}$ 73 Hz)

(iv) 3-Chlor-5-difluormethoxy-N-methoxy-N-methylbenzamid

3-Chlor-5-difluormethoxybenzoová kyselina (1,8 g, 8 mmol; viz stupeň (iii) shora) a oxalylchlorid (1,5 g, 11,8 mmol) se

rozpustí v methylenchloridu (50 ml). Přidá se DMF (2 kapky) a reakční směs se míchá při teplotě okolí 30 minut. Poté se přidá N,O-dimethylhydroxylamin (1 g, 10,2 mmol) a triethylamin (3 g, 30 mmol) a po dalších 10 minutách míchání při teplotě okolí se reakční směs koncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se přenesse do etheru (100 ml) a vody (50 ml). Po oddělení se organická fáze promyje solankou, suší se nad síranem sodným, filtruje se a koncentruje. Zbytek se chromatografuje na silikagelu (hexan/ethylacetát 2:1) a získají se 2 g, 7,5 mmol (93 %) sloučeniny uvedené v podnázvu.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CDCl_3): δ 7,54 (m, 1H), 7,37 (m, 1H), 7,27 (m, 1H), 6,53 (t, 1H, $J_{\text{H-F}}$ 73 Hz)

(v) 3-Chlor-5-difluormethoxyacetofenon

3-Chlor-5-difluormethoxy-N-methoxy-N-methylbenzamid (2 g, 7,5 mmol; viz stupeň (iv) shora) se rozpustí v etheru (100 ml) a ochladí se pod dusíkem na teplotu -70°C . Po kapkách se přidá k reakční směsi během 1 minuty injekční stříkačkou methyllithium (7 ml, 11 mmol, 1,6 M v etheru). Lázeň se suchým ledem se odstaví a směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a poté se reakce uhasí roztokem chloridu amonného (50 ml, 5% NH_4Cl ve vodě). Organická fáze se promyje solankou, suší se nad síranem sodným, filtruje se a koncentruje se za sníženého tlaku. Zbytek se chromatografuje na silikagelu (hexan:ethylacetátu 2:1) a získá se 1,5 g, 6,8 mmol (výtěžek 90 %) sloučeniny uvedené v podnázvu.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz; CDCl_3): δ 7,77 (m, 1H), 7,59 (m, 1H), 7,35 (m, 1H), 6,56 (t, 1H, $J_{\text{H-F}}$ 73 Hz), 2,60 (s, 3H)

(vi) Methylester 3-chlor-5-difluormethoxyfenyloctové kyseliny

3-Chlor-5-difluormethoxyacetofenon (1,5 g, 6,8 mmol; viz stupeň (v) shora) se rozpustí v methylenchloridu (200 ml). Přidá se dusičnan thalitý x 3MeOH na K-10 montmorillonitu (6 g, 10 mmol (cca 0,6 mmol/g); viz J. Am. Chem. Soc., 98, 6750 (1976)) a směs se míchá při teplotě okolí 20 hodin. Směs se filtruje a filtrát se promyje hydrogenuhličitanem sodným (100 ml, 0,5M), suší se nad síranem sodným, filtruje se a koncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se chromatografuje na silikagelu (hexan/ethylacetát 2:1) a získá se 1 g, 4 mmol (výtěžek: 56 %) sloučeniny uvedené v podnázvu.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz; CDCl_3): δ 7,14 (m, 1H), 7,06 (m, 1H), 6,96 (m, 1H), 6,50 (t, 1H, $J_{\text{H-F}}$ 73 Hz), 3,72 (s, 3H), 3,60 (s, 1H)

(vii) Methylester α -formyl-(3-chlor-5-difluormethoxyfenyl)octové kyseliny

Methylester 3-chlor-5-difluormethoxyfenyloctové kyseliny (1 g, 4 mmol; viz stupeň (vi) shora) a methylformiát (1 g, 16 mmol) se rozpustí v etheru (100 ml) a ochladí se v ledové lázni (cca 2 °C). Poté se přidá jemně nakrájený sodík (180 mg, 7,8 mmol) a methanol (1 ml) a směs se nechá v ledové lázni za míchání přes noc. Opatrně se přidá voda (100 ml) a fáze se rozdělí. Vodná fáze se okyselí kyselinou chlorovodíkovou (2M) na pH 1 a extrahuje se s etherem (2 x 100 ml). Extrakt se suší nad síranem sodným, filtruje se a koncentruje se za sníženého tlaku. Zbytek se chromatografuje na silikagelu (hexan:ethylacetátu (1:1)) a získá se 400 mg, 1,4 mmol (výtěžek: 36 %) sloučeniny uvedené v podnázvu.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz): δ 12,10 (d, 1H), 7,32 (d, 1H), 7,11 (m, 1H), 7,07 (m, 1H), 6,94 (m, 1H), 6,51 (t, 1H, $J_{\text{F-H}}$ 73), 3,83 (s, 3H)

(viii) 3-Chlor-5-difluormethoxytropová kyselina

Methylester α -formyl-(3-chlor-5-difluormethoxyfenyl)octové kyseliny (400 mg, 1,4 mmol; viz stupeň (vii) shora) se rozpustí ve směsi THF:methanol (50 ml, 9:1). Přidá se borohydrid sodný a směs se míchá při teplotě okolí 30 minut. Přidá se voda a směs se koncentruje za získání vodné suspenze, která se přenesse do ethylacetátu a vody. Fáze se rozdělí a organická fáze se promyje chloridem sodným (15% ve vodě), suší se nad síranem sodným, filtruje se a koncentruje za sníženého tlaku. Zbytek se rozpustí v methanolu (30 ml) a hydrolyzuje se hydroxidem sodným (1 ml, 10 M) při teplotě okolí po dobu 10 minut. Extrakcí se získá 180 mg, 0,68 mmol (výtěžek: 48 %) sloučeniny uvedené v podnázvu.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz; CDCl_3): δ 7,18 (m, 1H), 7,10 (m, 1H), 7,00 (m, 1H), 6,50 (t, 1H, $J_{\text{F-H}}$ 73), 4,11 (m, 1H), 3,90 (m, 1H), 3,84 (m, 1H)

(ix) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(S)CH(CH}_2\text{OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc}$

3-Chlor-5-difluormethoxytropová kyselina (180 mg, 0,7 mmol; viz stupeň (viii) shora), H-Aze-Pab(Teoc) x HCl (450 mg, 1 mmol) a PyBOP (530 mg, 1 mmol) se rozpustí v DMF (10 ml) a přidá se DIPEA (550 mg, 3,9 mmol). Směs se míchá při teplotě okolí 1 hodinu předtím než byla zředěna solankou (20 ml, 15% NaCl) a extrahuje se s ethylacetátem (40 ml). Extrakt se suší nad síranem sodným, filtruje se a odpaří se do sucha. Zbytek se rozpustí

v methylenchloridu (5 ml) a přidá se kyselina trifluoroctová (5 ml). Po 1 hodině při teplotě okolí se směs diastereomerů odpaří do sucha a zbytek se chromatografuje na koloně s reverzními fázemi (acetonitril:voda (30:70), pufr: octan amonný 0,1M). Sušením vymrazováním se získá 36 mg, 0,067 mmol (výtěžek: 10,4 %) sloučeniny uvedené v názvu.

MS (ES) 481 (M + 1)⁺

¹H-NMR (400 MHz; CDCl₃): δ 7,77 (d, 2H), 7,57 (d, 2H), 7,30 (m, 1H), 7,13 (m, 2H), 6,87 (t, 1H, J_{F-H} 73 Hz), 4,76 (m, 1H), 4,55 (s, 2H), 4,37 (m, 1H), 4,03 (m, 2H), 3,82 (m, 1H), 3,72 (m, 1H), 2,53 (m, 1H), 2,28 (m, 1H), 1,92 (s, 1,5H)

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky) δ 172,3, 171,9, 167,2

Příklad 10

Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 3-Chlor-5-trifluormethoxybenzylmesylát

K roztoku 3-chlor-5-trifluormethoxybenzylalkoholu (6,1 g, 26,9 mmol; viz příklad 6(v) shora) v CH₂Cl₂ (250 ml) se při 0 °C a pod atmosférou dusíku přidá DIPEA (4,2 g, 32,3 mmol) a methansulfonylchlorid (3,4 g, 29,6 mmol). Roztok se míchá při teplotě 0 °C po dobu 1,5 hodiny a zalije se vodou. Organické podíly se oddělí a poté se promyjí s vodou (1x), 1N HCl (1x), vodou (1x) a vodným NaHCO₃ (1x) a poté se suší (Na₂SO₄), filtrují se a koncentrují a získá se sloučenina uvedená v názvu (8,2 g, 99 %) jako olej.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,37 (s, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,18 (s, 1H), 5,23 (s, 2H), 3,07 (s, 3H)

(ii) 3-Chlor-5-trifluormethoxybenzylkyanid

K roztoku 3-chlor-5-trifluormethoxybenzylmesylátu (8,2 g, 26,8 mmol; viz stupeň (i) shora) v DMSO (50 ml) se přidá kyanid sodný (2,6 g, 53,6 mmol). Vzniklý heterogenní roztok se zahřívá na 50 °C a sonifikuje se 1 hodinu. Reakční směs se ochladí a rozdělí se mezi Et_2O a vodu. Organické podíly se promyjí s vodou (2x) a solankou (2x). Spojené vodné fáze se extrahují s Et_2O (1x). Spojené organické podíly se suší (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují se za mírného zahřívání a částečného vakua a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (6,3 g, 100 %), jako načervenalý těkavý olej, který se použije v příštím stupni bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,32 (s, 1H), 7,24 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 3,78 (s, 2H)

(iii) 3-Chlor-5-trifluormethoxyfenyloctová kyselina

K roztoku 3-chlor-5-trifluormethoxybenzylkyanidu (6,3 g, 26,7 mmol; viz stupeň (ii) shora) v 2-propanolu (100 ml) se přidá voda (200 ml) a hydroxid draselný (7,5 g, 133,5 mmol). Roztok se zahřívá při zpětném toku 18 hodin, ochladí se na teplotu místnosti a 2-propanol se odstraní ve vakuu. Vodná fáze se promyje CH_2Cl_2 (2x) a promývací kapaliny se odstraní. Bazická vodná fáze se okyselí 2N HCl a extrahuje se s CH_2Cl_2 (3x). CH_2Cl_2 extrakty se suší (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují se ve vakuu

a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (5,2 g, 76 %) jako olej, který se použije v příštím stupni bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ 7,25 (s, 1H), 7,19 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 3,68 (s, 2H)

(iv) Ethyl-3-chlor-5-trifluormethoxyfenylacetát

K roztoku 3-chlor-5-trifluormethoxyfenyloctové kyseliny (5,2 g, 20,4 mmol; viz stupeň (iii) shora) v EtOH (600 ml) se přidá kyselina sírová (několik kapek). Roztok se zahřívá při zpětném toku 18 hodin, ochladí se na teplotu místnosti, neutralizuje se pevným NaHCO_3 a EtOH se odstraní ve vakuu. Zbytek se zředí s EtOAc, promyje se s vodou (1x), vodným NaHCO_3 (1x) a solankou (1x). Organické podíly se suší (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (5,5 g, 96 %) jako olej, který se použije v příštím stupni bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,24 (s, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 4,13-4,22 (q, $J = 8$ Hz, 2H), 3,63 (s, 2H), 1,24-1,32 (t, $J = 8$ Hz, 3H)

(v) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)\text{-(R,S)CH(CHO)C(O)OEt}$

K roztoku ethyl-3-chlor-5-trifluormethoxyfenylacetátu (4,5 g, 15,9 mmol; viz stupeň (iv) shora) v bezvodém THF (400 ml) se pod atmosférou dusíku a při teplotě menší než 0°C (lázeň ledu a MeOH) přidá ethoxid sodný (4,5 g, 63,6 mmol). Studený roztok se míchá 40 minut a přidá se ethylformiát (8,1 g, 111,3 mmol). Roztok se míchá při 0°C po dobu 30 minut, zahřeje se na teplotu

místnosti a míchá se 2 hodiny. Poté se odstraní THF ve vakuu. Zbytek se zředí s Et₂O a extrahuje se s vodou (1x) a 0,5M NaOH (3x). Vodné extrakty se okyselí 2N HCl a extrahují se s CH₂Cl₂ (3x). Spojené organické podíly se suší (Na₂SO₄), filtrují se a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (3,9 g). Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí Hex:EtOAc (4:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (3,0 g, 61 %) jako olej.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃, směs izomerů) δ 12,30 a 12,25 (s, 1H), 7,39 a 7,34 (s, 1H), 7,21 (s, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 4,27-4,37 (q, J = 8 Hz, 2H), 1,28-1,38 (t, J = 8 Hz, 3H)

(vi) Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R,S)CH(CH₂OH)C(O)OEt

K roztoku Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R,S)CH(CHO)C(O)OEt (3,0 g, 9,66 mmol; viz stupeň (v) shora) v MeOH (200 ml) se při teplotě -10 °C (lázeň ledu a MeOH) přidá po částech během 5 minut borohydrid sodný (0,7 g, 19,32 mmol). Roztok se míchá při teplotě -10 °C po dobu 45 minut a přidá se další borohydrid sodný (0,4 g). Po dalších 15 minutách se reakce uhasí vodným chloridem amonným, slabě se okyselí 2N HCl a MeOH se odstraní ve vakuu. Zbytek se zředí s EtOAc a promyje se vodou (1x), vodným NaHCO₃ (1x) a solankou (1x). Organické podíly se suší (Na₂SO₄), filtrují se a koncentrují se ve vakuu a získá se surová sloučenina uvedená v podnázvu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí Hex:EtOAc (5:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (2,0 g, 66 %) jako olej.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,26 (s, 1H), 7,19 (s, 1H), 7,07 (s,

1H), 4,16-4,28 (m, 2H), 4,04-4,15 (m, 1H), 3,76-3,94 (m, 2H),
2,33 (t, J = 6 Hz, 1H), 1,18-1,30 (t, J = 8 Hz, 3H)

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R,S)CH(CH₂OH)C(O)OH

K roztoku Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R,S)CH(CH₂OH)C(O)OEt (2,0 g, 6,24 mmol; viz stupeň (vi) shora) v THF (50 ml) a vodě (25 ml) se přidá monohydrát hydroxidu lithného (0,5 g, 12,48 mmol). Roztok se míchá při teplotě místnosti 1 hodinu a THF se odstraní ve vakuu. Zbytek se zředí s vodou a poté se promyje CHCl₃ (2x) a promývací kapaliny se odstraní. Bazická vodná vrstva se okyselí 2N HCl a extrahuje se s CHCl₃ (4x). CHCl₃ extrakty se suší (Na₂SO₄), filtrují se a koncentrují se ve vakuu a získá se surová sloučenina uvedená v názvu (1,5 g) jako olej. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí CHCl₃:MeOH:koncentrovaný NH₄OH (gradient od 7,0:2,5:0,5 až 6:3:1) se získá amonná sůl sloučeniny uvedené v podnázvu (1,1 g). Amonná sůl se rozdělí mezi 1N HCl a CHCl₃. Organické podíly se suší (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (také známá jako 3-chlor-5-trifluormethoxytropová kyselina) jako olej (1,1 g, 62 %).

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 7,41 (s, 1H), 7,27 (s, 1H), 7,24 (s, 1H), 4,03 (m, 1H), 3,75-3,87 (m, 2H)

(viii) Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(S)CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (a) a
Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (b)

K roztoku Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R,S)CH(CH₂OH)C(O)OH (0,65 g, 2,28 mmol; viz stupeň (vii) shora) v DMF se při teplotě menší než 0 °C (lázeň ledu a MeOH) přidá H-Aze-Pab(Teoc) (0,90 g, 2,39 mmol),

kolidin (0,71 g, 5,70 mmol) a PyBOP (1,31 g, 2,51 mmol). Vzniklý roztok se míchá při teplotě menší než 0 °C po dobu 1 hodiny, zahřeje se na teplotu místnosti a míchá se 1 hodinu. DMF se odstraní ve vakuu. Zbytek se zředí s EtOAc a promyje se zředěnou vodnou HCl (1x), solankou (1x), vodným NaHCO₃ (1x) a solankou (1x). Organické podíly se suší (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují ve vakuu a získá se surová sloučenina uvedená v podnázvu (2,1 g) jako směs diastereomerů. Mžikovou chromatografií (3x) na silikagelu eluováním nejprve EtOAc:MeOH (95:5) a poté CH₂Cl₂:MeOH (97:3) a nakonec CH₂Cl₂:MeOH (95:5) se získá sloučenina uvedená v podnázvu jako diastereomer (a) (0,51 g, 35 %) a diastereomer (b) (0,45 g, 31 %) jako pěna, kterou lze rozmělnit.

Pro diastereomer sloučeniny (a) podnázvu

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, komplexní směs rotamerů) δ 7,79-7,85 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,22-7,49 (m, 5H), 5,17-4,77 (m, 1H), 4,53-4,18 (m, 4H), 3,58-4,11 (m, 5H), 2,47-2,73 (m, 1H), 2,11-2,34 (m, 1H), 1,08-1,12 (m, 2H), 0,07 (s, 9H)

MS (m/z) 643 (M + 1)⁺

(ix) Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(S)CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(S)CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc), (78 mg, 0,121 mmol; viz stupeň (viii) shora - diastereomer (a)), se rozpustí v 5 ml kyseliny trifluoroctové. Po 10 minutách reakce proběhne a rozpouštědlo se odpaří. Zbytek se suší vymrazováním z vody a acetonitrilu a získá se žádaný produkt. Výtěžek: 70 mg (94 %).

MS (m/z) 483 (M-1)⁻; 485 (M + 1)⁺

¹H-NMR (400 MHz; D₂O) rotamery 1: 1: δ 8,83 (bt, 1H), 7,79 (d, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,43 (d, 2H), 7,35 (m, 1H,

rotamer), 7,28 (m, 1H, rotamer), 7,20 (m, 1H, rotamer), 7,05 (m, 1H, rotamer), 5,22 (m, 1H, rotamer), 4,83 (m, 1H, rotamer), 4,57 (m, 2H, rotamer), 4,38 (m, 2H, rotamer), 4,3-3,7 (m, 5H), 2,77 (m, 1H, rotamer), 2,55 (m, 1H, rotamer), 2,27 (m, 1H)

^{13}C -NMR (100 MHz; D_2O): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 172,9, 172,2, 172,0, 171,8, 166,9

Příklad 11

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3) - (\text{S})\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab(OMe)}$

(i) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3) - (\text{S})\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab(OMe, Teoc)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3) - (\text{S})\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab(Teoc)}$ (100 mg, 0,155 mmol; viz příklad 10(viii) shora), se rozpustí v 12 ml tetrahydrofuranu. Přidá se hydrochlorid O-methylhydroxylaminu (44 mg, 0,53 mmol) a reakční směs se zahřívá na 50 °C přes noc. Reakční směs se odpaří a zbytek se čistí preparativní HPLC ($\text{CH}_3\text{CN}/0,1\text{M NH}_4\text{OAc}$ (70/30)). Příslušné frakce se odpaří a zbytek se rozpustí v malém množství acetonitrilu a vody a suší se vymrazováním. Sušení vymrazováním se ještě jednou opakuje. Výtěžek: 80 mg (76 %) čistého materiálu.

^1H -NMR (400 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,5-7,4 (m, 3H), 7,35-7,2 (m, 4H), 5,15 (m, 1H, menšinový rotamer), 4,74 (m, 1H, většinový rotamer), 4,5-4,25 (m, 3H), 4,2-3,95 (m, 4H), 3,91 (b, 3H), 3,9-3,6 (m, 2H), 2,63 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,50 (m, 1H, většinový rotamer), 2,3-2,1 (m, 1H), 0,95 (m, 2H), 0,02 (s, 9H, většinový rotamer), 0,01 (s, 9H, menšinový rotamer)

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3) - (\text{S})\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab(OMe)}$

Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(S)CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc), (80 mg, 0,12 mmol; viz stupeň (i) shora), se rozpustí v 1 ml methylenchloridu a ochladí se v ledové lázni. Přidá se kyselina trifluoroctová (3 ml) a reakční nádoba se udržuje v ledové lázni dvě hodiny. Směs se odpaří a rozpustí se v ethylacetátu a promyje se třikrát s NaHCO₃ (vodný) a poté vodou a solankou. Organická fáze se suší (Na₂SO₄), filtruje se a odpaří. Zbytek se suší vymražením, z malého množství vody a acetonitrilu. Výtěžek: 60 mg (95 %) čistého produktu.

MS (m/z) 528 (M-1)⁻ ; 531 (M + 1)⁺

¹H-NMR (500 MHz; CD₃OD) rotamery: δ 7,65-7,55 (m, 3H, rotamery), 7,45 (m, 1H, většinový rotamer), 7,4-7,2 (m, 4H), 5,15 (m, 1H, menšinový rotamer), 4,74 (m, 1H, většinový rotamer), 4,5-4,3 (m, 3H), 4,05-3,95 (m, 2H), 3,85 (m, 1H, většinový rotamer), 3,82 (s, 3H, většinový rotamer), 3,81 (s, 3H, menšinový rotamer), 3,73 (m, 1H, většinový rotamer), 3,67 (m, 1H, menšinový rotamer), 3,62 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,63 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,50 (m, 1H, většinový rotamer), 2,24 (m, 1H, většinový rotamer), 2,16 (m, 1H, menšinový rotamer)

¹³C-NMR (125 MHz; CD₃OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 174,0, 173,2, 172,7, 172,6, 155,1

Příklad 12

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (0,40 g, 0,65 mmol;

viz příklad 1(ix) shora), se rozpustí v 20 ml acetonitrilu a přidá se 0,50 g (6,0 mmol) O-methylhydroxylaminhydrochloridu. Směs se zahřívá na 70 °C po dobu 2 hodin. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se rozdělí mezi vodu a ethylacetát. Vodná fáze se extrahuje dvakrát ještě ethylacetátem a spojená organická fáze se promyje vodou, solankou, suší se (Na_2SO_4), filtruje a odpaří. Výtěžek: 0,41 g (91 %).

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CDCl_3): δ 7,83 (bt, 1H), 7,57 (bs, 1H), 7,47 (d, 2H), 7,30 (d, 2H), 7,20 (m, 1H), 7,14 (m, 1H), 7,01 (m, 1H), 6,53 (t, 1H), 4,89 (s, 1H), 4,87 (m, 1H), 4,47 (m, 2H), 4,4-4,2 (b, 1H), 4,17-4,1 (m, 3H), 3,95 (s, 3H), 3,67 (m, 1H), 2,68 (m, 1H), 2,42 (m, 1H) 0,97 (m, 2H), 0,01 (s, 9H).

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe, Teoc)}$ (0,40 g, 0,62 mmol; viz stupeň (i) shora), se rozpustí v 5 ml TFA a nechá se reagovat 30 minut. TFA se odpaří a zbytek se rozdělí mezi ethylacetát a NaHCO_3 (vodný). Vodná fáze se extrahuje ještě dvakrát s ethylacetátem a spojená organická fáze se promyje vodou, solankou, suší se (Na_2SO_4), filtruje se a odpaří. Produkt se suší vymrazováním z vody a acetonitrilu. Další čištění není nutné. Výtěžek: 0,28 g (85%).

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz; CDCl_3): δ 7,89 (bt, 1H), 7,57 (d, 2H), 7,28 (d, 2H), 7,18 (m, 1H), 7,13 (m, 1H), 6,99 (m, 1H), 6,51 (t, 1H), 4,88 (s, 1H), 4,87 (m, 1H), 4,80 (bs, 2H), 4,48 (dd, 1H), 4,43 (dd, 1H), 4,10 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,68 (m, 1H), 2,68 (m, 1H), 2,40 (m, 1H).

^{13}C -NMR (125 MHz; CDCl_3): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 172,9, 170,8, 152,7, 152,6
MS (m/z) 495 ($\text{M}-1$)⁻, 497 ($\text{M}+1$)⁺

Příklad 13

$\text{Ph}(3\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab} \times \text{HOAc}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$ (13 mg, 0,026 mmol; viz příklad 12 shora) se rozpustí v absolutním ethanolu (5 ml) a přidá se 30 mg 10% Pd/C. Nakonec se přidá kyselina octová (5 μl) a směs se hydrogenuje při atmosférickém tlaku 20 hodin. Směs se filtruje přes Celit[®], odpaří se a čistí se HPLC s reverzními fázemi (0,1M vodný octan amonný/MeCN). Příslušné frakce se suší vymrazováním a získá se sloučenina uvedená v názvu ve formě bílé pevné látky: 8,5 mg (66 %).

^1H -NMR (400 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,73-7,78 (m, 2H), 7,55 (d, 2H), 7,19-7,43 (m, 3H), 7,06-7,13 (m, 1H), 6,83 (t, 1H, $J_{\text{HF}} = 74\text{Hz}$, většinový rotamer), 6,81 (t, 1H, většinový rotamer), 5,20 (s, 1H, většinový rotamer), 5,19 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,15 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,78 (m, 1H, většinový rotamer), 4,4-4,6 (několik píků, 2H), 4,35 (m, 1H, většinový rotamer), 4,08 (m, 1H), 3,99 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,70 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,52 (m, 1H, většinový rotamer), 2,30 (m, 1H, většinový rotamer), 2,15 (m, 1H, menšinový rotamer), 1,89 (s, 3H).

^{13}C -NMR (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 173,7, 172,9, 168,3,
MS (m/z) 433 ($\text{M}+1$)⁺; 431 ($\text{M}-1$)⁻

Příklad 14

$\text{Ph}(3\text{-OCF}_3) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab} \times \text{TFA}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab} \times \text{TFA}$ (34 mg, 0,057 mmol, z příkladu 6) se rozpustí v 5 ml ethanolu a přidá se 20 mg 10% Pd/C. Směs se hydrogenuje při atmosférickém tlaku přes noc. Směs se poté filtruje přes Celit[®], odpaří se a suší se vymrazováním z vody a acetonitrilu.

¹H-NMR (400 MHz; CD₃OD) rotamery: δ 7,8-7,7 (m, 2H), 7,55 (m, 2H), 7,5-7,2 (m, 4H), 5,24 (s, 1H, většinový rotamer), 5,23 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,18 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,77 (m, 1H, většinový rotamer), 4,6-4,45 (m, 2H), 4,36 (m, 1H, většinový rotamer), 4,08 (m, 1H), 3,99 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,70 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,52 (m, 1H, většinový rotamer), 2,30 (m, 1H, většinový rotamer), 2,15 (m, 1 H, menšinový rotamer).

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 174,1, 173,9, 173,5, 172,9, 168,2.

¹⁹F NMR (282 MHz; CD₃OD): -59,8 a -59,9 (3F, menšinový, resp. většinový rotamer), -77,4 (3F) indikují, že sůl je TFA.

MS (m/z) 451,3 (M+1)⁺

Příklad 15

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab} \times \text{TFA}$

(i) 3-Chlor-5-trifluorethoxybenzaldehyd

K magneticky míchanému roztoku 3-chlor-5-hydroxybenzaldehydu (2,0 g, 12,8 mmol; viz příklad 1(ii) shora) a uhličitanu draselného (2,3 g, 16,6 mmol) v DMF (35 ml) se pod dusíkem přidá při teplotě

místnosti 2,2,2-trifluorethyl p-toluensulfonát (4,2 g, 16,6 mmol). Směs se zahřívá na 110 °C po dobu 7 hodin a poté se míchá přes noc při teplotě místnosti. Reakční směs se ochladí na 0 °C, vlije se do ledem chlazené 2N HCl (100 ml) a extrahuje se s EtOAc (2 x 75 ml). Spojené organické extrakty se promyjí s 0,5N HCl (2 x 50 ml), suší se (Na₂SO₄), filtrují se a koncentrují ve vakuu. Hnědý olej se chromatografuje na silikagelu eluováním směsí Hex:EtOAc (6:1) a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (1,9 g, 61 %) jako žlutý olej.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9,44 (s, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,33 (s, 1H), 7,28 (s, 1H), 4,42 (q, J = 8 Hz, 2H)

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CF₃)-(R,S)CH(OTMS)CN

K roztoku 3-chlor-5-trifluorethoxybenzaldehydu (5,2 g, 21,7 mmol; viz stupeň (i) shora) a jodidu zinečnatého (1,7 g, 5,4 mmol) v CH₂Cl₂ se přidá po kapkách injekční stříkačkou a při teplotě 0 °C trimethylsilylkyanid (4,3 g, 43,3 mmol). Směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 3 hodin a poté se zředí s vodou (150 ml). Organická vrstva se oddělí, suší (Na₂SO₄), filtruje se a koncentruje se ve vaku a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (6,9 g, 95 %) jako žlutý olej, který se použije bez dalšího čištění.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,27 (s, 1H), 6,98 (s, 2H), 5,44 (s, 1H), 4,38 (q, J = 8 Hz, 2H), 0,30 (s, 9 H)

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Koncentrovaná kyselina chlorovodíková (170 ml) se přidá k Ph(3-

Cl) (5-OCH₂CF₃)-(R,S)CH(OTMS)CN (6,9 g, 20,4 mmol; viz stupeň (ii) shora) a směs se míchá při teplotě 100 °C po dobu 1 hodiny. Po ochlazení na teplotu místnosti se reakční směs dále ochladí na 0 °C a pomalu se alkalizuje s 3N NaOH (300 ml). Tato směs se promyje s Et₂O (2 x 100 ml) a vodná vrstva se okyselí 2N HCl (50 ml). Vodná vrstva se poté extrahuje s EtOAc (2 x 100 ml), suší se (Na₂SO₄), filtruje se a koncentruje ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (5,3 g, 92 %) jako světle žlutý olej, který se použije bez dalšího čištění.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7,18 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 5,13 (s, 1H), 4,58 (q, J = 8 Hz, 2H)

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CF₃)-(R)CH(OH)C(O)OH (a) a Ph(3-Cl)(5-O-CH₂CF₃)-(S)CH(OAc)C(O)OH (b)

Roztok Ph(3-Cl)(5-OCH₂CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (7,06 g, 24,8 mmol; viz stupeň (iii) shora) a Lipase PS "Amano" (4,30 g) ve vinylacetátu (250 ml) a MTBE (250 ml) se zahřívá na 70 °C pod dusíkem po dobu 40 hodin. Reakční směs ochladí na teplotu místnosti, enzym se odstraní filtrací promytím s EtOAc a filtrát se koncentruje ve vakuu. Chromatografií eluováním směsí CHCl₃:MeOH:Et₃N (92:6:2) se získá triethylaminová sůl sloučeniny (a) uvedené v názvu (3,02 g) jako žlutý olej. Tato sůl se rozpustí ve vodě (150 ml), okyselí se 2N HCl a extrahuje se s EtOAc (2 x 75 ml). Spojené organické extrakty se suší (Na₂SO₄), filtrují a koncentrací ve vakuu se sloučenina (a) podnázvu (2,18 g) jako ne zcela bílá pevná látka. Dále, triethylaminová sůl sloučeniny (b) podnázvu (4,73 g) se získá sloupcovou chromatografií uvedenou shora.

Data pro sloučeninu (a) podnázvu:

t.t.: 98 až 103 °C

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,18 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 5,13 (s, 1H), 4,58 (q, $J = 8$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 175,4, 159,6, 144,6, 136,2, 125,0 (q, $J = 277$ Hz), 121,8, 115,9, 113,1, 73,3, 67,0 (q, $J = 35$ Hz)

HPLC analýza: 98,6 %, > 99% ee, Chiralcel OD Column (mobilní fáze 97:3:0,5 Hex:EtOH:TFA)

$[\alpha]_D^{25} = -81, 5^\circ$ ($c = 1,0$, MeOH)

APCI-MS: (M-1) = 283 m/z

(v) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (0,50 g, 1,8 mmol; viz stupeň (iv) shora (sloučenina (a))) v DMF (20 ml) se pod dusíkem a při teplotě 0 °C přidá H-Aze-Pab(Teoc) x HCl (1,03 g, 2,3 mmol), PyBOP (1,01 g, 1,9 mmol), a DIPEA (0,57 g, 4,4 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 2 hodin a poté při teplotě místnosti 20 hodin. Směs se koncentruje ve vakuu a zbytek se chromatografuje dvakrát na silikagelu, eluováním prvně směsí $\text{CHCl}_3\text{:EtOH}$ (10:1) a poté směsí EtOAc:EtOH (10:1) a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (0,55 g, 48 %) jako bílá, rozmělnitelná pěna.

t.t.: 90 až 95 °C

$R_f = 0,42$ (10:1 $\text{CHCl}_3\text{:EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,78-7,81 (m, 2H), 7,38-7,41 (m, 2H), 7,12-7,16 (m, 1H), 7,00-7,06 (m, 2H), 5,09-5,22 a 4,75-4,79 (m, 2H), 3,94-4,61 (m, 8H), 2,09-2,75 (m, 2H), 1,04-1,11 (m, 2H), 0,70 (s, 9H)

APCI-MS: (M + 1) = 643 m/z

(vi) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}$ x TFA

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0,066 g, 0,103 mmol; viz stupeň (v) shora), se rozpustí ve 3 ml TFA a nechá se reagovat po dobu 30 minut. TFA se odpaří a zbytek se suší vymrazováním ze směsi vody a acetonitrilu a získá se 0,060 g (94 %) sloučeniny uvedené v názvu jako její TFA sůl.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,8-7,7 (m, 2H), 7,6-7,5 (m, 2H), 7,2-7,0 (m, 3H), 5,21 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,17 (s, 1H, většinový rotamer), 5,11 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,81 (m, 1H, většinový rotamer), 4,6-4,4 (m, 4H), 4,37 (m, 1H, většinový rotamer), 4,16 (m, 1H, většinový rotamer), 4,06 (m, 1H, menšinový rotamer), 3,99 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,70 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,54 (m, 1H, většinový rotamer), 2,29 (m, 1H, většinový rotamer), 2,15 (m, 1H, menšinový rotamer)

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 172,2, 171,8, 171,7, 167,0.

MS (m/z) 499,3 ($\text{M}+1$)⁺

Příklad 16

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (0,48 g, 1,7 mmol; viz příklad 15(iv) shora sloučenina (a)) v DMF (20 ml) se pod argonem při 0 °C přidá H-Aze-Pab(OMe) x 2HCl (0,74 g, 2,2 mmol), PyBOP (0,97 g, 1,9 mmol), a DIPEA (0,55 g, 4,2 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 2 hodin a poté při teplotě místnosti 20 hodin. Směs se koncentruje ve vakuu a zbytek se

chromatografuje dvakrát na silikagelu eluováním nejprve směsí $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (10:1) a poté směsí $\text{EtOAc}:\text{EtOH}$ (10:1) a získá se sloučenina uvedená v názvu (0,62 g, 69 %) jako bílá rozmělnitelná pěna.

t.t.: 75 až 80 °C

$R_f = 0,43$ (10:1 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,57-7,60 (m, 2H), 7,32-7,36 (m, 2H), 7,13-7,17 (m, 1H), 7,00-7,06 (m, 2H), 5,09-5,19 a 4,74-4,80 (m, 2H), 3,93-4,62 (m, 6H), 3,81 (s, 3H), 2,10-2,73 (m, 2H)

APCI-MS: $(M + 1) = 529$ m/z

Příklad 17

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab} \times \text{TFA}$

(i) 2,2-Difluorethylester methansulfonové kyseliny

K magneticky míchanému roztoku 2,2-difluorethanolu (1,52 g, 18,5 mmol) v CH_2Cl_2 (20 ml) se pod dusíkem přidá při teplotě 0 °C triethylamin (5,61 g, 55,5 mmol) a methansulfonylchlorid (2,54 g, 22,2 mmol). Směs se míchá při 0 °C po dobu 1,5 hodiny, zředí se CH_2Cl_2 (50 ml) a promyje se 2N HCl (50 ml). Vodná vrstva se extrahuje s CH_2Cl_2 (30 ml) a spojené extrakty se promyjí solankou (30 ml), suší se (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (2,52 g, 85 %) jako žlutý olej, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6,02 (tt, $J = 3$ Hz, $J = 55$ Hz, 1H), 4,39 (dt, $J = 3$ Hz, $J = 13$ Hz, 2H), 3,13 (s, 3H)

(ii) 3-Chlor-5-difluorethoxybenzaldehyd

K roztoku 3-chlor-5-hydroxybenzaldehydu (1,50 g, 9,6 mmol; viz příklad 1(ii) shora) a uhličitanu draselného (1,72 g, 12,5 mmol) v DMF (10 ml) se pod argonem při teplotě místnosti a po kapkách přidá roztok 2,2-difluorethylesteru methansulfonové kyseliny (2,0 g, 12,5 mmol; viz stupeň (i) shora) v DMF (10 ml). Směs se zahřívá na 100 °C po dobu 6 hodin a poté se míchá přes noc při teplotě místnosti. Reakční směs se ochladí na 0 °C, vlije se do směsi ledem chlazené 2N HCl (100 ml) a extrahuje se s EtOAc (2 x 75 ml). Spojené organické extrakty se promyjí s 0,5N HCl (2 x 50 ml), suší se (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují se ve vakuu. Hnědý olej se chromatografuje na silikagelu eluováním směsí Hex:EtOAc (5:1) a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (1,35 g, 64 %) jako žlutý olej.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9,92 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,31 (s, 1H), 7,22 (s, 1H), 6,12 (tt, J = 3 Hz, J = 55 Hz, 1H), 4,26 (dt, J = 3 Hz, J = 15 Hz, 2H)

(iii) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R,S)CH(OTMS)CN

K roztoku 3-chlor-5-difluorethoxybenzaldehydu (1,35 g, 6,1 mmol; viz stupeň (ii) shora) a jodidu zinečnatého (0,48 g, 1,5 mmol) v CH₂Cl₂ (50 ml) se přidá po kapkách při teplotě 0 °C a pod dusíkem trimethylsilylkyanid (1,21 g, 12,2 mmol). Směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 3 hodin a poté se zředí s vodou (50 ml). Organická vrstva se oddělí, suší se (Na₂SO₄), filtruje se a koncentruje ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu

(1,85 g, 95 %) jako hnědý olej, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,13 (s, 1H), 6,94 (s, 2H), 6,10 (tt, $J = 3$ Hz, $J = 55$ Hz, 1H), 5,43 (s, 1H), 4,20 (dt, $J = 3$ Hz, $J = 15$ Hz, 2H), 0,28 (s, 9H)

(iv) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$

Koncentrovaná kyselina chlorovodíková (60 ml) se přidá k $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2)\text{-(R,S)CH(OTMS)CN}$ (1,85 g, 5,8 mmol; viz stupeň (iii) shora) a směs se míchá při teplotě 100 °C po dobu 1 hodiny. Po ochlazení na teplotu místnosti se reakční směs dále ochladí na 0 °C a pomalu se alkalizuje s 3N NaOH (cca 180 ml) a promyje se s Et_2O (2 x 75 ml). Vodná vrstva se okyselí s 2N HCl (20 ml) a extrahuje se s EtOAc (2 x 75 ml). Spojené extrakty se suší (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (1,50 g, 97 %) jako světle žlutá pevná látka, která se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,15 (s, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,98 (s, 1H), 6,19 (tt, $J = 4$ Hz, $J = 55$ Hz, 1H), 5,12 (s, 1H), 4,25 (dt, $J = 4$ Hz, $J = 17$ Hz, 2H)

(v) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2)\text{-(S)CH(OAc)C(O)OH}$ (a) a $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (b)

Roztok $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$ (3,90 g, 14,6 mmol; viz stupeň (iv) shora) a Lipase PS "Amano" (2,50 g) ve vinylacetátu (140 ml) a MTBE (140 ml) se zahřívá na 70 °C pod dusíkem po dobu 40 hodin. Reakční směs se ochladí na teplotu místnosti,

enzym se odstraní filtračním promytím s EtOAc a filtrát se koncentruje ve vakuu. Chromatografií na silikagelu eluováním směsí $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Et}_3\text{N}$ (92:6:2), se získá triethylaminová sůl sloučeniny (a) uvedené v podnázvu jako žlutý olej. Dále se získá triethylaminová sůl sloučeniny (b) uvedené v názvu (1,47 g) a sůl se rozpustí ve vodě (100 ml), okyselí se 2N HCl a extrahuje se s EtOAc (2 x 75 ml). Spojeném organické extrakty se suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina (b) uvedená v podnázvu (1,00 g) jako ne zcela bílá pevná látka.

Data pro sloučeninu (b) uvedenou v podnázvu:

t.t. 103 až 106 °C

$R_f = 0,39$ (90:8:2 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Et}_3\text{N}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,13 (s, 1H), 7,04 (s, 1H), 6,97 (s, 1H), 6,17 (tt, $J = 4$ Hz, $J = 55$ Hz, 1H), 5,12 (s, 1H), 4,24 (dt, $J = 4$ Hz, $J = 8$ Hz, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CD_3OD) δ 175,5, 160,3, 144,5, 136,1, 121,3, 115,7, 115,3, (t, $J = 240$ Hz), 112,9, 73,4, 68,6 (t, $J = 29$ Hz)

HPLC analýza: 96,2%, > 95,0% ee, ChiralPak AD Column (95:5:0,5 mobilní fáze Hex:EtOH:TFA)

$[\alpha]_D^{25} = -84, 0^\circ$ ($c=0, 85$ MeOH)

APCI-MS: ($M - 1$) = 265 m/z

(vi) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{Teoc})$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (0,35 g, 1,3 mmol; viz stupeň (v) shora (sloučenina (b))) v DMF (18 ml) se pod dusíkem a při teplotě 0 °C přidá H-Aze-Pab(Teoc) x HCl (0,76 g, 1,7 mmol), PyBOP (0,75 g, 1,4 mmol), a DIPEA (0,43 g, 3,3 mmol). Reakční směs se míchá při 0 °C po dobu 2 hodiny a poté při

teplotě místnosti po dobu 20 hodin. Směs se koncentruje ve vakuu a zbytek se chromatografuje na silikagelu eluováním nejprve směsí $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (10:1) a poté směsí $\text{EtOAc}:\text{EtOH}$ (10:1) a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (0,69 g, 84 %) jako rozmělnitelná pěna.

t.t.: 108 až 118 °C

$R_f = 0,48$ (10:1 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,78-7,81 (m, 2H), 7,40-7,43 (m, 2H), 7,09-7,12 (m, 1H), 6,96-7,02 (m, 2H), 6,16 (t, $J = 57$ Hz, 1H), 5,09-5,20 a 4,75-4,80 (m, 2H), 3,95-4,55 (m, 8H), 2,10-2,75 (m, 2H), 1,04-1,11 (m, 2H), 0,07 (s, 9H)

APCI-MS: $(M + 1) = 625$ m/z

(vii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}$ x TFA

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0,086 g, 0,138 mmol; viz stupeň (vi) shora), se rozpustí ve 3 ml TFA a nechá se reagovat 1 hodinu. TFA se odpaří a zbytek se suší vymrazováním z vody a acetonitrilu a získá se 0,080 g (98 %) sloučeniny uvedené v názvu jako TFA sůl.

^1H -NMR (300 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,8-7,7 (m, 2H), 7,6-7,5 (m, 2H), 7,15-6,95 (m, 3H), 6,35-5,95 (m, 1H), 5,20 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,14 (s, 1H, většinový rotamer), 5,10 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,80 (m, 1H, většinový rotamer), 4,6-4,0 (m, 6H), 2,70 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,53 (m, 1H, většinový rotamer), 2,29 (m, 1H, většinový rotamer), 2,15 (m, 1H, menšinový rotamer).

^{13}C -NMR (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 174,0, 173,8, 173,4, 172,9, 168,2

MS (m/z) 481,2 (M+1)⁺

Příklad 18

Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

K roztoku (3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (0,30 g, 1,7 mmol; viz příklad 17(v) shora (sloučenina (b))) v DMF (15 ml) se přidá pod argonem při teplotě 0 °C H-Aze-Pab(OMe) x 2HCl (0,49 g, 1,5 mmol), PyBOP (0,65 g, 1,2 mmol), a DIPEA (0,36 g, 2,8 mmol).

Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 2 hodin a poté při teplotě místnosti 20 hodin. Směs se koncentruje ve vakuu a zbytek se chromatografuje třikrát na silikagelu, eluováním nejprve směsí CHCl₃:EtOH (10:1), poté EtOAc:EtOH (10:1) a konečně CHCl₃:MeOH (20:1) a získá se sloučenina uvedená v názvu (0,47 g, 81 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

t.t. 65 až 75 °C

R_f = 0,37 (10:1 CHCl₃:EtOH)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD, komplexní směs rotamerů) δ 7,58-7,60 (m, 2H), 7,32-7,35 (m, 2H), 7,09-7,12 (m, 1H), 6,96-7,02 (m, 2H), 6,16 (t, J = 55 Hz, 1H), 5,08-5,18 a 4,74-4,80 (m, 2H), 3,96-4,50 (m, 6H), 3,80 (s, 3H), 2,10-2,75 (m, 2H)

APCI-MS: (M + 1) = 511 m/z.

Příklad 19

Ph(3-Cl)(5-OCH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) Ph(3-Cl)(5-TMSO)-(R,S)CH(OTMS)CN

K roztoku 3-chlor-5-hydroxybenzaldehydu (9,8 g, 62,6 mmol; viz příklad 1(ii) shora) a ZnI_2 (5,0 g, 15,7 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (500 ml) se při teplotě 0 °C přidá trimethylsilylkyanid (13,7 g, 138 mmol). Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se přes noc. Přidá se voda (250 ml) a vrstvy se oddělí. Vodná vrstva se extrahuje s CH_2Cl_2 (2 x 300 ml). Spojené organické extrakty se suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (16,9 g, 83 %) jako žlutý olej, který se použije bez dalšího čištění.

$R_f = 0,42$ (3:1 Hex:EtOAc)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,06 (s, 1H), 6,86 (s, 2H), 5,40 (s, 1H), 0,30 (s, 9H), 0,24 (s, 9H).

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OH})-(R,S)\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OH}$

Roztok $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OTMS})-(R,S)\text{CH}(\text{OTMS})\text{CN}$ (22,6 g, 68,8 mmol; viz stupeň (i) shora) v koncentrované kyselině chlorovodíkové (200 ml) se zahřívá při zpětném toku pod dusíkem 3 hodiny. Reakční směs se ochladí na 0 °C a alkalizuje se pomalu 2N NaOH. Směs se promyje s Et_2O (3 x 100 ml), aby se odstranily organické nečistoty. Vodná vrstva se okyselí 2N HCl a extrahuje se s EtOAc (3 x 200 ml). Spojené organické extrakty se suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (9,3 g, 67 %) jako hnědý olej, který se použije bez dalšího čištění.

$R_f = 0,23$ (6:3:1 CHCl_3 :MeOH:koncentrovaný NH_4OH)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,05 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,73 (s, 1H), 5,03 (s, 1H).

(iii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OH})-(R,S)\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OEt}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OH})-(R,S)\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (9,3 g, 46,0 mmol; viz stupeň (ii) shora) v absolutním EtOH (200 ml) se přidá koncentrovaná kyselina sírová (0,25 ml) a reakční směs se zahřívá při zpětném toku pod dusíkem 4 hodiny. Reakční směs se ochladí na 0 °C a přidá se pevný NaHCO_3 (0,2 g). Reakční směs se koncentruje ve vakuu a rozdělí se mezi nasycený NaHCO_3 (100 ml) a Et_2O (3 x 50 ml). Spojené organické extrakty se suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (6,9 g, 65 %) jako žlutý olej, který se použije bez dalšího čištění.

$R_f = 0,62$ (6:3:1 CHCl_3 :MeOH:koncentrovaný NH_4OH).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6,99 (s, 1H), 6,81 (s, 2H), 5,07 (s, 1H), 4,16-4,32 (m, 2H), 1,23 (t, $J = 7$ Hz, 3H).

(iv) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})-(R,S)\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OEt}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OH})-(R,S)\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OEt}$ (6,1 g, 26,8 mmol; viz stupeň (iii) shora) v DMF (100 ml) v utěsněné nádobě se pod dusíkem a při teplotě 0 °C přidá uhličitán cesný (13,1 g, 40,2 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 15 minut a poté se přidá jodid draselný (0,5 g, 2,7 mmol). Reakční směs se ochladí na teplotu -78 °C a nádobou se probublává chlorfluormethan (18,4 g, 268 mmol). Utěsněná nádoba se poté nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se 18 hodin. Směs se ochladí na 0 °C, opatrně se odvětrá k odstranění přebytku chlorfluormethanu a rozdělí se vodou (20 ml) a Et_2O (3 x 50 ml). Spojené organické podíly se promyjí solankou (2 x 50 ml), suší se (Na_2SO_4),

filtrují a koncentrují se ve vakuu. Mžíkovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí Hex:EtOAc (gradient 9:1 až 3:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (2,4 g, 35 %) jako světle žlutý olej. Poznámka: Sloučenina je slabě uv-viditelná na TLC. Může být detekovatelná napuštěním TLC bromkresolovou zelení.

$R_f = 0,46$ (2:1 Hex:EtOAc)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,21 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 7,05 (s, 1H), 5,70 (d, $J_{\text{H-F}} = 54$ Hz, 2H), 5,12 (d, $J = 5$ Hz, 1H), 3,80-4,35 (m, 2H), 3,50 (d, $J = 5$ Hz, 1H), 1,26 (t, $J = 7$ Hz, 3H).

(v) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})-(R,S)\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OH}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})-(R,S)\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OEt}$ (1,8 g, 6,8 mmol; viz stupeň (iv) shora) ve směsi vody a THF (30 ml, 1:2) se při 0 °C pod dusíkem přidá monohydrát hydroxidu lithného (0,40 g, 10,3 mmol). Směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 2 hodin. Reakční směs se koncentruje ve vakuu a rozdělí se vodou (5 ml) a Et_2O (2 x 20 ml). Vodná vrstva se opatrně okyselí 0,2N HCl při teplotě 0 °C a extrahuje se s EtOAc (3 x 30 ml). Spojené organické podíly se suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (1,4 g, 87 %) jako bezbarvý olej, který stáním tuhne na bílou pevnou látku.

$R_f = 0,43$ (6:2:1 CHCl_3 :MeOH: Et_3N)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,24 (s, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 5,78 (d, $J_{\text{H-F}} = 54$ Hz, 2H), 5,13 (s, 1H).

(vi) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})-(R)\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (a) a $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})-(S)\text{CH}(\text{OAc})\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (b)

Směs $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$ (3,2 g, 13,9 mmol; viz stupeň (v) shora) a Lipase PS "Amano" (1,9 g) ve vinylacetátu (150 ml) a MTBE (150 ml) se zahřívá na 70 °C pod atmosférou dusíku po dobu 3 dnů. Reakční směs se ochladí, filtruje se přes Celit[®] a filtrační koláč se promyje s EtOAc. Filtrát se koncentruje ve vakuu a podrobí se mžikové chromatografii na silikagelu eluováním směsí $\text{CHCl}_3\text{:MeOH:Et}_3\text{N}$ (15:1:0,5) a získá se triethylaminová sůl sloučeniny (a) uvedené v podnázvu (0,50 g, 21 %), která se použije bez neutralizace. Dále se získá sloučenina (b) uvedená v podnázvu (0,46 g, 20 %).

Data pro sloučeninu (a) podnázvu:

$R_f = 0,19$ (15:1:0,5 $\text{CHCl}_3\text{:MeOH:Et}_3\text{N}$)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 7,26 (s, 1H), 7,18 (s, 1H), 6,97 (s, 1H), 5,74 (d, $J_{\text{H-F}} = 54$ Hz, 2H), 4,81 (s, 1H), 3,17 (q, $J = 7$ Hz, 6H), 1,28 (t, $J = 7$ Hz, 9H).

Data pro sloučeninu (b) podnázvu:

$R_f = 0,33$ (15:1:0,5 $\text{CHCl}_3\text{:MeOH:Et}_3\text{N}$)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) δ 7,28 (s, 1H), 7,19 (s, 1H), 7,09 (s, 1H), 5,76 (d, $J_{\text{H-F}} = 54$ Hz, 2H), 5,75 (s, 1H), 3,17 (q, $J = 7$ Hz, 6H), 2,16 (s, 3H), 1,28 (t, $J = 7$ Hz, 9H).

(vii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)})$

K roztoku triethylaminové soli $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (0,50 g, 1,50 mmol; viz stupeň (vi) shora) a $\text{HAze-Pab(Teoc).HCl}$ (0,87 g, 1,90 mmol) v suchém DMF (15 ml) se pod argonem a při teplotě 0 °C přidá PyBOP (0,85 g, 2,60 mmol) a DIPEA (0,48 g, 3,70 mmol). Reakční směs se zahřeje na teplotu místnosti a míchá

se přes noc. Reakční směs se koncentruje ve vakuu a mžikovou chromatografií na silikagelu, eluováním nejprve směsí $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (9:1) a poté směsí $\text{EtOAc}:\text{EtOH}$ (20:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (0,23 g, 26 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

t.t.: 88 až 92 °C

$R_f = 0,61$ (9:1 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,81 (d, $J = 8$ Hz, 2H); 7,40-7,42 (m, 2H), 7,06-7,23 (m, 3H), 5,76 (d, $J_{\text{H-F}} = 51$ Hz, 2H), 5,10-5,16 a 4,77-4,83 (m, 2H), 3,80-4,49 (m, 6H), 2,30-2,53 (m, 2H), 1,08 (t, $J = 7$ Hz, 2H), 0,08 (s, 9H).

APCI-MS ($M + 1$) = 593 m/z

(viii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab} \times \text{TFA}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0,051 g, 0,086 mmol; viz stupeň (vii) shora), se rozpustí ve 3 ml TFA a nechá se reagovat 20 minut. TFA se odpaří a zbytek se suší vymrazováním ze směsi vody a acetonitrilu. Produkt vykazuje 95% čistotu s 5% obsahem defluormethylovaného materiálu. Pokusy o čištění preparativní RPLC směsí $\text{CH}_3\text{CN}:0,1\text{M NH}_4\text{OAc}$ selžou a materiál, částečně jako acetát se rozpustí v 5 ml TFA, odpaří se a sušením vymrazováním se získá 26 mg (51 %) sloučeniny uvedené v názvu jako její TFA sůl. Čistota: 95 %.

^1H -NMR (600 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,8-7,7 (m, 2H), 7,6-7,5 (m, 2H), 7,21 (s, 1H, většinový rotamer), 7,17 (s, 1H, menšinový rotamer), 7,13 (s, 1H, většinový rotamer), 7,09 (s, 1H, menšinový rotamer), 7,07 (m, 1H, většinový rotamer), 7,04 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,73 (d, 2H), 5,18 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,16 (s, 1H, většinový rotamer), 5,09 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,78 (m,

1H, menšinový rotamer), 4,56 (d, 1H, většinový rotamer), 4,50 (d, 1H, menšinový rotamer), 4,46 (d, 1H, menšinový rotamer), 4,45 (d, 1H, většinový rotamer), 4,35 (m, 1H, většinový rotamer), 4,14 (m, 1H, většinový rotamer), 4,05 (m, 1H, menšinový rotamer), 3,97 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,68 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,52 (m, 1H, většinový rotamer), 2,28 (m, 1H, většinový rotamer), 2,19 (m, 1H, menšinový rotamer).

^{13}C -NMR (150 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 173,9, 173,3, 172,9, 168,2.

ESI-MS+: (M+1) = 449 (m/z)

Příklad 20

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OMe})$

K roztoku triethylaminové soli $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (0,60 g, 1,80 mmol; viz příklad 19(vi)) a $\text{HAze-Pab}(\text{OMe})\cdot 2\text{HCl}$ (0,79 g, 2,30 mmol) v DMF (15 ml) se pod atmosférou dusíku při teplotě 0 °C přidá PyBOP (1,04 g, 1,90 mmol) a DIPEA (0,58 g, 4,50 mmol). Reakční směs se nechá ohřát na teplotu místnosti a míchá se přes noc. Reakční směs se koncentruje ve vakuu mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním nejprve směsí $\text{CHCl}_3\text{:EtOH}$ (9:1) a poté dvakrát směsí EtOAc:EtOH (20:1) a získá se sloučenina uvedená v názvu (0,22 g, 26 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

t.t: 66 až 70 °C

R_f = 0,45 (9:1 $\text{CHCl}_3\text{:EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,59 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,32 (d, J = 7 Hz, 2H), 7,06-7,23 (m, 3H), 5,75 (s, $J_{\text{H-F}}$

= 54 Hz, 1H), 5,10-5,16 a 4,78-4,84 (m, 2H), 4,11-4,45 (m, 4H), 3,80 (s, 3H), 2,10-2,75 (m, 2H).

^{13}C -NMR (150 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 173, 0, 170,8, 170,7, 152,5.

APCI-MS: $(M + 1) = 479 \text{ m/z}$

Příklad 21

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab} \times \text{TFA}$

(i) (2-Monofluorethyl)methansulfonát

K magneticky míchanému roztoku 2-fluorethanolu (5,0 g, 78,0 mmol) v CH_2Cl_2 (90 ml) se pod dusíkem přidá při teplotě 0 °C triethylamin (23,7 g, 234 mmol) a methansulfonylchlorid (10,7 g, 93,7 mmol). Směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 1,5 hodiny, zředí se CH_2Cl_2 (100 ml) a promyje se 2N HCl (100 ml). Vodná vrstva se extrahuje s CH_2Cl_2 (50 ml) a spojené organické extrakty se promyjí solankou (5 ml), suší se (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (9,7 g, 88 %) jako žlutý olej, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4,76 (t, $J = 4 \text{ Hz}$, 1H), 4,64 (t, $J = 4 \text{ Hz}$, 1H), 4,52 (t, $J = 4 \text{ Hz}$, 1H), 4,43 (t, $J = 4 \text{ Hz}$, 1H), 3,09 (s, 3H).

(ii) 3-Chlor-5-monofluorethoxybenzaldehyd

K roztoku 3-chlor-5-hydroxybenzaldehydu (8,2 g, 52,5 mmol, viz příklad 1(ii) shora) a uhličitanu draselného (9,4 g, 68,2 mmol) v DMF (10 ml) se pod argonem přidá po kapkách a při teplotě

místnosti roztok (2-monofluorethyl)methansulfonátu (9,7 g, 68,2 mmol; stupeň (i) shora) v DMF (120 ml). Směs se zahřívá na teplotu 100 °C po dobu 5 hodin a poté se míchá při teplotě místnosti přes noc. Reakční směs se ochladí na 0 °C, vlije se do ledem chlazené 2N HCl a extrahuje se s EtOAc. Spojené organické extrakty se promyjí solankou, suší se (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují ve vakuu. Hnědý olej se chromatografuje na silikagelu eluováním směsí Hex:EtOAc (4:1) a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (7,6 g, 71 %) jako žlutý olej.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 9,92 (s, 1H), 7,48 (s, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,21 (s, 1H), 4,87 (t, J = 4 Hz, 1H), 4,71 (t, J = 3 Hz, 1H), 4,33 (t, J = 3 Hz, 1H), 4,24 (t, J = 3 Hz, 1H).

(iii) Ph(3-Cl)(S-OCH₂CH₂F)-(R,S)CH(OTMS)CN

K roztoku 3-chlor-5-monofluorethoxybenzaldehydu (7,6 g, 37,5 mmol; viz stupeň (ii) shora) a jodidu zinečnatého (3,0 g, 9,38 mmol) v CH₂Cl₂ (310 ml) se přidá po kapkách a při teplotě 0 °C pod dusíkem trimethylsilylkyanid (7,4 g, 75,0 mmol). Směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 3 hodin a při teplotě místnosti přes noc. Reakční směs se zředí s vodou (300 ml), organická vrstva se oddělí, suší (Na₂SO₄), filtruje se a koncentruje ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (10,6 g, 94 %) jako hnědý olej, který se použije bez dalšího čištění nebo charakterizace.

(iv) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

100 ml koncentrované kyseliny sírové se přidá k Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R,S)CH(OTMS)CN (10,6 g, 5,8 mmol; viz stupeň (iii) shora) a roztok se míchá při teplotě 100 °C po dobu 3 hodin. Po

ochlazení na teplotu místnosti se reakční směs dále ochladí na 0 °C, alkalizuje se pomalu 3N NaOH (cca 300 ml) a promyje se Et₂O (3 x 200 ml). Vodná vrstva se okyselí 2N HCl (80 ml) a extrahuje se s EtOAc (3 x 300 ml). Spojené EtOAc extrakty se suší (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (8,6 g, 98 %) jako světle žlutá pevná látka, která se použije bez dalšího čištění.

R_f = 0,28 (90:8:2 CHCl₃:MeOH:koncentrovaný NH₄OH)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7,09 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,93 (s, 1H), 5,11 (s, 1H), 4,77-4,81 (m, 1H), 4,62-4,65 (m, 1H), 4,25-4,28 (m, 1H), 4,15-4,18 (m, 1H).

(v) Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R,S)CH(OAc)C(O)OH (a) a Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)OH (b)

Roztok Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (8,6 g, 34,5 mmol; viz stupeň (iv) shora) a Lipase PS "Amano" (4,0 g) ve vinylacetátu (250 ml) a MTBE (250 ml) se zahřívá na 70 °C pod dusíkem po dobu 3 dnů. Reakční směs se ochladí na teplotu místnosti a enzym se odstraní filtrací přes Celit[®]. Filtrační koláč se promyje s EtOAc a filtrát se koncentruje ve vakuu. Chromatografií na silikagelu eluováním směsí CHCl₃:MeOH:Et₃N (90:8:2) se získá triethylaminová sůl sloučeniny (a) uvedené v podnázvu jako žlutý olej. Dále se může získat sůl triethylaminové sloučeniny (b) (4,0 g) uvedené v podnázvu. Sloučenina (b) podnázvu se rozpustí ve vodě (250 ml), okyselí se 2N HCl a extrahuje se s EtOAc (3 x 200 ml). Spojené organické extrakty se suší (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují ve vakuu a získá se sloučenina (b) (2,8 g, 32 %) uvedená v podnázvu jako žlutý olej.

Data pro sloučeninu (b) podnázvu:

$R_f = 0,28$ (90:8:2 CHCl_3 :MeOH: koncentrovaný NH_4OH)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,09 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,93 (s, 1H), 5,11 (s, 1H), 4,77-4,81 (m, 1H), 4,62-4,65 (m, 1H), 4,25-4,28 (m, 1H), 4,15-4,18 (m, 1H).

(vi) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (940 mg, 3,78 mmol; viz stupeň (v) shora) v DMF (30 ml) se pod dusíkem při teplotě 0 °C přidá $\text{HAze-Pab(Teoc).HCl}$ (2,21 g, 4,91 mmol), PyBOP (2,16 g, 4,15 mmol), a DIPEA (1,22 g, 9,45 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C 2 hodiny a poté při teplotě místnosti 4 hodiny. Směs se koncentruje ve vakuu a zbytek se chromatografuje dvakrát na silikagelu, eluováním nejprve směsí CHCl_3 :EtOH (15:1) a poté směsí EtOAc:EtOH (20:1) a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (450 mg, 20 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

t.t: 80 až 88 °C

$R_f = 0,60$ (10:1 CHCl_3 :EtOH)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,79 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,42 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,05-7,08 (m, 1H), 6,93-6,99 (m, 2H), 5,08-5,13 (m, 1H), 4,75-4,80 (m, 2H), 4,60-4,68 (m, 1H), 3,95-4,55 (m, 8H), 2,10-2,75 (m, 2H), 1,05-1,11 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

APCI-MS: $(M + 1) = 607$ m/z.

(vii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab} \times \text{TFA}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0,357 g, 0,589

mmol; viz stupeň (vi) shora), se rozpustí v 10 ml TFA a nechá se reagovat 40 minut. TFA se odpaří a zbytek se suší vymrazováním ze směsi vody a acetonitrilu a získá se 0,33 g (93 %) sloučeniny uvedené v názvu jako její TFA sůl.

$^1\text{H-NMR}$ (600 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,8-7,7 (m, 2H), 7,54 (d, 2H), 7,08 (s, 1H, většinový rotamer), 7,04 (s, 1H, menšinový rotamer), 6,99 (s, 1H, většinový rotamer), 6,95 (s, 1H), 6,92 (s, 1H, menšinový rotamer), 5,18 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,14 (s, 1H, většinový rotamer), 5,08 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,80 (m, 1H, většinový rotamer), 4,73 (m, 1H), 4,65 (m, 1H), 4,6-4,4 (m, 2H), 4,35 (m, 1H, většinový rotamer), 4,21 (dublet multipletů ; 2H), 4,12 (m, 1H, většinový rotamer), 4,06 (m, 1H, menšinový rotamer), 3,99 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,69 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,53 (m, 1H, většinový rotamer), 2,29 (m, 1H, většinový rotamer), 2,14 (m, 1H, menšinový rotamer).

$^{13}\text{C-NMR}$ (150 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky) δ 172,8, 172,1, 167,4,
ESI-MS⁺: (M+1) = 463 (m/z)

Příklad 22

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OMe})$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (818 mg, 3,29 mmol; viz příklad 21(v) shora) v DMF (30 ml) se pod dusíkem při teplotě 0 °C přidá $\text{HAze-Pab}(\text{OMe})\cdot 2\text{HCl}$ (1,43 g, 4,27 mmol), PyBOP (1,89 g, 3,68 mmol), a DIPEA (1,06 g, 8,23 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 2 hodin a poté při teplotě místnosti přes noc. Směs se koncentruje ve vakuu a zbytek se

chromatografuje dvakrát na silikagelu, eluováním nejprve směsí $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (15:5) a poté směsí $\text{EtOAc}:\text{EtOH}$ (20:1) a získá se sloučenina uvedená v názvu (880 mg, 54 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

t.t.: 65 až 72 °C

$R_f = 0,60$ (10:1 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,58-7,60 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,34 (d, $J = 7$ Hz, 2H), 7,05-7,08 (m, 2H), 6,95-6,99 (m, 1H), 5,08-5,13 (m, 1H), 4,77-4,82 (m, 1H), 4,60-4,68 (m, 1H), 3,99-4,51 (m, 7H), 3,82 (s, 3H), 2,10-2,75 (m, 2H).

^{13}C -NMR (150 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidové uhlíky) δ 173,3, 170,8, 152,5.

APCI-MS: $(M + 1) = 493$ m/z.

Příklad 23

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab} \times \text{TFA}$

(i) 1,3-Difluorizopropylmethansulfonát

K magneticky míchanému roztoku 1,3-difluor-2-propanolu (7,0 g, 72,8 mmol) v CH_2Cl_2 (100 ml) se pod dusíkem při teplotě 0 °C přidá triethylamin (22,1 g, 219 mmol) a methansulfonylchlorid (10,0 g, 87,4 mmol). Směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 3 hodiny. Směs se promyje 2N HCl (150 ml) a vrstvy se oddělí. Vodná vrstva se extrahuje s CH_2Cl_2 (200 ml) a spojené organické extrakty se promyjí solankou (10 ml), suší se (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (11,5 g, 91 %) jako žlutý olej, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4,97-5,08 (m, 1H), 4,75-4,77 (m, 2H), 4,59-4,61 (m, 2H), 3,12 (s, 3H).

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)\text{CHO}$

K roztoku 3-chlor-5-hydroxybenzaldehydu (8,0 g, 50,7 mmol; viz příklad 1(ii) shora) a uhličitanu draselného (9,1 g, 66,0 mmol) v DMF (75 ml) se přidá po kapkách při teplotě místnosti pod dusíkem roztok 1,3-difluorizopropylmethansulfonátu (11,5 g, 66,0 mmol; viz stupeň (i) shora) v DMF (75 ml). Směs se zahřívá na 110 °C po dobu 18 hodin. Reakční směs se ochladí na 0 °C, vlije se do ledem chlazené 2N HCl (200 ml) a extrahuje se s EtOAc (3 x 250 ml). Spojené extrakty se extrahují a suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují ve vakuu. Hnědý olej se chromatografuje na siliakgelu eluováním směsí Hex:EtOAc (4:1) a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (4,4 g, 37 %) jako žlutý olej.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,92 (s, 1H), 7,51 (s, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,26 (s, 1H), 4,70-4,89 (m, 3H), 4,63-4,68 (m, 2H).

(iii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2) - (\text{R}, \text{S})\text{CH}(\text{OTMS})\text{CN}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)\text{CHO}$ (4,4 g, 18,7 mmol; viz stupeň (ii) shora) a jodidu zinečnatého (1,5 g, 4,67 mmol) i v CH_2Cl_2 (200 ml) se při teplotě 0 °C pod dusíkem přidá po kapkách trimethylsilylkyanid (3,7 g, 37,3 mmol). Směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 3 hodin a přes noc při teplotě místnosti a poté se zředí s vodou (200 ml). Organická vrstva se oddělí, suší (Na_2SO_4), filtruje se a koncentruje ve vakuu a získá se slouče-

nina uvedená v podnázvu (5,5 g, 87 %) jako hnědý olej, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,12 (s, 1H), 7,00 (s, 2H), 5,42 (s, 1H), 4,70-4,80 (m, 3H), 4,59-4,64 (m, 2H), 0,26 (s, 9H).

(iv) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$

Koncentrovaná kyselina chlorovodíková (50 ml) se přidá k $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)(\text{R,S})\text{CH(OTMS)CN}$ (5,5 g, 16,3 mmol; viz stupeň (iii) shora) a roztok se míchá při teplotě 100 °C po dobu 1,5 hodiny. Po ochlazení na teplotu místnosti se reakční směs dále ochladí na teplotu 0 °C, alkalizuje se pomalu 3N NaOH (cca 200 ml) a promyje se Et_2O (3 x 200 ml). Vodná vrstva se okyselí 2N HCl (75 ml) a extrahuje se s EtOAc (3 x 200 ml). Spojené EtOAc extrakty se suší (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (4,6 g, 100 %) jako hnědý olej, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,14 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 5,12 (s, 1H), 4,70-4,90 (m, 3H), 4,52-4,67 (m, 2H).

(v) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)\text{-(S)CH(OAc)C(O)OH}$ (a) a $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (b)

Roztok $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)\text{-(R,S)CH(OH)C(O)OH}$ (4,6 g, 16,4 mmol; viz stupeň (iv) shora) a Lipase PS "Amano" (3,0 g) ve vinylacetátu (150 ml) a MTBE (150 ml) se zahřívá na 70 °C pod dusíkem 2,5 dnů. Reakční směs se ochladí na teplotu místnosti a enzym se odstraní filtrací přes Celit[®]. Filtrační koláč se promyje s EtOAc a filtrát se koncentruje ve vakuu. Chromatografií

na silikagelu eluováním směsí $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Et}_3\text{N}$ (90:8:2) se získá triethylaminová sůl sloučeniny (a) uvedené v podnázvu jako žlutý olej. Dále se může získat sůl triethylaminové sloučeniny (b) (2,2 g) uvedené v podnázvu a sůl se rozpustí ve vodě (100 ml), okyselí se 2N HCl a extrahuje se s EtOAc (3 x 200 ml). Spojené organické extrakty se suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují ve vakuu a získá se sloučenina (b) (1,4 g, 29 %) uvedená v podnázvu jako žlutý olej.

Data pro sloučeninu (b) podnázvu:

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,14 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 5,12 (s, 1H), 4,70-4,90 (m, 3H), 4,52-4,67 (m, 2H).

(vi) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (824 mg, 2,94 mmol; viz stupeň (v) shora) v DMF (30 ml) se pod dusíkem při teplotě 0 °C přidá $\text{HAze-Pab(Teoc).HCl}$ (1,71 g, 3,81 mmol), PyBOP (1,68 g, 3,23 mmol), a DIPEA (949 mg, 7,34 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 2 hodin a poté při teplotě místnosti přes noc. Směs se koncentruje ve vakuu a zbytek se chromatografuje na silikagelu, eluováním nejprve směsí $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (15:1) a poté směsí $\text{EtOAc}:\text{EtOH}$ (20:1) a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (720 mg, 38 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

t.t.: 78 až 84 °C

R_f = 0,62 (10:1 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,79 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,42 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,00-7,12 (m, 3H), 5,08-5,20 (m, 1H), 3,97-4,80 (m, 12H), 2,10-2,75 (m, 2H), 1,05-1,11 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

APCI-MS: $(M + 1) = 639$ m/z.

(vii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab} \times \text{TFA}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0,129 g, 0,202 mmol; viz stupeň (vi) shora), se rozpustí ve 3 ml TFA a nechá se reagovat 20 minut. TFA se odpaří a zbytek se suší vymrazováním ze směsi vody a acetonitrilu a získá se 0,123 g (100 %) sloučeniny uvedené v názvu jako její TFA sůl.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,8-7,7 (m, 2H), 7,55 (d, 2H), 7,2-7,0 (m, 3H), 5,18 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,15 (s, 1H, většinový rotamer), 5,08 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,80 (m, 1H, většinový rotamer částečně zahalen píkem CD_3OH), 4,75-4,4 (m, 7H), 4,38 (m, 1H, většinový rotamer), 4,15 (m, 1H, většinový rotamer), 4,1-3,9 (m, 2H, 2 signaly z menšinového rotameru), 2,70 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,53 (m, 1H, většinový rotamer), 2,30 (m, 1H, většinový rotamer), 2,15 (m, 1H, menšinový rotamer).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 172,9, 172,6, 172,2, 171,7, 167,1.

ESI-MS+: $(M+1) = 495$ (m/z)

Příklad 24

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (513 mg, 1,83 mmol; viz příklad 23(v) shora) v DMF (30 ml) se pod dusíkem a při teplotě 0 °C přidá $\text{HAze-Pab(OMe).2HCl}$ (797 mg, 2,38 mmol), PyBOP (1,04 g, 2,01 mmol) a DIPEA (591 mg, 4,57 mmol). Reakční směs se koncentruje ve vakuu a zbytek se chromatografuje dvakrát na

silikagelu, eluováním nejprve směsí $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (15:1) a poté směsí $\text{EtOAc}:\text{EtOH}$ (20:1) a získá se sloučenina uvedená v názvu (370 mg, 39 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

t.t.: 58 až 63 °C

$R_f = 0,66$ (10:1 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,58-7,60 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,34 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,00-7,12 (m, 3H), 5,08-5,20 (m, 1H), 4,65-4,82 (m, 3H), 4,28-4,65 (m, 5H), 3,92-4,18 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 2,10-2,75 (m, 2H).

^{13}C -NMR (150 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky) δ 173,2, 170,8, 152,5.

APCI-MS: $(M + 1) = 525$ m/z.

Příklad 25

$\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab} \times \text{TFA}$

(i) 1-Brom-3-fluor-5-benzyloxybenzen

Hydrid sodný (60% disperze v oleji, 24,0 g, 0,48 mol) se přidá po částech k míchanému roztoku bezvodého alkoholu (64,5 g, 0,60 mol) v THF (1,0 l). Směs se míchá 1 hodinu a po kapkách se přidá během 1 hodiny roztok 1-brom-3,5-difluorbenzenu (76,8 g, 0,40 mmol) v THF (100 ml). Reakční směs se míchá při teplotě místnosti 2 dny. Přidá se voda (400 ml) a THF se odstraní ve vakuu. Vodná vrstva se extrahuje hexanem (3 x 150 ml). Spojené organické se promyjí 2N NaOH (2 x 100 ml), suší se (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (110,7 g, 98 %) jako světle žlutý olej, který se použije bez dalšího čištění.

$R_f = 0,47$ (Hex)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,36-7,41 (m, 5H), 6,94 (bs, 1H), 6,87 (d, $J_{\text{H-F}} = 8$ Hz, 1H), 6,63 (d, $J_{\text{H-F}} = 10$ Hz, 1H), 5,03 (s, 2H).

(ii) 3-Brom-5-fluorfenol

K roztoku 1-brom-3-fluor-5-benzyloxybenzenu (110,0 g, 0,39 mol; viz stupeň (i) shora) a *N,N*-dimethylanilinu (474,0 g, 3,92 mol) v bezvodém CH_2Cl_2 (1,0 l) se při teplotě 0 °C přidá chlorid hlinitý (156,0 g, 1,17 mol). Po 10 minutách se ledová lázeň odstaví a míchání pokračuje 2 hodiny. Reakce se zastaví opatrným přidáváním 3N HCl (600 ml). Vrstvy se oddělí a vodná vrstva se extrahuje s CH_2Cl_2 (2 x 150 ml). Spojené organické extrakty se promyjí 2N HCl (250 ml) a vodou (3 x 250 ml). K organické vrstvě se přidá 15% KOH (500 ml) a vrstvy se oddělí. Organická vrstva se dále extrahuje s 2N KOH (2 x 70 ml). Spojené vodné vrstvy se promyjí s CH_2Cl_2 (3 x 100 ml) a poté se okyselí 4N HCl. Vodná vrstva se extrahuje s Et_2O (3 x 125 ml), spojené extrakty se suší (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (69,0 g, 92 %) jako hnědý olej, který se použije bez dalšího čištění.

t.t.: 33 až 35 °C

$R_f = 0,25$ (CHCl_3)

^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6) δ 10,38 (s, 1H), 6,90 (dd, $J_{\text{H-F}} = 11$ Hz, $J = 2$ Hz, 1H), 6,81 (s, 1H), 6,59 (dt, $J_{\text{H-F}} = 11$ Hz, $J = 2$ Hz, 1H).

APCI-MS: (M-1) = 189 m/z

(iii) 1-Brom-3-fluor-5-difluormethoxybenzen

Směs 3-brom-5-fluorfenolu (6,1 g, 31,0 mmol; viz stupeň (ii) shora) a chlordifluormethanu (13,0 g, 150,0 mmol) v i-PrOH (100 ml) a 30% KOH (80 ml) se zahřívají v utěsněné nádobě po dobu 18 hodin při teplotě 80 až 85 °C. Reakční směs se ochladí na teplotu místnosti a vrstvy se oddělí. Organická fáze se koncentruje ve vakuu a získá se bezbarvý olej. Vodná vrstva se extrahuje s Et₂O (3 x 30 ml). Surový olej a spojené organické extrakty se promyjí s 2N NaOH (3 x 30 ml) a vodou (3 x 30 ml). Organické podíly se suší (Na₂SO₄), filtrují se přes malou zátku siliakgelu, koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (6,1 g, 79 %) jako bezbarvý olej, který se použije bez dalšího čištění.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,11-7,14 (m, 2H), 6,84 (dt, J = 9 Hz, J = 2 Hz, 1H), 6,50 (t, J_{H-F} = 72 Hz, 1H).

(iv) 1-Fluor-3-difluormethoxy-5-vinylbenzen

Tri(butyl)vinylstannan (7,0 g, 22,2 mmol) se přidá pod atmosférou dusíku při teplotě 65 °C k suspenzi 1-brom-3-fluor-5-difluor-methoxybenzenu (4,9 g, 20,2 mmol; viz stupeň (iii) shora), dichlorbis(trifenylfosfin)palladiu (II) (1,42 g, 2,02 mmol) a bezvodému chloridu lithnému (0,90 g, 20,2 mmol) v THF (40 ml) a směs se míchá 5 hodin. Reakční směs se ochladí na 0 °C a přidá se 1N NaOH (90 ml). Dvoufázová směs se intenzivně míchá 1 hodinu a vrstvy se oddělí. Vodná vrstva se extrahuje s Et₂O (3 x 70 ml). Spojené organické vrstvy se promyjí s 2N NaOH (2 x 40 ml) a vodou (40 ml) a suší se (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu s hexanem se získá sloučenina uvedená v podnázvu (2,2 g, 57 %) jako bezbarvý olej.

$R_f = 0,47$ (Hex)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6,93-6,99 (m, 2H), 6,73-6,78 (m, 1H), 6,67 (dd, $J = 18$ Hz, $J = 11$ Hz, 1H), 6,51 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ Hz, 1H), 5,77 (d, $J = 18$ Hz, 1H), 5,36 (d, $J = 11$ Hz, 1H).

(v) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)CH}_2\text{OH}$

2-Methyl-2-propanol (140 ml), voda (140 ml) a AD-mix- β (39,2 g) se spojí a ochladí se na 0 °C. Najednou se přidá 1-fluor-3-difluormethoxy-5-vinylbenzen (5,0 g, 26,4 mmol; viz stupeň (iv) shora) rozpuštěný v malém množství 2-methyl-2-propanolu a heterogenní kaše se intenzivně míchá při teplotě 0 °C dokud TLC nevykazuje nepřítomnost výchozího materiálu. Reakce se zastaví při teplotě 0 °C přidáním siřičitanu sodného (42,0 g) a poté se směs zahřeje na teplotu místnosti a míchá se 60 minut. Reakční směs se extrahuje s Et_2O (3 x 120 ml). Spojené organické extrakty se suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí $\text{CHCl}_3\text{:EtOAc}$ (3:2) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (5,8 g, 98 %) jako bezbarvý olej.

$R_f = 0,41$ (3:2 $\text{CHCl}_3\text{:EtOAc}$)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6,96-6,99 (m, 2H), 6,77-6,82 (m, 1H), 6,51 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ Hz, 1H), 4,79-4,85 (m, 1H), 3,76-3,84 (m, 1H), 3,58-3,66 (m, 1H), 2,66 (d, $J = 3$ Hz, 1H), 2,00 (t, $J = 6$ Hz, 1H).

Analýza HPLC: 89,2 %, > 99 % ee, ChiralPak AD Column (mobilní fáze 95:5 Hex:EtOH).

(vi) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)CH}_2\text{OTBS}$

Roztok $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)CH}_2\text{OH}$ (5,5 g, 24,7 mmol; viz stupeň (v) shora), 4-(dimethylamino)pyridinu (121 mg, 1,0 mmol) a triethylaminu (3,0 g, 29,6 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (100 ml) se ochladí na 0 °C. Po kapkách se přidá 1,0M roztok terc-butyldimethylsilylchloridu v CH_2Cl_2 (26,0 ml, 26,0 mmol) a reakční směs se nechá zahřát na teplotu místnosti a míchá se přes noc. Přidá se nasycený roztok chloridu amonného (60 ml) a vrstvy se rozdělí. Organická vrstva se promyje s nasyceným roztokem chloridu amonného (60 ml) a vodou (2 x 35 ml), suší se (Na_2SO_4), filtruje a koncentruje ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí $\text{CHCl}_3\text{:Hex}$ (3:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (7,9 g, 85 %) jako žlutý olej.

$R_f = 0,47$ (3:1 $\text{CHCl}_3\text{:Hex}$)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 6,95-6,98 (m, 2H), 6,76-6,79 (m, 1H), 6,51 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ Hz, 1H), 4,71-4,74 (m, 1H), 3,75-3,80 (m, 1H), 3,48-3,54 (m, 1H), 2,99 (bs, 1H), 0,91 (s, 9H), 0,05 (s, 3H), 0,00 (s, 3H).

(vii) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OTBS}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)CH}_2\text{OTBS}$ (7,9 g, 0,51 mmol; viz stupeň (vi) shora) a DIPEA (4,9 g, 48,1 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (50 ml) se při teplotě 0 °C pod dusíkem přidá po kapkách 2-methoxyethoxymethylchlorid (6,6 g, 48,1 mmol). Směs se míchá 24 hodin. Přidá se nasycený roztok chloridu amonného (70 ml) a vrstvy se oddělí. Organická vrstva se promyje nasyceným roztokem chloridu amonného (70 ml) a vodou (3 x 60 ml) a poté se suší (Na_2SO_4), filtruje a koncentruje ve vakuu a získá se sloučenina

uvedená v podnázvu (8,9 g, 99 %) jako žlutý olej, který se použije bez dalšího čištění.

$R_f = 0,41$ (4:1 CHCl_3 :EtOAc)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,20 (s, 1H), 7,06 (s, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,50 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ Hz, 1H), 4,79-4,81 (m, 1H), 4,66-4,68 (m, 2H), 3,47-3,82 (m, 6H), 3,36 (s, 3H), 0,85 (s, 9H), 0,01 (s, 3H), 0,00 (s, 3H).

(viii) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OH}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OTBS}$ (9,3 g, 21,9 mmol; viz stupeň (vii) shora) v THF (60 ml) se při teplotě místnosti přidá 1,0 M roztok tetrabutylammoniumfluoridu v THF (70,0 ml, 70,0 mmol) a směs se míchá přes noc pod dusíkem. Reakční směs se koncentruje ve vakuu. Žlutý zbytek se rozpustí v Et_2O (100 ml) a hexanu (100 ml) a postupně se promyje s nasyceným roztokem chloridu amonného (2 x 150 ml) a vodou (3 x 70 ml). Organická vrstva se suší (Na_2SO_4), filtruje se a koncentruje se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí Hex:EtOAc (1:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (4,2 g, 62 %) jako žlutý olej.

$R_f = 0,42$ (1:1 Hex:EtOAc)

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 6,91-6,95 (m, 2H), 6,75-6,81 (m, 1H), 6,51 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ Hz, 1H), 4,80-4,82 (m, 1H), 4,70-4,74 (m, 2H), 3,88-3,93 (m, 1H), 3,67-3,71 (m, 3H), 3,53-3,56 (m, 2H), 3,39 (s, 3H), 2,96-2,99 (m, 1H).

(ix) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)OH}$

Roztok $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OH}$ (4,2 g, 13,4 mmol; viz stupeň (viii) shora) v acetonu (100 ml) se přidá k vodnému 5% roztoku NaHCO_3 (35 ml). Tato magneticky míchaná heterogenní fáze se ochladí na 0 °C a přidá se bromid draselný (159 mg, 1,3 mmol) a volný radikál 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy (2,2 g, 14,1 mmol). Poté se po kapkách přidá během 20 minut chlornan sodný (5,25%, 30 ml), přičemž se směs intenzivně míchá a teplota se udržuje na 0 °C. Po 1 hodině se přidá další chlornan sodný (30 ml) a 5% roztok NaHCO_3 (35 ml) a míchání pokračuje při teplotě 0 °C po dobu 2 hodin. Aceton se odstraní ve vakuu. Vodná vrstva se promyje s Et_2O (4 x 40 ml). Vodná vrstva se okyselí na pH 3,5 10% kyselinou citronovou a extrahuje se s EtOAc (4 x 50 ml). Spojené EtOAc extrakty se postupně promyjí s vodou (4 x 30 ml) a solankou (60 ml) a suší se (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (4,3 g, 98 %) jako bezbarvý olej, který se použije bez dalšího čištění.

$R_f = 0,74$ (8,0:1,5:0,5 CHCl_3 : MeOH : Et_3N)

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, acetone-d_6) δ 7,16-7,18 (m, 2H), 7,16 (t, $J_{\text{H-F}} = 89$ Hz, 1H), 7,00-7,03 (m, 1H), 5,30 (s, 1H), 4,88 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 4,80 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 3,54-3,75 (m, 2H), 3,46-3,49 (m, 2H), 3,28 (s, 3H).

(x) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)OH}$ (1,1 g, 3,4 mmol; viz stupeň (ix) shora) v DMF (20 ml) se pod dusíkem při teplotě 0 °C přidá $\text{HAze-Pab(Teoc).HCl}$ (2,0 g, 4,4 mmol), PyBOP (1,9 g, 3,7 mmol), a DIPEA (1,1 g, 8,4 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 2 hodin a poté při teplotě místnosti přes noc. Směs se koncentruje ve vakuu a zbytek se chromatografuje na

silikagelu eluováním nejprve směsí $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (15:1) a poté s $\text{RtOAc}:\text{EtOH}$ (20:1) a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (1,3 g, 56 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

$R_f = 0,65$ (15:1 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,80-7,84 (m, 2H), 7,40-7,46 (m, 2H), 6,95-7,16 (m, 3H), 6,92 a 6,88 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ Hz, 1H), 5,28 a 5,08 (s, 1H), 5,18-5,22 a 4,70-4,78 (m, 1H), 4,50-4,75 (m, 1H), 4,30-4,49 (m, 2H), 4,21-4,26 (m, 3H), 3,97-4,08 (m, 1H), 3,35-3,72 (m, 6H), 3,30 (s, 3H), 2,10-2,75 (m, 2H), 1,05-1,11 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

(xi) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$

Směs $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (590 mg, 0,87 mmol; viz stupeň (x) shora) a bromidu uhličitého (287 mg, 0,87 mmol) v 2-propanolu (20 ml) se zahřívá při zpětném toku 1,5 hodiny. Směs se koncentruje ve vakuu, poté se rozdělí s vodou (50 ml a EtOAc (3 x 50 ml). Vodná vrstva se extrahuje s dalším EtOAc (2 x 10 ml). Spojené organické extrakty se promyjí solankou (30 ml) a poté se suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují ve vakuu. Mžíkovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (15:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (60 mg, 12 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

$R_f = 0,46$ (15:1 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,74 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,35-7,37 (m, 2H), 6,97-7,07 (m, 2H), 6,80-6,84 (m, 1H), 6,82 a 6,80 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ Hz, 1H), 5,10 a 5,06 (s, 1H), 4,68-4,70 (m, 1H), 3,97-4,60 (m, 6H), 2,10-2,75 (m, 2H), 1,05-1,11 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

APCI-MS: $(M + 1) = 595$ m/z

(xii) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab} \times \text{TFA}$

$\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0,053 g, 0,089 mmol; viz stupeň (xi) shora) se rozpustí v 3 ml TFA a směs se nechá reagovat 80 minut, přičemž se chladí v ledové lázni. TFA se odpaří a zbytek se suší vymrazováním ze směsi vody a acetonitrilu a získá se 0,42 g (80 %) sloučeniny uvedené v názvu jako její TFA sůl.

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,7-7,6 (m, 2H), 7,5-7,4 (m, 2H), 7,1-6,6 (m, 4H), 5,2-5,0 (m, 1H plus menšinový rotamer 1H), cca 4,8 (většinový rotamer předchozího signálu je překryt signálem CD_3OH), 4,6-4,3 (m, 2H), 4,26 (m, 1H, většinový rotamer), 4,10 (m, 1H, většinový rotamer), 3,96 (m, 1H, menšinový rotamer), 3,89 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,60 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,44 (m, 1H, většinový rotamer), 2,19 (m, 1H, většinový rotamer), 2,05 (m, 1H, menšinový rotamer).

$^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky) δ 172,8, 172,0, 167,0.

ESI-MS+: (M+1) = 451 (m/z)

Příklad 26

$\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

(i) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)OH}$ (1,0 g, 3,1 mmol; viz příklad 25(ix) shora) v DMF (30 ml) se přidá pod dusíkem při teplotě 0 °C $\text{HAze-Pab(OMe).2HCl}$ (1,4 g, 4,1 mmol), PyBOP (1,8 g,

3,4 mmol), a DIPEA (1,0 g, 7,8 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 2 hodin a poté při teplotě místnosti přes noc. Směs se koncentruje ve vakuu a zbytek se chromatografuje dvakrát na silikagelu, eluováním nejprve CHCl_3 :EtOH (15:1) a poté s EtOAc a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (1,5 g, 79 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

$R_f = 0,24$ (EtOAc)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,58-7,62 (m, 2H), 7,32-7,38 (m, 2H), 7,03-7,16 (m, 3H), 6,92 a 6,88 (d, $J_{\text{H-F}} = 73$ Hz, 1H), 5,27 a 5,08 (s, 1H), 5,22-5,15 a 4,75-4,80 (m, 1H), 4,38-4,65 (m, 5H), 3,92-4,27 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,43-3,68 (m, 4H), 3,29 (s, 3H), 2,28-2,85 (m, 2H).

(ii) $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

Směs $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$ (828 mg, 2,33 mmol; viz stupeň (i) shora) a bromidu uhličitého (525 mg, 2,33 mmol) ve 2-propanolu (20 ml) se zahřívá při zpětném toku 8 hodin a poté se míchá při teplotě místnosti přes noc. Směs se koncentruje ve vakuu a zbytek se rozdělí s vodou (70 ml a EtOAc (50 ml). Vodná vrstva se extrahuje s EtOAc (2 x 25 ml). Spojené organické extrakty se promyjí solankou (35 ml) a poté se suší, filtrují a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí CHCl_3 :EtOH (15:1) se získá sloučenina uvedená v názvu (520 mg, 74 %) jak rozmělnitelná bílá pěna.

t.t.: 73 až 81 °C

$R_f = 0,43$ (15:1 CHCl_3 :EtOH)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,59 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,32-7,37 (m, 2H), 7,05-7,14 (m, 2H), 6,87-6,92 (m, 1H),

6,90 a 6,86 (t, $J_{H-F} = 73$ Hz, 1H), 5,13-5,18 a 4,75-4,85 (m, 2H), 4,15-4,45 (m, 4H), 3,81 (s, 3H), 2,10-2,75 (m, 2H).

^{13}C -NMR (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky) δ 172,0, 171,4, 153,9

APCI-MS: $(M + 1) = 481$ m/z

Příklad 27

Ph(3-Br)(5- OCH_2F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 1,3-Dibrom-5-benzyloxybenzen

Hydrid sodný (9,9 g, 0,414 mol, suchý, 95%) se přidá při teplotě místnosti a v atmosféře dusíku po částech k míchanému roztoku benzylakoholu (41,0 g, 0,394 mol) v THF (1,0 l) a směs se míchá 1 hodinu. K tomuto roztoku se přidá po kapkách 1,3-dibrom-5-fluorbenzen (100,0 g, 0,394 mol). Směs se míchá přes noc a poté se rozdělí s vodou (600 ml) a EtOAc (4 x 600 ml). Spojené organické extrakty se suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním hexany se získá sloučenina uvedená v podnázvu (101,3 g, 75 %) jako žlutý olej.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,30-7,48 (m, 5H), 7,18 (s, 1H), 7,06 (s, 2H), 4,99 (s, 2H).

(ii) 3,5-Dibromofenol

Chlorid amonný (11,7 g, 87,6 mmol) se přidá po částech k roztoku 1,3-dibrom-5-benzyloxybenzenu (10,0 g, 29,2 mmol; viz stupeň (i) shora) a N,N-dimethylanilinu (35,4 g, 292 mmol) v CH_2Cl_2 při teplotě místnosti a pod atmosférou dusíku. Po 30 minutách se směs

rozdělí s 1N HCl (300 ml) a EtOAc (5 x 150 ml). Spojené organické extrakty se promyjí nasyceným roztokem NaHCO₃ (150 ml) a solankou, suší se (Na₂SO₄), filtrují se a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí Hex:EtOAc (9:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (6,1 g, 82 %) jako bílá pevná látka.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,21 (s, 1H), 6,97 (s, 2H), 5,88 (bs, 1H).

(iii) 1,3-Dibrom-5-monofluormethoxybenzen

K tárované, utěsněné 350 ml tlakové baňce obsahující suspenzi 3,5-dibromfenolu (10,0 g, 39,7 mmol; viz stupeň (ii) shora) a Cs₂CO₃ (20,7 g, 63,5 mmol) v DMF (150 ml) se při teplotě -78 °C přidá chlorfluormethan probubláváním po dobu 5 minut přes septum. Septum se nahradí teflonovým uzávěrem a nádoba se poté utěsní a nechá se ohřát na teplotu místnosti, kdy se zváží a stanoví se obsah 9,0 g (131 mmol) chlorfluormethanu. Roztok se zahřívá v olejové lázni přes noc na teplotu 70 °C. Nádoba se ochladí na teplotu místnosti, tlak se opatrně uvolní a obsah se zředí vodou (100 ml). Vodná vrstva se extrahuje s Et₂O (3 x 200 ml) a poté se organické podíly spojí a suší se (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním s hexany se získá sloučenina uvedená v podnázvu (7,9 g, 71 %) jako bílá pevná látka.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,40 (s, 1H), 7,18 (s, 2H), 5,67 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H).

(iv) 1-Brom-3-monofluormethoxy-5-vinylbenzen

Tri(butyl)vinyltin (10,0 g, 31,4 mmol) se přidá pod dusíkem po kapkách k roztoku 1,3-dibrom-5-monofluormethoxybenzenu (8,5 g, 29,9 mmol; viz stupeň (iii) shora), tetrakis(trifenylfosfin)-palladiu(0) (690 mg, 0,599 mmol) a-2,6-di-terc-butyl-4-methyl-fenolu (špička špachtle) v toluenu (100 ml). Směs se míchá při teplotě 70 °C po dobu 8 hodin. Směs se ochladí na 0 °C a přidá se 1N NaOH (70 ml). Po 1 hodině se směs extrahuje s CH₂Cl₂ (3 x 300 ml), spojené organické podíly se suší (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním s hexany se získá sloučenina uvedená v podnázvu (4,3 g, 57 %) jako bezbarvý olej.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,30 (s, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,01 (s, 1H), 6,60 (dd, J = 6 Hz, J = 11 Hz, 1H), 5,74 (d, J = 16 Hz, 1H), 5,67 (d, J_{H-F} = 53 Hz, 2H), 5,32 (d, J = 8 Hz, 1H).

(v) Ph(3-Br)(5-OCH₂F)-(R)CH(OH)CH₂OH

2-Methyl-2-propanol (100 ml), H₂O (100 ml), a AD-mix-β (27,5 g) se spojí a ochladí se na 0 °C. Najednou se přidá 1-brom-3-monofluormethoxy-5-vinylbenzen (4,3 g, 17,3 mmol; viz stupeň (iv) shora) a heterogenní kaše se intenzivně míchá při teplotě 0 °C dokud TLC nevykazuje absenci výchozího materiálu. Reakční směs se uhasí při teplotě 0 °C přidáním nasyceného siřičitanu sodného (200 ml) a zahřeje se na teplotu místnosti a míchá se 60 minut. Reakční směs se extrahuje s EtOAc (3 x 150 ml). Spojené organické extrakty se suší (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v názvu (4,9 g, 100 %), jako bezbarvý olej, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,30 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 5,70 (d, $J_{\text{H-F}} = 53$ Hz, 2H), 4,62-4,70 (m, 1H), 3,52-3,70 (m, 2H).

Analýza HPLC: 92,1 %, 96,9% ee, ChiralPak AD Column (mobilní fáze 95:5 Hex:EtOH).

(vi) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OTBS}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)CH}_2\text{OH}$ (4,9 g, 18,6 mmol; viz stupeň (v) shora), 4-(dimethylamino)pyridinu (453 mg, 3,71 mmol), a DIPEA (8,9 g, 93,0 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (200 ml) se přidá po kapkách 1,0M roztok terc-butyldimethylsilylchloridu v CH_2Cl_2 (22,3 ml, 22,3 mmol). Reakční směs se míchá 10 hodin při teplotě místnosti. Ke směsi se přidá po kapkách DIPEA (8,9 g, 93,0 mmol) a 2-methoxyethoxymethylchlorid (13,9 g, 111 mmol). Po 16 hodinách se přidá další 2-methoxyethoxymethylchlorid (2,2 g) a reakční směs se míchá přes noc. Směs se zředí s vodou (100 ml) a vrstvy se oddělí. Vodná vrstva se extrahuje s CH_2Cl_2 (3 x 200 ml), spojené organické vrstvy se suší (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí Hex:EtOAc (5:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (4,8 g, 55 %) jako bezbarvý olej.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,29 (s, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,05 (s, 1H), 5,74 (d, $J_{\text{H-F}} = 53$ Hz, 2H), 4,84 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 4,70-4,74 (m, 2H), 3,50-3,91 (m, 6H), 3,42 (s, 3H), 0,90 (s, 9H), 0,05 (s, 3H), 0,01 (s, 3H).

(vii) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OH}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OTBS}$ (4,7 g, 10,1 mmol;

viz stupeň (vi) shora) v THF (100 ml) se přidá při teplotě místnosti 1,0M roztok tetrabutylammoniumfluoridu v THF (13,1 ml, 13,1 mmol) a směs se míchá 1 hodinu. Směs se rozdělí mezi vodu (100 ml) a EtOAc (3 x 100 ml) a poté se spojené organické podíly suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (3,3 g, 92 %) jako bezbarvý olej, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,22 (s, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 5,71 (d, $J_{\text{H-F}} = 53$ Hz, 2H), 4,80-4,82 (m, 1H), 4,58-4,66 (m, 2H), 3,71-3,77 (m, 1H), 3,39-3,65 (m, 5H), 3,27 (s, 3H).

(viii) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OMEM)C(O)OH}$

Roztok $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OH}$ (2,1 g, 6,0 mmol; viz stupeň (vii) shora) v acetonu (40 ml) se přidá k vodnému 5% roztoku NaHCO_3 (15 ml). Tato magneticky míchaná heterogenní směs se ochladí na 0 °C a přidá se bromid draselný (70 mg, 0,60 mmol) a volný radikál 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy (976 mg, 5,8 mmol). Poté se po kapkách přidá během 10 minut chlornan sodný (5,25%, 15 ml), přičemž se směs intenzivně míchá a teplota se udržuje na 0 °C. Po 1 hodině se přidá další chlornan sodný (10 ml) a roztok NaHCO_3 (20 ml) a míchání pokračuje při teplotě 0 °C po dobu 4 hodiny. Aceton se odstraní na rotační odpařovače. Vodná vrstva se zředí 10% NaHCO_3 (30 ml) a promyje se s Et_2O (3 x 20 ml). Vodná vrstva se okyselí na pH 3,5 10% kyselinou citronovou a extrahuje se s EtOAc (3 x 40 ml). Spojené EtOAc extrakty se postupně promyjí s vodou (3 x 50 ml) a solankou (50 ml) a suší se (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (1,7 g, 78 %) jako bezbarvý olej, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,38 (s, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,18 (s, 1H), 5,76 (d, $J_{\text{H-F}} = 53$ Hz, 2H), 5,21 (s, 1H), 4,83 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 4,75 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 3,62-3,78 (m, 2H), 3,48-3,52 (m, 2H), 3,32 (s, 3H).

(ix) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OMEM)C(O)OH}$ (1,0 g, 2,72 mmol; viz stupeň (viii) shora) v DMF (20 ml) se pod dusíkem a při teplotě 0 °C přidá $\text{HAze-Pab(Teoc).HCl}$ (1,6 g, 3,5 mmol), PyBOP (1,6 g, 3,0 mmol), a DIPEA (880 mg, 6,81 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 2 hodin a poté při teplotě místnosti přes noc. Směs se koncentruje ve vakuu a zbytek se chromatografuje dvakrát na silikagelu, eluováním prvně směsí $\text{CHCl}_3\text{:EtOH}$ (15:1) a poté směsí EtOAc:EtOH (20:1) a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (1,2 g, 62 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,80-7,84 (m, 2H), 7,40-7,46 (m, 2H), 7,13-7,32 (m, 3H), 5,84-5,87 (m, 1H), 5,67-5,69 (m, 1H), 5,25 a 5,07 (s, 1H), 5,18-5,23 a 4,80-4,88 (m, 1H), 3,97-4,79 (m, 8H), 3,60-3,71 (m, 2H), 3,40-3,53 (m, 2H), 3,32 (s, 3H), 2,10-2,75 (m, 2H), 1,05-1,11 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

(x) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$

Směs $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (347 mg, 0,478 mmol; viz stupeň (ix) shora) a bromidu uhličitého (159 mg, 0,478 mmol) ve 2-propanolu (10 ml) se zahřívá při zpětném toku po dobu 1,5 hodiny. Směs se koncentruje ve vakuu a rozdělí se

s vodou (20 ml) a EtOAc (3 x 30 ml). Spojené organické extrakty se suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chroamtografií na silikagelu eluováním směsí $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (15:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (59 mg, 19 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

t.t.: 81 až 87 °C

$R_f = 0,58$ (9:1 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,84 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,40-7,48 (m, 2H), 7,18-7,30 (m, 3H), 5,80 (d, $J_{\text{H-F}} = 53$ Hz, 2H), 5,21 a 5,15 (s, 1H), 5,18-5,24 a 4,80-4,88 (m, 1H), 3,98-4,54 (m, 6H), 2,10-2,70 (m, 2H), 1,05-1,11 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

APCI-MS: $(M + 1) = 637$ m/z

(xi) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab} \times \text{TFA}$

$\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCH}_2\text{F})\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0,073 g, 0,11 mmol; viz stupeň (x) shora), se rozpustí v 5 ml TFA a nechá se reagovat po dobu 90 minut, přičemž se směs chladí v ledové lázni. TFA se odpaří a zbytek se čistí preparativní RPLC s $\text{CH}_3\text{CN}:0,1\text{M}$ NH_4OAc (30:70). Příslušné frakce se odpaří a suší se vymrazováním ze směsi vody a acetonitrilu a získá se 49 mg (77 %) sloučeniny uvedené v názvu jako acetátová sůl.

^1H -NMR (300 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,8-7,7 (m, 2H), 7,54 (m, 2H), 7,37 (s, 1H, většinový rotamer), 7,33 (s, 1H, menšinový rotamer), 7,25-7,1 (m, 2H), 5,75 (d, 2H), 5,22 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,18 (s, 1H, většinový rotamer), 5,11 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,80 (m, 1H, většinový rotamer), 4,6-4,4 (m, 2H), 4,37 (m, 1H, většinový rotamer), 4,16 (m, 1H, většinový rotamer), 4,1-3,9 (m,

2H, dva signály z menšinového rotameru), 2,70 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,52 (m, 1H, většinový rotamer), 2,30 (m, 1H, většinový rotamer), 2,15 (m, 1H, menšinový rotamer), 1,89 (s, 3H).

ESI-MS⁺ : (M+1) = 493/495 (m/z)

Příklad 28

Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) 1,3-Dibromo-5-difluormethoxybenzen

K tárované, utěsněné 350 ml tlakové baňce obsahující suspenzi 3,5-dibromfenolu (10,0 g, 39,7 mmol; viz příklad 27(ii) v 2-propanolu (100 ml) a 30% KOH (80 ml) se při teplotě -78 °C přidá chlordinfluormethan probubláváním po dobu 15 minut přes septum. Septum se nahradí teflonovým uzávěrem a nádoba se poté utěsní a nechá se ohřát na teplotu místnosti, kdy se zváží a stanoví se obsah 12,0 g (138 mmol) chlordinfluormethanu. Roztok se zahřívá v olejové lázni přes noc na teplotu 80 °C. Nádoba se ochladí na teplotu místnosti, tlak se opatrně uvolní a obsah se zředí vodou (200 ml). Vodná vrstva se extrahuje s Et₂O (2 x 150 ml) a poté se organické podíly spojí a suší se (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují se ve vakuu. Zbytek se čistí Kugelrohrovou destilací při 80 °C a 0,2 mm Hg a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (9,6 g, 80 %) jako čirá kapalina.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) 7,55 (s, 1H), 7,26 (s, 2H), 6,52 (t, J_{H-F} = 68 Hz, 1H).

(ii) 1-Brom-3-difluormethoxy-5-vinylbenzen

Tri(butyl)vinyltin (10,5 g, 33,1 mmol) se přidá pod dusíkem po kapkách k roztoku 1,3-dibrom-5-difluormethoxybenzenu (9,1 g, 30,1 mmol; viz stupeň (i) shora), tetrakis(trifenylfosfin)palladiu(0) (700 mg, 0,60 mmol) a-2,6-di-terc-butyl-4-methylfenolu (špička špachtle) v toluenu (125 ml). Směs se míchá při teplotě 50 °C přes noc. Směs se ochladí na 0 °C a přidá se 1N NaOH (70 ml). Po 1 hodině se směs extrahuje s CH₂Cl₂ (3 x 300 ml), spojené organické podíly se suší (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním s hexany se získá sloučenina uvedená v podnázvu (5,1 g, 68 %) jako bezbarvý olej.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,53 (s, 1H), 7,18 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,60 (dd, J = 6 Hz, J = 11 Hz, 1H), 6,57 (t, J_{H-F} = 68 Hz, 1H), 5,77 (d, J = 11 Hz, 1H), 5,36 (d, J = 8 Hz, 1H).

(iii) Ph(3-Br)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)CH₂OH

2-Methyl-2-propanol (150 ml), H₂O (150 ml), a AD-mix-β (27,8 g) se spojí a ochladí se na 0 °C. Najednou se přidá 1-brom-3-difluormethoxy-5-vinylbenzen (4,6 g, 18,6 mmol; viz stupeň (ii) shora) a heterogenní kaše se intenzivně míchá při teplotě 0 °C dokud TLC nevykazuje absenci výchozího materiálu. Potom se roztok zahřeje na teplotu místnosti a míchá se přes noc. Reakční směs se uhasí při teplotě 0 °C přidáním nasyceného siřičitanu sodného (300 ml) a zahřeje se na teplotu místnosti a míchá se 60 minut. Reakční směs se extrahuje s EtOAc (3 x 200 ml). Spojené organické extrakty se suší (Na₂SO₄), filtrují a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v názvu (5,0 g, 95 %), jako bezbarvý olej, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,43 (s, 1H), 7,23 (s, 1H), 7,16 (s, 1H), 6,86 (t, $J_{\text{H-F}} = 75$ Hz, 1H), 4,64-4,67 (m, 1H), 3,54-3,59 (m, 2H).

Analýza HPLC: 88,6%, 96,3% ee, ChiralPak AD Column (mobilní fáze 95:5 Hex:EtOH).

(iv) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OTBS}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)CH}_2\text{OH}$ (4,9 g, 17,3 mmol; viz stupeň (iii) shora), 4-(dimethylamino)pyridinu (420 mg, 3,5 mmol), a DIPEA (11,2 g, 86,3 mmol) v bezvodém CH_2Cl_2 (250 ml) se přidá po kapkách 1,0M roztok terc-butyldimethylsilylchloridu v CH_2Cl_2 (20,7 ml, 20,7 mmol). Reakční směs se míchá přes noc při teplotě místnosti. Ke směsi se přidá po kapkách DIPEA (11,2 g, 86,3 mmol) a 2-methoxyethoxymethylchlorid (12,9 g, 104 mmol). Po 3 dnech se přidá další 2-methoxyethoxymethylchlorid (3,3 g) a reakční směs se míchá přes noc. Směs se zředí s vodou (250 ml) a vrstvy se oddělí. Vodná vrstva se extrahuje s CH_2Cl_2 (2 x 250 ml), spojené organické vrstvy se suší (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí Hex:EtOAc (4:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (4,3 g, 51 %) jako bezbarvý olej.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,40 (s, 1H), 7,25 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,58 (t, $J_{\text{H-F}} = 75$ Hz, 1H), 4,84 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 4,70-4,74 (m, 2H), 3,50-3,91 (m, 6H), 3,42 (s, 3H), 0,90 (s, 9H), 0,12 (s, 3H), 0,05 (s, 3H).

(v) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OH}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OTBS}$ (3,3 g, 6,9 mmol;

viz stupeň (iv) shora) v THF (60 ml) se přidá při teplotě místnosti 1,0M roztok tetrabutylammoniumfluoridu v THF (9,0 ml, 9,0 mmol) a směs se míchá 45 minut. Směs se rozdělí mezi vodu (150 ml) a EtOAc (2 x 120 ml). Spojené organické podíly se suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují se ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (2,5 g, 98 %) jako bezbarvý olej, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,35 (s, 1H), 7,21 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,83 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ Hz, 1H), 4,73 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 4,59-4,68 (m, 2H), 3,40-3,80 (m, 6H), 3,26 (s, 3H).

(vi) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)OH}$

Roztok $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)CH}_2\text{OH}$ (3,0 g, 8,1 mmol; viz stupeň (v) shora) v acetonu (60 ml) se přidá k vodnému 5% roztoku NaHCO_3 (25 ml). Tato magneticky míchaná heterogenní směs se ochladí na 0 °C a přidá se bromid draselný (100 mg, 0,81 mmol) a volný radikál 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy (1,3 g, 8,5 mmol). Poté se po kapkách přidá během 10 minut chlornan sodný (5,25%, 19 ml), přičemž se směs intenzivně míchá a teplota se udržuje na 0 °C. Po 1 hodině se přidá další chlornan sodný (17 ml) a roztok NaHCO_3 (34 ml) a míchání pokračuje při teplotě 0 °C po dobu 4 hodiny. Aceton se odstraní na rotační odpařovače. Vodná vrstva se zředí 10% NaHCO_3 (30 ml) a promyje se s Et_2O (3 x 20 ml). Vodná vrstva se okyselí na pH 3,5 10% kyselinou citronovou a extrahuje se s EtOAc (3 x 40 ml). Spojené EtOAc extrakty se postupně promyjí s vodou (3 x 50 ml) a solankou (50 ml) a suší se (Na_2SO_4), filtrují se a koncentrují ve vakuu a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (2,1 g, 66 %) jako bezbarvý olej, který se použije bez dalšího čištění.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 7,51 (s, 1H), 7,32 (s, 1H), 7,24 (s, 1H), 6,88 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ Hz, 1H), 5,21 (s, 1H), 4,84 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 4,76 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 3,62-3,80 (m, 2H), 3,48-3,52 (m, 2H), 3,32 (s, 3H).

(vii) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)OH}$ (1,0 g, 2,62 mmol; viz stupeň (vi) shora) v DMF (50 ml) se přidá pod dusíkem a při teplotě 0 °C $\text{HAze-Pab(Teoc).HCl}$ (1,5 g, 3,38 mmol), PyBOP (1,5 g, 2,9 mmol), a DIPEA (840 mg, 6,50 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C po dobu 2 hodin a poté při teplotě místnosti přes noc. Směs se koncentruje ve vaku a zbytek se chromatografuje na silikagelu eluováním směsí $\text{CHCl}_3\text{:EtOH}$ (15:1) a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (1,1 g, 59 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,79-7,83 (m, 2H), 7,26-7,52 (m, 5H), 6,94 a 6,91 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ Hz, 1H), 5,27 a 5,07 (s, 1H), 5,20-5,23 a 4,80-4,88 (m, 1H), 4,01-4,79 (m, 8H), 3,60-3,71 (m, 2H), 3,40-3,53 (m, 2H), 3,32 (s, 3H), 2,10-2,75 (m, 2H), 1,05-1,11 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

(viii) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$

Směs $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (369 mg, 0,496 mmol; viz stupeň (vii) shora) a bromidu uhličitého (165 mg, 0,496 mmol) v 2-propanolu (10 ml) se zahřívá při zpětném toku 12 hodin. Směs se koncentruje ve vakuu, rozdělí se s vodou (15 ml) a EtOAc (5 x 20 ml). Spojené organické podíly se suší (Na_2SO_4),

filtrují a koncentrují se ve vakuu. Mžíkovou chromatografií na silikagelu směsí $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (15:1) se získá sloučenina uvedená v podnázvu (134 mg, 41 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

t.t.: 92 až 98 °C

$R_f = 0,37$ (9:1 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,80-7,86 (m, 2H), 7,40-7,48 (m, 2H), 7,10-7,33 (m, 3H), 6,92 a 6,88 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$, Hz, 1H), 5,18 a 5,11 (s, 1H), 5,18-5,24 a 4,76-4,80 (m, 1H), 3,98-4,54 (m, 6H), 2,10-2,70 (m, 2H), 1,05-1,11 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

APCI-MS: $(M + 1) = 655$ m/z

(ix) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab} \times \text{TFA}$

$\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (0,081 g, 0,124 mmol; viz stupeň (viii) shora), se rozpustí v 5 ml TFA a nechá se reagovat 80 minut, přičemž se chladí v ledové lázni. TFA se odpaří a zbytek se čistí preparativní RPLC směsí $\text{CH}_3\text{CN}:0,1\text{M NH}_4\text{OAc}$ (30:70). Příslušné frakce se odpaří a suší se vymrazováním ze směsi vody a acetonitrilu a získá se 59 mg (83 %) sloučeniny uvedené v názvu jako její acetátová sůl.

^1H -NMR (300 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,8-7,7 (m, 2H), 7,6-7,4 (m, 3H), 7,3-7,2 (m, 2H), 6,89 (t, 1H, většinový rotamer), 6,87 (t, 1H, menšinový rotamer), 5,23 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,21 (s, 1H, většinový rotamer), 5,13 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,80 (m, 1H, většinový rotamer), 4,6-4,4 (m, 2H), 4,38 (m, 1H, většinový rotamer), 4,20 (m, 1H, většinový rotamer), 4,1-3,9 (m, 2H, dva signály z menšinového rotameru), 2,70 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,54 (m, 1H, většinový rotamer), 2,29 (m, 1H, většinový

rotamer), 2,15 (m, 1H, menšinový rotamer), 1,89 (s, 3H).

^{13}C -NMR (75 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky) δ 172,0, 171,7, 167,0.

MS (m/z) 511/513 ($\text{M}+1$)⁺

Příklad 29

$\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

(i) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

K roztoku $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)OH}$ (957 mg, 2,48 mmol; viz příklad 28(vi) shora) v DMF (30 ml) se při teplotě 0 °C pod dusíkem přidá $\text{HAze-Pab(OMe).2HCl}$ (1,1 g, 3,2 mmol), PyBOP (1,4 g, 2,7 mmol), a DIPEA (804 mg, 6,2 mmol). Reakční směs se míchá při teplotě 0 °C 2 hodiny a poté při teplotě místnosti přes noc. Směs se koncentruje ve vakuu a zbytek se chromatografuje dvakrát na silikagelu, eluováním nejprve směsí $\text{CHCl}_3\text{:EtOH}$ (9:1) a poté směsí EtOAc:EtOH (15:1) a získá se sloučenina uvedená v podnázvu (1,1 g, 72 %) jako rozmělnitelná bílá pěna.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,59-7,65 (m, 2H), 7,20-7,55 (m, 5H), 6,95 a 6,91 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ Hz, 1H), 5,27 a 5,07 (s, 1H), 5,18-5,23 a 4,75-4,84 (m, 1H), 3,87-4,89 (m, 6H), 3,84 (s, 3H), 3,60-3,71 (m, 2H), 3,40-3,53 (m, 2H), 3,32 (s, 3H), 2,10-2,75 (m, 2H).

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$

Směs $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OMEM)C(O)-Aze-Pab(OMe)}$ (1,1 g, 1,8 mmol; viz stupeň (i) shora) a bromidu uhličitého (583 mg, 1,8

mmol) v 2-propanolu (30 ml) se zahřívá při zpětném toku 2,5 dnů. Během této doby se přidá další bromid uhličitý (5 dávek po 50 mg v intervalech, dalších 0,90 mmol), aby se dokončila reakce. Směs se koncentruje ve vakuu, poté se rozdělí s vodou (50 ml) a EtOAc (5 x 25 ml). Spojené organické podíly se suší (Na_2SO_4), filtrují a koncentrují se ve vakuu. Mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$ (15:1) se získá sloučenina uvedená v názvu (460 mg, 50 %) jako rozmělnitelná bílá pěna

t.t.: 71 až 75 °C

$R_f = 0,63$ (9:1 $\text{CHCl}_3:\text{EtOH}$)

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , komplexní směs rotamerů) δ 7,59 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,20–7,54 (m, 5H), 6,90 a 6,87 (t, $J_{\text{H-F}} = 73$ Hz, 1H), 5,18 a 5,11 (s, 1H), 4,76–4,80 (m, 1H), 3,98–4,54 (m, 4H), 3,82 (s, 3H), 2,10–2,70 (m, 2H).

^{13}C -NMR (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 172,5, 172,1, 171,6, 154,1.

APCI-MS: $(M + 1) = 542$ m/z

Příklad 30

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OH})$

(i) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{Z})$

Boc-Aze-Pab(Z) (viz mezinárodní patentovou přihlášku WO 97/02284, 92 mg, 0,197 mmol) se rozpustí v 10 ml EtOAc nasyceném plynným HCl a nechá se reagovat 10 minut. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se smísí s $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{OH}$ (50 mg, 0,188 mmol; viz příklad 17(v) shora), PyBOP (109 mg, 0,209 mmol) a konečně diizopropylethylaminem (96 mg, 0,75 mmol) v 2 ml DMF.

Směs se míchá 2 hodiny a poté se vlije do 50 ml vody a extrahuje se třikrát s EtOAc. Spojené organické fáze se promyjí s vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Surový produkt se zpracuje mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí EtOAc:MeOH (9:1).

Výtěžek: 100 mg (87 %).

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , směs rotamerů) δ 7,85-7,75 (m, 2H), 7,45-7,25 (m, 7H), 7,11 (m, 1H, většinový rotamer), 7,08 (m, 1H, menšinový rotamer), 7,05-6,9 (m, 2H), 6,13 (bt, 1H), 5,25-5,05 (m, 3H), 4,77 (m, 1H, částečně zakryt signálem CD_3OH), 4,5-3,9 (m, 7H), 2,64 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,47 (m, 1H, většinový rotamer), 2,25 (m, 1H, většinový rotamer), 2,13 (m, 1H, menšinový rotamer)

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OH)}$

Hydroxylaminhydrochlorid (65 mg, 0,94 mmol) a triethylamin (0,319 g, 3,16 mmol) se smísí v 8 ml THF a sonifikuje se 1 hodinu při teplotě 40 °C. Přidá se $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z)}$ (96 mg, 0,156 mmol; viz stupeň (i) shora) s dalšími 8 ml THF. Směs se míchá při teplotě 40 °C po dobu 4,5 dnů.

Rozpouštědlo se odpaří a surový produkt se čistí preparativní RPLC směsí CH_3CN :0,1M NH_4OAc (40:60). Výtěžek: 30 mg (38 %).

Čistota: 99 %.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD , směs rotamerů) δ 7,6-7,55 (m, 2H), 7,35-7,3 (m, 2H), 7,12 (m, 1H, většinový rotamer), 7,09 (m, 1H, menšinový rotamer), 7,05-6,9 (m, 2H), 6,15 (triplet multipletů, 1H), 5,15 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,13 (s, 1H, většinový rotamer), 5,08 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,77 (m, 1H, většinový rotamer), 4,5-4,2 (m, 5H), 4,08 (m, 1H, většinový rotamer), 3,97

(m, 1H, menšinový rotamer), 2,66 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,50 (m, 1H většinový rotamer), 2,27 (m, 1H, většinový rotamer), 2,14 (m, 1H, menšinový rotamer).

^{13}C -NMR (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, směs rotamerů) δ 172,8, 172,2, 171,4, 159,1, 158,9, 154,2

APCI-MS: $(M + 1) = 497/499 \text{ m/z}$

Příklad 31

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OH})$

(i) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(\text{S-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{Z})$

Boc-Aze-Pab(Z) (130 mg, 0,279 mmol) se rozpustí v 15 ml EtOAc nasyceném s plynným HCl a nechá se reagovat 10 minut. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se smísí s $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{-C}(\text{O})\text{OH}$ (63 mg, 0,188 mmol; viz příklad 21(v) shora) ve 3 ml DMF, PyBOP (147 mg, 0,279 mmol) a konečně s diizopropylethylaminem (134 mg, 1,03 mmol). Směs se míchá 130 minut a poté se vlije do 75 ml vody a extrahuje se třikrát s EtOAc. Spojené organické fáze se promyjí s vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Surový produkt se zpracuje mžikovou chromatografií na silikagelu směsí EtOAc/MeOH = 95/5. Výtěžek: 119 mg (79 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,06 (bt, 1H), 7,67 (d, 2H), 7,45-7,25 (m, 5H), 7,18 (d, 2H), 6,89 (m, 1H), 6,84 (m, 1H), 6,76 (m, 1H), 5,16 (s, 2H), 4,84 (s, 1H), 4,79 (m, 1H), 4,66 (doublet multipletů, 2H), 4,4-4,3 (m, 2H), 4,10 (doublet multipletů, 2H), 4,02 (m, 1H), 3,67 (m, 1H), 2,46 (m, 1H), 2,28 (m, 1H).

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OH})$

Hydroxylaminhydrochlorid (80 mg, 1,16 mmol) a triethylamin (0,392 g, 3,87 mmol) se smísí s 9 ml THF a sonifikuje se 1 hodinu při teplotě 40 °C. Přidá se Ph(3-Cl)(5-OCH₂CH₂F)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Z) (96 mg, 0,156 mmol; viz stupeň (i) shora) s dalšími 9 ml THF. Směs se míchá při teplotě 40 °C po dobu 48 hodin a 3 dny při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří a surový produkt se čistí preparativní RPLC směsí CH₃CN:0,1M NH₄OAc (30:70). Výtěžek: 72 mg (78 %). Čistota: 100 %.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, směs rotamerů) δ 7,6-7,55 (m, 2H), 7,35-7,25 (m, 4H), 7,07 (m, 1H, většinový rotamer), 7,04 (m, 1H, menšinový rotamer), 7,0-6,9 (M, 2H), 5,12 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,08 (s, 1H, menšinový rotamer), 5,04 (s, 1H), 4,78 (m, 1H, většinový rotamer), 4,68 (dublet multipletů, 2H), 4,5-4,25 (m, 3H), 4,20 (dublet multipletů, 2H) 4,06 (m, 1H, většinový rotamer), 3,97 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,65 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,48 (m, 1H většinový rotamer), 2,27 (m, 1H, většinový rotamer), 2,14 (m, 1H, menšinový rotamer)

¹³C-NMR (100 MHz; CD₃OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, směs rotamerů) δ 172,3, 171,5, 159,8, 154,3

APCI-MS: (M + 1) = 479/481 m/z

Příklad 32

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)-C(O)-Pro-Pab

(i) Boc-Pro-Pab(Teoc)

Boc-Pro-Pab (Z) (viz mezinárodní patentovou přihlášku WO 97/02284,15,0 g, 0,0321 mol) se rozpustí ve 150 ml ethanolu a

přidá se 200 mg 10% Pd/C (50% vlhkost). Směs se míchá a hydrogenuje při atmosférickém tlaku po dobu 2 hodin, filtruje se přes Hyflo a koncentruje se. Produkt se použije bez dalšího čištění. Z tohoto produktu se odebere 10 g (0,029 mol), který se rozpustí v 300 ml THF. Přidá se Teoc-p-nitrofenylkarbonát (10 g, 0,035 mol). Během 3 minut se přidá roztok uhličitanu draselného (5,2 g, 0,038 mol) v 50 ml vody a vzniklý roztok se míchá 3 dny, koncentruje se a zbytek se extrahuje třikrát s EtOAc. Spojená organická vrstva se promyje s vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Surový produkt se chromatografuje mžikovou chromatografií na silikagelu za použití směsi methylenchloridu a acetonu (4:1). Výtěžek: 9,8 g (69 %).

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)-C(O)-Pro-Pab(Teoc)}$

Boc-Pro-Pab(Teoc) (107 mg, 0,218 mmol; viz stupeň (i) shora) se rozpustí v 10 ml EtOAc nasyceném plynným HCl a nechá se reagovat 10 minut. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se smísí s $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (50 mg, 0,198 mmol; viz příklad 1(viii) shora) v 3 ml DMF, PyBOP (115 mg, 0,218 mmol) a konečně diizopropylethylaminem (104 mg, 0,80 mmol). Směs se míchá 2 hodiny a poté se vlije do 75 ml vody a extrahuje se třikrát s EtOAc. Spojené organické fáze se promyjí s vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří. Surový produkt se čistí mžikovou chromatografií na silikagelu eluováním směsí EtOAc:MeOH (95:5). Výtěžek: 89 mg (72 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,54 (bt, 1H), 7,47 (d, 2H), 7,12 (m, 1H), 7,08 (d, 2H), 7,02 (m, 1H), 6,95 (m, 1H), 6,50 (t, 1H), 5,21 (s, 1H), 4,42 (m, 1H), 4,35-4,15 (m, 3H), 3,59 (m, 1H), 2,94 (m, 1H), 2,1-1,7 (m, 4H), 1,06 (m, 2H), 0,04 (s, 9H).

(iii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)-C(O)-Pro-Pab} \times \text{TFA}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Pro-Pab(Teoc)}$ (85 mg, 0,136 mmol; viz stupeň (ii) shora) se rozpustí v 1 ml methylenchloridu a ochladí se v ledové lázni. Přidá se TFA (4 ml) a reakční směs se míchá 90 minut. TFA se odpaří a zbytek se suší vymrazováním ze směsi vody a acetonitrilu. Výtěžek: 79 mg (92 %). Čistota: 94 %.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , směs rotamerů) δ 7,85-7,7 (m, 2H), 7,58 (d, 2H, většinový rotamer), 7,47 (d, 2H, menšinový rotamer), 7,35 (m, 1H, většinový rotamer), 7,27 (m, 1H, menšinový rotamer), 7,2, 7,1 (m, 2H), 6,88 (t, 1H), 5,38 (s, 1H, většinový rotamer), 5,22 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,58 (d, 1H), 4,5-4,2 (m, 2H), 3,8-3,5 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 2,2-1,8 (m, 4H).

^{13}C -NMR (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky) δ 173,6, 171,1, 167,0.

APCI-MS: $(M + 1) = 481/483 \text{ m/z}$

Příklad 33

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)-C(O)-Pro-Pab(OMe)}$

(i) 4-Azidomethyl-N-methoxybenzamidin

4-Azidomethylbenzonitril (17,3 g, 0,109 mol; Nishiyama a kol.; Chem. Lett. (1982) 1477) se rozpustí v 500 ml toluenu a 200 ml absolutního ethanolu. Roztok se ochladí na -10°C a směs se probublává plynný HCl do nasycení. Směs se uloží do mrazáku na dobu 2 dnů, kdy se většina rozpouštědel odpaří. Přidá se diethylether a provede se dekantace. Produkt se znovu rozpustí

v roztoku O-methylhydroxylaminu (10,5 g, 0,125 mol) a triethylaminu (56 ml) ve 200 ml methanolu. Směs se nechá stát 3 dny a přidáním EtOAc se odpaří methanol. Organická fáze se promyje s vodou, ředí se HOAc a vodným hydrogenuhlíčitanem sodným, suší se (Na_2SO_4) a zředí se ještě EtOAc na celkový objem 500 ml. Vzorek 25 ml se odpaří do sucha. Zbývá 932 mg. Celkový výtěžek: 18,6 g (83 %).

(ii) 4-Aminomethyl-N-methoxybenzamidin

K roztoku 4-azidomethyl-N-methoxybenzamidinu (11,3 g, 0,055 mol; viz stupeň (i) shora) v 200 ml ethanolu se přidá 200 mg PtO_2 . Směs se hydrogenuje konstantním probubláváním vodíku po dobu 4 hodin a následně se filtruje přes Celit[®] a odpaří se. Výtěžek: 7,34 g (74 %).

(iii) Boc-Pro-Pab(OMe)

K suspenzi Boc-Pro-OH (9,7 g, 0,045 mol), 4-aminomethyl-N-methoxybenzamidinu (7,34 g, 0,041 mol; viz stupeň (ii) shora) a dimethylaminopyridinu (7,8 g, 0,064 mol) v 300 ml acetonitrilu se přidá EDC báze (11,7 ml, 0,068 mol). Směs se míchá 18 hodin, koncentruje se a rozdělí se mezi vodu a EtOAc. Organická vrstva se promyje s vodou, vodným hydrogenuhlíčitanem sodným, suší se (MgSO_4) a odpaří se. Surový produkt se zpracuje mžikovou chromatografií na silikagelu s EtOAc. Výtěžek: 9,73 g (63 %).

(iv) H-Pro-Pab(OMe) x 2 HCl

Boc-Pro-Pab(OMe) (9,7 g, 0,026 mol; viz stupeň (iii) shora) se rozpustí v 250 ml EtOAc. Ledem chlazený roztok se nasytí s plynným HCl probubláváním po dobu 5 minut. Produkt se

bezprostředně sráží a přidá se 125 ml ethanolu. Směs se sonifikuje dokud většina materiálu neztuhne. Přidá se diethylether a suspenze se filtruje. Několik kousků, které neztuhly se zpracuje absolutním ethanolem a diethyletherem. Pevná látka se suší. Výtěžek 7,57 g (86 %).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,74 (d, 2H), 7,58 (d, 2H), 4,55 (s, 2H), 4,38 (m, 1H), 3,98 (s, 3H), 3,45-3,3 (m, 2H), 2,50 (m, 1H), 2,15-2,0 (m, 3H)

(v) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)-C(O)-Pro-Pab(OMe)}$

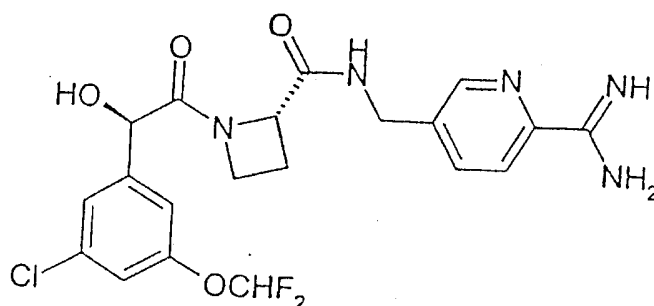
$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (50 mg, 0,198 mmol; viz příklad 1(viii) shora), H-Pro-Pab(OMe) (76 mg, 0,218 mmol, viz stupeň (iv) shora) a PyBOP (115 mg, 0,218 mmol) se rozpustí ve 2 ml DMF. Přidá se diizopropylethylamin (104 mg, 0,80 mmol) a směs se míchá 2,5 hodiny. Směs se vlije do 50 ml vody a extrahuje se třikrát s EtOAc a spojené organické fáze se promyjí solankou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Zbytek se zpracuje mžikovou chromatografií na silikagelu směsí EtOAc:MeOH (95:5). Výtěžek: 37 mg (36%). Čistota: 98 %.

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD , směs rotamerů) δ 7,60 (d, 2H, většinový rotamer), 7,57 (d, 2H, menšinový rotamer), 7,4-7,1 (m, 5H), 6,89 (t, 1H, většinový rotamer), 6,87 (t, 1H, menšinový rotamer), 5,35 (s, 1H, většinový rotamer), 5,21 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,72 (m, 1H, menšinový rotamer), 4,5-4,35 (m, 1H a 2H, většinový rotamer), 4,3-4,25 (m, 2H, menšinový rotamer), 3,814 (s, 3H, většinový rotamer), 3,807 (s, 3H, menšinový rotamer), 3,75-3,5 (m, 1H), 3,35 (m, 1H), 2,21,8 (m, 4H)

^{13}C -NMR (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, směs rotamerů) δ 173,3, 173,2, 171,3, 171,0, 153,9, 152,4
 APCI-MS: $(M + 1) = 511/513 \text{ m/z}$

Příklad 34

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-(2-amidino)-S-pyridinyl)



(i) 6-Kyanonikotinová kyselina

K roztoku N-oxidu kyseliny nikotinové (51 g, 0,37 mol) v 1,2 l DMF, se přidá NaCN (54 g, 1,1 mol) a poté triethylamin (255 ml, 1,83 mol) a TMSCl (185 ml). Reakční směs se míchá při teplotě 110 °C po dobu 10 hodin, filtruje se a filtrát se koncentruje. Zbytek se rozpustí ve 100 ml 2N HCl a extrahuje se s methylenchloridem. Organické vrstvy se spojí, koncentrují a rekrystalizují se z vody a získá se 12 g (22 %) produktu.

(ii) 5-(Hydroxymethyl)pyridin-2-karbonitril

K roztoku kyseliny 6-kyanonikotinové (12g, 0,081 mol; viz stupeň (i) shora) v THF se při teplotě 0 °C přidá Et₃N (12,4 ml, 0,0892 mol) a poté ethylchlorformiát (8,53 ml, 0,0892 mol). Reakční směs

se míchá 15 minut a přidá se NaBH_4 (6,14 g, 0,162 mol). Směs se míchá při teplotě místnosti přes noc, reakce se uhasí vodou a extrahuje se methylenchloridem. Organická vrstva se čistí sloupcovou chromatografií a získají se 4 g (20 %) alkoholu.

(iii) 5-(Azidomethyl)pyridin-2-karbonitril

5-(Hydroxymethyl)pyridin-2-karbonitril (4 g, 0,03 mol; viz stupeň (ii) shora) se rozpustí v 25 ml methylenchloridu a ochladí se v ledové lázni. Po kapkách se přidá mesylchlorid (2,32 ml, 0,0300 mol) a poté triethylamin (4,6 ml, 0,033 mol). Reakční směs se míchá a po zpracování se surový mesylát zpracuje s NaN_3 (7,35 g, 0,113 mol) v 20 ml DMF. Reakční směs se míchá při teplotě 40 °C 2 hodiny, zředí se vodou a extrahuje se s ethylacetátem. Organická vrstva se koncentruje a získá se 3,95 g (83 %) surového azidu.

(iv) 5-(terc-Butoxykarbonylaminomethyl)pyridin-2-karbonitril

K roztoku 5-(azidomethyl)pyridin-2-karbonitrilu (3,95 g, 0,0248 mol; viz stupeň (iii) shora) v 30 ml THF a 10 ml vody se přidá trifenylofosfin (7,8 g, 0,0298 mol) a vzniklá směs se míchá 24 hodin. Poté se přidá triethylamin (3,8 ml, 0,027 mol) a následně Boc anhydrid (5,4 g, 0,025 mol) a míchání pokračuje 2 hodiny. Reakční směs se rozdělí mezi vodu a ethylacetát. Organická vrstva se koncentruje a čistí se sloupcovou chromatografií a získá se 2,1 g (36 %) sloučeniny uvedené v podnázvu.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,6 (s, 1H), 8,0 (d, 1H), 8,9 (d, 1H), 4,1 (m, 2H), 1,4 (s, 9H)

(v) 5-(Aminomethyl)pyridin-2-karbonitril x 2 HCl

5-(terc-Butoxykarbonylaminomethyl)pyridin-2-karbonitril (0,200 g, 0,86 mmol, viz stupeň (iv) shora) se rozpustí v 10 ml EtOAc nasyceném plynným HCl a směs se míchá 30 minut. Rozpouštědlo se odpaří a získá se 0,175 g (99 %) sloučeniny uvedené v názvu jako jeho dihydrochloridová sůl.

^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8,79 (s, 1H), 8,17 (d, 1H), 8,05 (d, 1H), 4,38 (s, 2H)

(vi) Boc-Aze-NH-CH₂-5-Py(2-CN)

Ke směsi 5-(aminomethyl)pyridin-2-karbonitrilu x 2 HCl (0,175 g, 0,85 mmol; viz stupeň (v) shora), Boc-Aze-OH (0,201 g, 1,00 mmol) a TBTU (0,321 g, 1,00 mmol) v 5 ml DMF se přidá dimethylamino-pyridin (0,367 g, 3,00 mmol). Směs se míchá přes noc a následně se vlije do vody a extrahuje se třikrát s EtOAc. Spojené organické fáze se promyjí vodným hydrogenuhlíčitanem sodným, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Surový produkt začne krystalovat a použije se jako takový v příštím stupni. Výtěžek 0,23 g (73 %).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,66 (s, 1H), 8,2-7,8 (br, 1H), 7,79 (d, 1H), 7,67 (d, 1H), 4,73 (m, 1H), 4,65-4,5 (m, 2H), 3,94 (m, 1H), 3,81 (m, 1H), 2,6,2,35 (m, 2H), 1,8 (br, 1H), 1,45 (s, 9H)

(vii) H-Aze-NH-CH₂-5-Py(2-CN) x 2 HCl

Boc-Aze-NH-CH₂-5-Py(2-CN) (0,23 g, 0,73 mmol; viz stupeň (vi) shora) se rozpustí v 10 ml EtOAc nasyceném plynným HCl a míchá se 30 minut. Rozpouštědlo se odpaří a získá se 0,21 g (100 %) sloučeniny uvedené v podnázvu jako dihydrochloridová sůl.

^1H NMR (500 MHz, D_2O) δ 8,64 (s, 1H), 8,0-7,9 (m, 2H), 5,19 (m, 1H), 4,65-4,55 (m, 2H), 4,20 (m, 1H), 4,03 (m, 1H), 2,88 (m, 1H), 2,64 (m, 1H)

(viii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-5-Py(2-CN)}$

Ke směsi $\text{H-Aze-NH-CH}_2\text{-5-Py(2-CN)} \times 2 \text{ HCl}$ (0,206 g, 0,713 mmol; viz stupeň (vii) shora), $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (0,180 g, 0,713 mmol; viz příklad 1(viii) shora) a PyBOP (0,408 g, 0,784 mmol) v 5 ml DMF se přidá dimethylaminopyridin (0,367 g, 3,00 mmol). Směs se míchá přes noc a poté se vlije do vody a extrahuje se třikrát s EtOAc. Spojená organická fáze se promyje vodným hydrogenuhličitanem sodným, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Surový produkt se zpracuje mžikovou chromatografií na silikagelu s EtOAc a získá se čistý produkt. Výtěžek: 0,197 g (61 %).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8,63 (m, 1H), 8,22 (bt, 1H), 7,78 (m, 1H), 7,67 (m, 1H), 7,21 (m, 1H), 7,16 (m, 1H), 7,04 (m, 1H), 6,56 (t, 1H), 4,97 (bd, 1H), 4,92 (m, 1H), 4,6-4,5 (m, 2H), 4,40 (bd, 1H), 4,18 (m, 1H), 3,80 (m, 1H), 2,69 (m, 1H), 2,46 (m, 1H), 1,92 (s, 1H)

APCI-MS: $(M + 1) = 451/453 \text{ m/z}$

ix) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-((2-amidino)-5-pyridinyl)} \times \text{HOAc}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-5-Py(2-CN)}$ (0,200 g, 0,444 mmol; viz stupeň (viii) shora), octan amonný (1,00 g, 0,0130 mol) a N-acetylcystein (2,00 g, 0,0122 mol) v 10 ml methanolu se zahřívá na 50 °C po dobu 2 dnů. Preparativní RPLC

směsí $\text{CH}_3\text{CN}:0,1\text{M NH}_4\text{OAc}$ (30:79) a zpracováním vhodných frakcí opět směsí $\text{CH}_3\text{CN}:0,1\text{M NH}_4\text{OAc}$ (5:95-40:60) se získá 60 mg (26 %) čisté sloučeniny uvedené v názvu jako její acetátová sůl po sušení vymrazováním ze směsi vody a acetonitrilu. Čistota: 100 %.

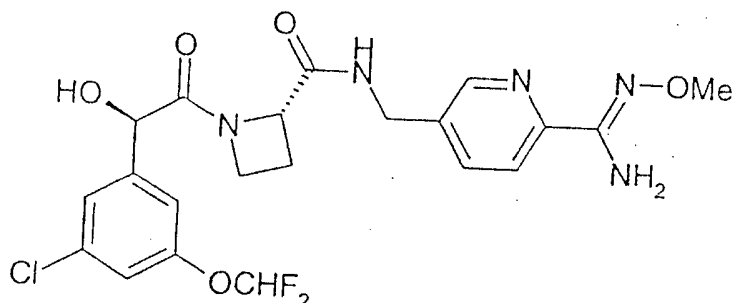
^1H NMR (500 MHz, D_2O , směs rotamerů) δ 8,68 (s, 1H, většinový rotamer), 8,62 (s, 1H, menšinový rotamer), 8,05-7,9 (m, 2H), 7,33 (m, 1H, rotamer), 7,27 (m, 1H, rotamer), 7,22 (m, 1H, rotamer), 7,17 (m, 1H, rotamer), 7,01 (m, 1H, rotamer), 6,84 (t, 1H), 5,32 (s, 1H, většinový rotamer), 5,20 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,13 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,88 (m, 1H, většinový rotamer), 4,65-4,55 (m, 2H, většinový rotamer), 4,45-4,35 (m, 1H, rotamer plus 1H, menšinový rotamer), 4,31 (d, 1H, menšinový rotamer), 4,2-4,05 (m, 1H plus 1H, rotamer), 2,80 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,61 (m, 1H, většinový rotamer), 2,33 (m, 1H, většinový rotamer), 2,24 (m, 1H, menšinový rotamer), 1,93 (s, 3H)

^{13}C -NMR (100 MHz; D_2O): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, směs rotamerů) δ 181,6, 173,3, 172,7, 172,6, 172,3, 162,6, 162,3

APCI-MS: $(\text{M} + 1) = 468/470 \text{ m/z}$

Příklad 35

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-NH-CH}_2\text{-}((2\text{-methoxyamidino})\text{-5-pyridinyl})$



(i) Boc-NH-CH₂-[(2-(amino(hydroxylimino)methyl))-5-pyridinyl]

5-(terc-Butoxykarbonylaminomethyl)pyridin-2-karbonitril (1,00 g, 4,29 mmol; viz příklad 34 (iv) shora) se rozpustí v 10 ml ethanolu a přidá se hydroxylaminhydrochlorid (0,894 g, 0,0129 mol) a triethylamin (1,30 g, 0,0129 mol). Směs se míchá při teplotě místnosti 6 dnů. Směs se rozdělí mezi vodu a methylenchlorid. Vodná vrstva se extrahuje s methylenchloridem a spojené organické fáze se promyjí s vodou, suší se (Na₂SO₄) a odpaří se. Výtěžek: 0,96 g (84 %).

¹H NMR (400 MHz, aceton-d₆) δ 9,01 (bs, 1H), 8,50 (bs, 1H), 7,87 (m, 1H), 7,70 (m, 1H), 6,58 (br, 1H), 5,70 (br, 2H), 4,31 (d, 2H), 1,41 (s, 9H)

(ii) Boc-Aze-NH-CH₂-(2-(amidino)-5-pyridinyl) x HOAc

Tato reakce se provede podle metody, kterou popsal Judkins et al, Synth. Comm. (1998) 4351. Suspenze Boc-NH-CH₂-[(2-(amino(hydroxylimino)methyl))-5-pyridinylu] (0,910 g, 3,42 mmol; viz stupeň (i) shora), anhydridu kyseliny octové (0,35 ml, 3,7 mmol) a 0,35 g 10% Pd/C (50% vlhkost) ve 100 ml kyseliny octové se hydrogenuje při tlaku 0,505 MPa po dobu 5 hodin. Směs se filtruje přes Celit a koncentruje. Zbytek se suší vymrazováním z vody a acetonitrilu a získá se 0,97 g (92 %) sloučeniny uvedené v podnázvu.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) δ 8,74 (s, 1H), 8,12 (d, 1H), 7,98 (d, 1H), 4,38 (s, 2H), 1,92 (s, 3H), 1,46 (s, 9H)

(iii) Boc-NH-CH₂-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl)

K suspenzi Boc-NH-CH₂-(2-(amidino)-5-pyridinylu) x HOAc (0,96 g, 3,1 mmol; viz stupeň (ii) shora) v 75 ml THF se přidá roztok uhličitanu draselného (1,07 g, 7,7 mmol) a Teoc-p-nitrofenylkarbonátu (1,14 g, 4,02 mmol) v 15 ml vody. Směs se míchá přes noc. Přidá se přebytek glycinu a uhličitanu draselného a reakce pokračuje 2 hodiny. THF se odpaří a zbytek se extrahuje třikrát s EtOAc. Spojená organická fáze se promyje s vodou, suší se (Na₂SO₄) a odpaří se. Produkt se může použít bez dalšího čištění.

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 9,31 (br, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,41 (d, 1H), 8,35 (br, 1H), 7,74 (d, 1H), 4,97 (br, 1H), 4,39 (m, 2H), 4,26 (m, 2H), 1,46 (s, 9H), 1,14 (m, 2H), 0,07 (s, 9H)

(iv) H₂N-CH₂-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl) x 2 HCl

Boc-NH-CH₂-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl) (0,23 g, 0,58 mmol; viz stupeň (iii) shora) se rozpustí v 25 ml EtOAc nasyceném plynným HCl a směs se míchá 30 minut. Rozpouštědlo se odpaří a produkt se použije bez dalšího čištění. Výtěžek: 0,21 g (98 %).

¹H NMR (500 MHz, D₂O) δ 8,89 (s, 1H), 8,25 (s, 2H), 4,55 (m, 2H), 4,42 (s, 2H), 1,20 (m, 2H), 0,09 (s, 9H)

(v) Boc-Aze-NH-CH₂-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl)

K roztoku $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-(2-(\text{amino}(\text{trimethylsilylethylimino})\text{methyl})-5\text{-pyridinyl}) \times 2 \text{ HCl}$ (0,21 g, 0,57 mmol; viz stupeň (iv) shora), Boc-Aze-OH (0,127 g, 0,631 mmol), a TBTU (233 mg, 0,726 mmol) v 5 ml DMF se přidá dimethylaminopyridin (269 mg, 2,20 mmol). Směs se míchá přes noc, vlije se do 100 ml vody a extrahuje se třikrát s EtOAc. Spojená organická fáze se promyje vodným hydrogenuhlíkem sodným, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Surový produkt se zpracuje mžikovou chromatografií na silikagelu s EtOAc a získá se 170 mg (56 %) žádaného produktu.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 9,33 (br, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,41 (d, 1H), 8,36 (br, 1H), 7,75 (m, 1H), 4,72 (m, 1H), 4,56 (m, 2H), 4,26 (m, 2H), 3,93 (m, 1H), 3,80 (m, 1H), 2,6-2,4 (m, 2H), 1,42 (s, 9H), 1,14 (m, 2H), 0,07 (s, 9H)

(vi) $\text{H-Aze-NH-CH}_2-(2-(\text{amino}(\text{trimethylsilylethylimino})\text{methyl})-5\text{-pyridinyl}) \times 2 \text{ HCl}$

Boc-Aze-NH- $\text{CH}_2-(2-(\text{amino}(\text{trimethylsilylethylimino})\text{methyl})-5\text{-pyridinyl})$ (170 mg, 0,356 mmol; viz stupeň (v) shora) se rozpustí v 25 ml EtOAc nasyceném plynným HCl a směs se míchá 30 minut. Rozpouštědlo se odpaří a produkt se použije bez dalšího čištění. Výtěžek: 160 mg (100 %).

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 9,00 (m, 1H), 8,84 (m, 1H), 8,23 (d, 2H), 8,10 (m, 1H), 5,09 (m, 1H), 4,7-4,6 (m, 2H), 4,51 (m, 2H), 4,14 (m, 1H), 3,97 (m, 1H), 2,86 (m, 1H), 2,58 (m, 1H), 1,22 (m, 2H), 0,11 (s, 9H)

(vii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl)}$

K roztoku $\text{H-Aze-NH-CH}_2\text{-(2-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl)}$ x 2 HCl (160 mg, 0,462 mmol; viz stupeň (vi) shora), $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (131 mg, 0,462 mmol; viz příklad 1(viii) shora) a PyBOP (263 mg, 0,505 mmol) v 5 mL DMF se přidá diizopropylethylamin (0,30 ml, 1,71 mmol). Směs se míchá přes noc, vlije se do 100 ml vody a extrahuje se třikrát s EtOAc. Spojená organická fáze se promyje s vodným hydrogenuhlíčitanem sodným a vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Surový produkt se zpracuje mžikovou chromatografií na silikagelu směsí EtOAc:MeOH (95:5) a získá se 148 mg (52 %) žádaného produktu.

(viii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-(2-(methoxyamino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl)}$

Suspenze $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)-C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-(2-(methoxyamino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl)}$ (148 mg, 0,242 mmol; viz stupeň (vii) shora) a O-methylhydroxylaminu (202 mg, 2,42 mmol) v 10 ml acetonitrilu se zahřívá na teplotu 70 °C po dobu 3 hodin. Směs se rozdělí mezi vodu a EtOAc. Vodná vrstva se extrahuje dvakrát s EtOAc a spojená organická fáze se promyje s vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Surový materiál se čistí chromatografií na silikagelu směsí EtOAc:MeOH (95:5) a získá se 44 mg (28 %) čistého materiálu.

$^1\text{H NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8,55 (m, 1H), 8,05 (bt, 1H), 7,70 (m, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,56 (d, 1H), 7,22 (m, 1H), 7,16 (m, 1H), 7,03 (m, 1H), 6,50 (t, 1H), 4,92 (s, 1H), 4,89 (m, 1H), 4,55-4,45 (m,

2H), 4,38 (br, 1H), 4,24,1 (m, 3H), 4,00 (s, 3H), 3,73 (m, 1H), 2,69 (m, 1H), 2,44 (m, 1H), 0,97 (m, 2H), 0,02 (s, 9H)

(ix) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-((2-methoxyamidino)-5-pyridinyl)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-(2-(methoxyamino(trimethylsilylethylimino)methyl)-5-pyridinyl) (44 mg, 0,069 mmol; viz stupeň (viii) shora) se rozpustí ve 2 ml TFA a nechá se reagovat po dobu 1 hodiny. TFA se odpaří a zbytek se rozdělí mezi EtOAc a vodný hydrogenuhličitan sodný. Vodná vrstva se extrahuje s EtOAc a spojená organická fáze se promyje s vodou, suší se (Na₂SO₄) a odpaří se. Výtěžek: 30 mg (88 %). Čistota: > 95 %.

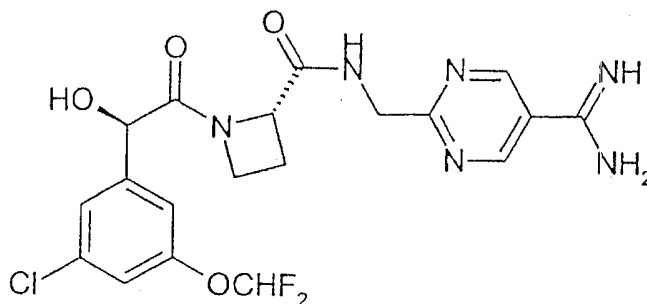
¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8,44 (m, 1H), 8,03 (bt, 1H), 7,91 (m, 1H), 7,60 (m, 1H), 7,19 (m, 1H), 7,13 (m, 1H), 7,00 (m, 1H), 6,52 (t, 1H), 5,6-5,45 (br, 2H), 4,90 (s, 1H), 4,89 (m, 1H), 4,55-4,4 (m, 2H), 4,27 (br, 1H), 4,12 (m, 1H), 3,92 (s, 3H), 2,68 (m, 1H), 2,41 (m, 1H)

¹³C-NMR (100 MHz; CDCl₃): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky) δ 173,0, 170,9, 152,6

APCI-MS: (M + 1) = 498/500 m/z

Příklad 36

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH₂-((5-amidino)-2-pyrimidinyl)



(i) 2-Amino-2-iminoethylkarbamát.AcOH

N-Boc-aminoacetonitril (40,2 g, 257,4 mmol) a N-acetylcystein (42,0 g, 257,4 mmol) se rozpustí v methanolu (300 ml) při teplotě 60 °C a po dobu 18 hodin se směsí prohání amoniak. Rozpouštědlo se odstraní ve vakuu. Po iontoměničové chromatografii (Amberlit IRA-400 (AcOH)) a rekrystalizaci z acetonu se získá 28,4 g (53 %) sloučeniny uvedené v podnázvu jako bílá pevná látka.

^1H NMR (300 MHz, CD_3OD) δ 4,41 (t, $J = 4,9$ Hz, 1H), 4,01 (s, 2H), 2,91 (d, $J = 5,0$ Hz, 2H), 2,01 (s, 3H), 1,46 (s, 9H)

(ii) 1,3-Bis-(dimethylamino)-2-kyanotrimethiniumperchlorát

Roztok 3-dimethylaminoakrylonitrilu (25,0 g, 260,0 mmol) v chloroformu (75 ml) se přidá po kapkách při teplotě 0 °C k roztoku (chlormethylen)dimethylammoniumchloridu (50,0 g, 390,1 mmol) v chloroformu (175 ml). Reakční směs se míchá další 2 hodiny při teplotě 0 °C a poté se zahřívá na teplotu místnosti přes noc a následně se zahřívá 8 hodin při zpětném toku. Rozpouštědlo se odstraní ve vakuu. Zbytek se přidá ke směsi chloristanu sodného (110 g, 0,898 mmol) ve vodě (150 ml) a ethanolu (300 ml). Směs se zahřívá při zpětném toku po dobu 15 minut, ochladí se a nechá se stát přes noc v mrazáku. Sraženina se sebere a rekrystalizuje se z ethanolu a získá se 23,8 g (52 %) sloučeniny uvedené v podnázvu jako bezbarvé jehličky.

t.t.: 140 až 141 °C

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,24 (s, 2H), 3,59 (s, 6H), 3,51 (s, 6H)

(iii) Boc-NH-CH₂-(5-kyano)-2-pyrimidin

Směs terc-butyl-2-amino-2-iminoethylkarbamátu.AcOH (5,0 g, 23,8 mmol; viz stupeň (i) shora) a 1,3-bis(dimethylamino)-2-kyano-trimethiniumperchlorátu (6,0 g, 23,8 mmol; viz stupeň (ii) shora) v pyridinu se míchá pod dusíkem při teplotě 70 až 75 °C po dobu 16 hodin a poté se zahřívá při zpětném toku 6 hodin. Směs se ochladí na teplotu místnosti a rozpouštědlo se odstraní ve vakuu. Zbytek se extrahuje horkou směsí (1:1) ethylacetátu a chloroformu, filtruje se přes malý polštářek silikagelu a koncentruje a získá se surový produkt. Mžikovou chromatografií na silikagelu, eluováním s chloroformem se získá 4,0 g (71 %) sloučeniny uvedené v názvu jako bezbarvý olej, který stáním tuhne.

t.t.: 86 až 87 °C

R_f = 0,77 (oxid křemičitý, 3:2 ethylacetát/hloroform)

¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 9,25 (s, 2H), 7,39 (bt, 1H), 4,39 (d, J = 6 Hz, 2H), 1,38 (s, 9H).

¹³C NMR (750 MHz, DMSO-d₆) δ 170,4, 160,3, 155,8, 115,2, 106,9, 80,0, 46,3, 28,1

APCI-MS: (M + 1) = 235 m/z

(iv) Boc-Aze-NH-CH₂-((5-kyano)-2-pyrimidinyl)

Boc-NH-CH₂-(5-kyano)-2-pyrimidin (1,14 g, 4,87 mmol; viz stupeň (iii) shora) se rozpustí v 50 ml EtOAc nasyceného plynným HCl a nechá se reagovat 1 hodinu a koncentruje se. Zbytek se rozpustí v 20 ml DMF a ochladí se na ledové lázni. Přidá se diizopropylethylamin (3,5 ml, 0,020 mol), Boc-Aze-OH (1,08 g, 5,37 mmol) a HATU (2,80 g, 5,38 mmol) a reakční směs se míchá při teplotě místnosti přes noc. Rozpouštědlo se odpaří a produkt se čistí preparativní RPLC za použití směsi CH₃CN:0,1M NH₄OAc (40:60). Acetonitril se odpaří a vodná vrstva se extrahuje třikrát EtOAc. Spojená organická vrstva se suší (MgSO₄) a odpaří. Výtěžek: 1,12

g (72 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,95 (s, 2H), 4,82 (d, 2H), 4,74 (m, 1H), 3,95 (m, 1H), 3,84 (m, 1H), 2,6-2,4 (m, 2H), 1,47 (s, 9H)

(v) Boc-Aze-NH-CH₂-((5-amidino)-2-pyrimidinyl) x HOAc

Roztok Boc-Aze-NH-CH₂-((5-kyano)-2-pyrimidinylu) (0,83 g, 2,6 mmol; viz stupeň (iv) shora), N-acetylcysteinu (0,43 g, 2,6 mmol) a octanu amonného (0,60 g, 7,8 mmol) v 10 ml methanolu se zahřívá na teplotu 60 °C po dobu 2 dnů. Rozpouštědlo se odpaří a surový materiál se čistí preparativní HPLC za použití gradientu CH_3CN :0,1M NH_4OAc (5:95 až 100:0). Příslušné frakce se suší vymrazováním a získá se 1,0 g (93 %) žádaného materiálu.

^1H NMR (300 MHz, D_2O , signály překryté signálem HDO) δ 9,17 (s, 2H), 4,1-3,9 (m, 2H), 2,60 (m, 1H), 2,29 (m, 1H), 1,93 (s, 3H), 1,44 (s, 9H)

(vi) Boc-Aze-NH-CH₂-[(5-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl))-2-pyrimidinyl]

K suspenzi Boc-Aze-NH-CH₂-((5-amidino)-2-pyrimidinylu) x HOAc (0,95 g, 2,41 mmol; viz stupeň (v) shora) v 50 ml THF se přidá roztok Teoc-p-nitrofenylkarbonátu (0,85 g, 3,0 mmol) a uhličitanu draselného (1,0 g, 7,2 mmol) v 10 ml vody. Směs se míchá 24 hodin, koncentruje se a rozdělí se mezi vodu a methylenchlorid. Organická vrstva se promyje dvakrát nasyceným vodným roztokem hydrogenuhličitanu sodného, suší se (Na_2SO_4) a odpaří. Surový produkt se čistí mžikovou chromatografií na siliakgelu směsí heptanu a ethylacetátu (1:1). Výtěžek: 1,04 g (90 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,16 (s, 2H), 4,80 (d, 2H), 4,73 (m, 1H), 4,26 (m, 2H), 4,0-3,8 (m, 2H), 2,6-2,4 (m, 2H), 1,47 (s, 9H), 1,12 (m, 2H), 0,07 (s, 9H)

(vii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-[(5-(amino-(trimethylsilylethylimino)methyl))-2-pyrimidinyl]$

Boc-Aze-NH-CH₂-[(5-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl))-2-pyrimidinyl] (0,209 g, 0,437 mmol; viz stupeň (vi) shora) se rozpustí v 25 ml EtOAc nasyceném plynným HCl a směs se nechá reagovat 15 minut. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se rozpustí ve 4 ml DMF. Přidá se $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)OH}$ (0,100 g, 0,396 mmol; viz příklad 1(viii) shora), PyBOP (0,231 g, 0,444 mmol) a diizopropylethylamin (0,208 g, 1,61 mmol) a směs se míchá 80 minut. Reakční směs se vlije do 100 ml vody a extrahuje se třikrát s EtOAc. Spojená organická vrstva se promyje solankou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Surový produkt se čistí preparativní RPLC za použití směsi $\text{CH}_3\text{CN:0,1M NH}_4\text{OAc}$ (1:1). Výtěžek: 63 mg (26 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , směs rotamerů) δ 9,3 (br, 1H), 9,03 (s, 2H, menšinový rotamer), 9,00 (s, 2H, většinový rotamer), 8,25 (m, 1H, většinový rotamer), 7,9 (br, 1H), 7,80 (m, 1H, menšinový rotamer), 7,2-6,9 (m, 3H), 6,50 (t, 1H), 5,14 (s, 1H, menšinový rotamer), 5,08 (m, 1H, menšinový rotamer), 4,94 (s, 1H, většinový rotamer), 4,80 (m, 1H, většinový rotamer), 4,7-4,4 (m, 2H), 4,3-3,9 (m, 3H), 3,74 (m, 1H, většinový rotamer), 2,7-2,1 (m, 2H), 1,03 (m, 2H), 0,01 (s, 9H)

(viii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-(5-amidino)-2-pyrimidinyl}$ x TFA

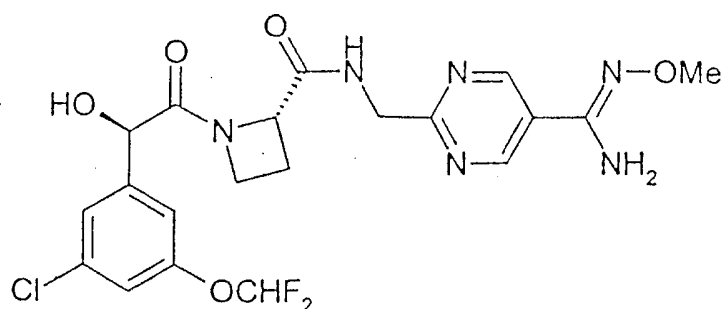
$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-[5-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl)-2-pyrimidinyl]}$ (21 mg, 0,034 mmol; viz stupeň (vii) shora) se rozpustí v 0,5 ml methylenchloridu a ochladí se v ledové lázni. Přidá se TFA (2 ml) a směs se míchá 60 minut a poté se koncentruje. Produkt se suší vymrazováním z vody a acetonitrilu. Výtěžek: 20 mg (100 %). Čistota: 100 %.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , směs signálů rotameru překryta signálem HDO) δ 9,08 (s, 2H), 7,4-7,1 (m, 3H), 6,88 (t, 1H, většinový rotamer), 6,85 (t, 1H, menšinový rotamer), 5,30 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,22 (s, 1H, menšinový rotamer), 5,20 (s, 1H, většinový rotamer), 4,73 (m, 1H, většinový rotamer), 4,34 (m, 1H, rotamer), 4,21 (m, 1H, rotamer), 4,15-3,95 (m, 2H, rotamery), 2,73 (m, 1H, rotamer), 2,57 (m, 1H, rotamer), 2,45-2,25 (m, 2H, rotamery)
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, směs rotamerů) δ 173,0, 172,6, 172,1, 171,0, 163,4.

APCI-MS: $(M + 1) = 469/471 \text{ m/z}$

Příklad 37

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-(5-methoxyamidino)-2-pyrimidinyl}$



(i) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-[(5-(methoxyamino(trimethylsilylethylimino)methyl))-2-pyrimidinyl]}$

Suspenze $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-[(5-(amino(trimethylsilylethylimino)methyl))-2-pyrimidinyl]}$ (40 mg, 0,065 mmol; viz příklad 36(vii) shora) a O-methylhydroxylaminu (33 mg, 0,40 mmol) ve 3 ml acetonitrilu se zahřívá na 70 °C po dobu 3 hodin. Směs se rozdělí mezi vodu a EtOAc. Vodná fáze se extrahuje dvakrát EtOAc a spojená organická fáze se promyje vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Výtěžek: 33 mg (79 %).

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3 , směs rotamerů) δ 8,76 (s, 2H, většinový rotamer), 8,70 (s, 2H, rotamer), 8,18 (m, 1H), 7,62 (s, 1H), 7,4-6,9 (m, 4H), 6,50 (bt, 1H), 5,3-4,5 (m, 4H), 4,2-4,05 (m, 3H), 3,96 (s, 3H), 3,68 (m, 1H), 2,8-2,2 (m, 2H), 2,1 (br, 1H), 0,96 (m, 2H), 0,01 (s, 9H)

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-(5-methoxyamidino)-2-pyrimidinyl]}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NH-CH}_2\text{-[(5-(methoxyamino(trimethylsilylethylimino)methyl))-2-pyrimidinyl]}$ (33 mg, 0,052 mmol; viz stupeň (i) shora) se rozpustí v 0,5 ml methylenchloridu a ochladí se v ledové lázni. Přidá se TFA a směs se míchá 2 hodiny a poté se koncentruje. Produkt se suší vymrazováním z vody a acetonitrilu. Výtěžek: 31 mg (81 %). Čistota: 100 %.

$^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CD_3OD , směs rotamerů, signály překryty signálem HDO) δ 8,96 (s, 2H, rotamer), 8,94 (s, 2H, rotamer), 7,4-7,3 (m, 1H), 7,2-7,1 (m, 2H), 6,88 (t, 1H, rotamer), 6,85 (t, 1H,

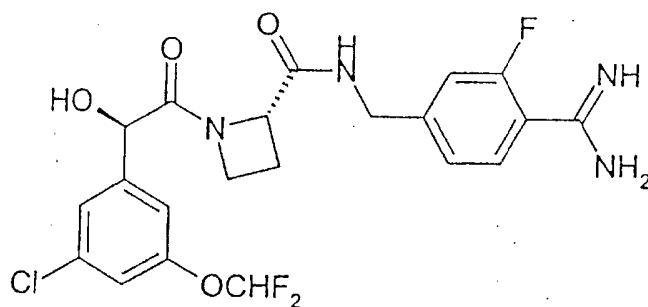
rotamer), 5,29 (m, 1H, rotamer), 5,24 (s, 1H, rotamer), 5,20 (s, 1H, rotamer), 4,75-4,55 (m, 2H), 4,33 (m, 1H, rotamer), 4,19 (m, 1H, rotamer), 4,15-3,95 (m, 2H, rotamery), 3,88 (s, 3H, rotamer), 3,86 (s, 3H, rotamer), 2,72 (m, 1H, rotamer), 2,56 (m, 1H, rotamer), 2,45-2,25 (m, 2H, rotamery)

^{13}C -NMR (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, směs rotamerů) δ 172,8, 172,6, 172,1, 171,8, 167,8, 167,7, 155,1, 152,3, 152,1

APCI-MS: $(M + 1) = 499/501 \text{ m/z}$

Příklad 38

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O}) - \text{Aze} - \text{Pab}(3\text{-F})$



(i) 2-Fluor-4-vinylbenzonitril

Roztok 4-brom-2-fluorbenzonitrilu (4,92 g, 0,0246 mol), vinyltributyltinu (0,78 g, 0,246 mol) a tetrakistrifenyfosfinu (0,67 g, 0,58 mmol) v 250 ml toluenu se zahřívá při zpětném toku pod dusíkem přes noc. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se zpracuje mžikovou chromatografií na silikagelu směsí heptanu a CH_2Cl_2 (1:1) až čistým CH_2Cl_2 . Získá se bezbarvý olej, který krystalizuje. Výtěžek: 3,0 g (82 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,56 (m, 1H), 7,3-7,2 (m, 2H), 6,69 (m, 1H), 5,89 (d, 1H), 5,51 (d, 1H)

(ii) 2-Fluor-4-hydroxymethylbenzonitril

Ochlazeným roztokem ($-78\text{ }^\circ\text{C}$) 2-fluor-4-vinylbenzonitrilu (1,3 g, 8,8 mmol; viz stupeň (i) shora) v 40 ml CH_2Cl_2 a 5 ml methanolu se probublává ozon (50 l/hodinu, 29 g/m^3) po dobu 30 minut. Poté se probublává argon, aby se odstranil přebytek ozonu. Přidá se borohydrid sodný (0,67 g, 0,018 mmol) a chladicí lázeň se odstaví. Směs se míchá a nechá se reagovat 1 hodinu. Směs se odpaří a přidá se 2M HCl. Směs se extrahuje dvakrát s diethyletherem a spojené etherové frakce se suší (Na_2SO_4) a odpaří. Surový produkt krystalizuje. Výtěžek: 1,1 g (81 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,59 (m, 1H), 7,3-7,2 (m, 2H), 4,79 (d, 2H), 2,26 (t, 1H)

(iii) 4-Kyano-3-fluorbenzylmethansulfonát

2-Fluor-4-hydroxymethylbenzonitril (1,3 g, 8,6 mmol; viz stupeň (ii) shora) se rozpustí v 50 ml CH_2Cl_2 a ochladí se v ledové lázni. Přidá se triethylamin (0,87 g, 8,6 mmol) a methansulfonylchlorid (0,99 g, 8,7 mmol). Reakční směs se míchá 1,5 hodiny a promyje se 1M HCl. Organická fáze se suší (Na_2SO_4) a odpaří se. Produkt se může použít bez čištění. Získá se bezbarvý olej: 1,8 g (92 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,66 (m, 1H), 7,35-7,3 (m, 2H), 5,26 (s, 2H), 3,07 (s, 3H)

(iv) 4-Azidomethyl-2-fluorbenzonitril

K ledem chlazenému roztoku 4-kyano-3-fluorbenzylmethansulfonátu (1,8 g, 7,9 mmol; viz stupeň (iii) shora) se přidá azid sodný (0,80 g, 0,012 mol). Směs se míchá přes noc a poté se vlije do 200 ml vody a extrahuje se třikrát s diethyletherem. Spojené etherové fáze se promyjí pětkrát s vodou, suší se a odpaří. Surový bezbarvý olej se může použít bez dalšího čištění. Výtěžek: 1,2 g (87 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,64 (m, 1H), 7,25–7,18 (m, 2H), 4,47 (s, 2H)

(v) 4-Aminomethyl-2-fluorbenzonitril

K suspenzi dihydrátu chloridu cínatého (0,45 g, 2,4 mmol) v 20 ml acetonitrilu se za míchání přidá thiofenol (1,07 g, 9,7 mmol) a triethylamin (0,726 g, 7,17 mmol). Poté se přidá roztok 4-azidomethyl-2-fluorbenzonitrilu (0,279 g, 1,58 mmol; viz stupeň (iv) shora) v několika ml acetonitrilu. Po 1,5 hodině se azid spotřebuje a rozpouštědlo se odpaří. Zbytek se rozpustí v methylenchloridu a promyje se třikrát s 2M NaOH. Organická fáze se extrahuje dvakrát s 1M HCl. Spojené organické fáze se promyjí methylenchloridem a poté se alkalizují s 2M NaOH a extrahují se třikrát methylenchloridem. Organická fáze se suší (Na_2SO_4) a po odpaření se získá 0,172 g (72 %) žádané sloučeniny uvedené v podnázvu, která se může použít bez čištění.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,58 (m, 1H), 7,3–7,2 (m, 2H), 3,98 (s, 2H), 1,55–1,35 (br, 2H)

(vi) Boc-Aze-NHCH₂-Ph(3-F, 4-CN)

K ledem chlazenému roztoku Boc-Aze-OH (0,194 g, 0,96 mmol) v 5 ml DMF se přidá TBTU (0,50 g, 9,6 mmol). Po 30 minutách se přidá další roztok, obsahující 4-aminomethyl-2-fluorbenzonitril (0,17 g, 0,81 mmol; viz stupeň (v) shora) a diisopropylethylamin (0,326 g, 2,53 mmol) v 7 ml DMF. Vzniklý roztok se míchá přes noc při teplotě místnosti. Rozpouštědlo se odpaří a produkt se čistí preparativní RPLC za použití směsi CH₃CN:0,1M NH₄OAc (50:50). Sušením vymrazováním se získá 0,237 g (74 %) žádaného produktu uvedeném v názvu.

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 7,70 (m, 1H), 7,35-7,25 (m, 2H), 4,65-4,35 (m, 3H), 4,0-3,85 (m, 2H), 2,51 (m, 1H), 2,19 (m, 1H), 1,40 (s, 9H)

(vii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NHCH₂-Ph(3-F, 4-CN)

Boc-Aze-NHCH₂-Ph(3-F, 4-CN) (0,118 g, 0,354 mmol; ze stupně (vi) shora) se rozpustí v 30 ml EtOAc nasyceném plynným HCl. Reakční směs se míchá 20 minut a poté se odpaří. Vzniklá dihydrochloridová sůl a HATU (0,152 g, 0,400 mmol) se rozpustí v 5 ml DMF. Tento roztok se přidá k ledem chlazenému roztoku Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (0,101 g, 0,400 mmol; viz příklad 1(viii) shora) v 5 mL DMF. Reakční směs se míchá přes noc při teplotě okolí. Rozpouštědlo se odpaří a produkt se čistí preparativní RPLC směsí CH₃CN:0,1M NH₄OAc (50:50). Sušením vymrazováním se získá 0,130 g (77 %) žádané sloučeniny uvedené v podnázvu.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD směs rotamerů) δ 7,7-7,6 (m, 1H), 7,35-7,1

(m, 5H), 6,88 (t, 1H, rotamer), 6,86 (t, 1H, rotamer), 5,25-5,1 (m, 1H plus menšinový rotamer z následujícího protonu), 4,80 (m, 1H, většinový rotamer), 4,6-4,4 (m, 2H), 4,36 (m, 1H, většinový rotamer), 4,18 (m, 1H, většinový rotamer), 4,07 (m, 1H, menšinový rotamer), 3,98 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,70 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,53 (m, 1H, většinový rotamer), 2,29 (m, 1H, většinový rotamer), 2,16 (m, 1H, menšinový rotamer)

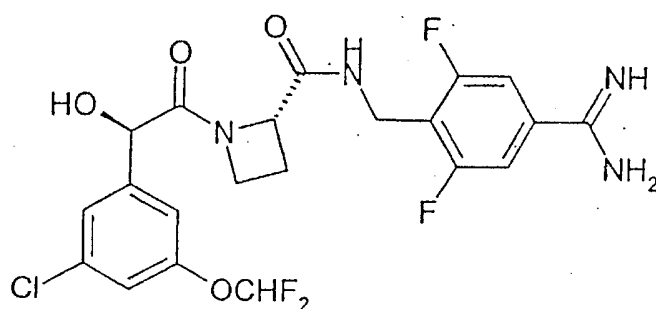
(viii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(3\text{-F})$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-NHCH}_2\text{-Ph}(3\text{-F}, 4\text{-CN})$ (0,130 g, 0,278 mmol; viz stupeň (vii) shora) se rozpustí v 80 ml ethanolu nasyceném plynným HCl. Směs se nechá reagovat při teplotě místnosti přes noc. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se znova rozpustí ve 100 ml ethanolu nasyceném plynným amoniakem. Reakce probíhá pomalu při teplotě místnosti po dobu dvou dnů. Teplota se zvýší na 50 °C a reakce pokračuje další 3 dny. Výchozí materiál se spotřebuje a rozpouštědlo se odpaří. Zbytek se čistí preparativní RPLC a sušením vymrazováním se získá 17 mg (13 %) sloučeniny uvedené v názvu jako HOAc sůl.

^1H NMR (600 MHz, CD_3OD směs rotamerů) δ 7,65-7,6 (m, 1H), 7,4-7,3 (m, 3H), 7,25-7,1 (m, 2H), 7,15-6,7 (m, 1H), 5,25-5,1 (m, 1H plus menšinový rotamer následujícího protonu), 4,8 (m, 1H, většinový rotamer částečně překryt CD_3OH), 4,6-3,95 (m, 4H), 2,69 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,56 (m, 1H, většinový rotamer), 2,28 (m, 1H, většinový rotamer), 2,14 (m, 1H, menšinový rotamer), 1,90 (s, 3H)
 ^{13}C -NMR (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, směs rotamerů) δ 180, 6, 173,4, 173,1, 172,9, 164,5, 162,3, 159,8
 APCI-MS: $(M + 1) = 485/487 \text{ m/z}$

Příklad 39

Ph(3-Cl) (5-OCHF₂) - (R) CH(OH) C(O) -Aze-Pab (2,6-diF)



(i) 2,6-Difluor-4[(methylsulfinyl) (methylthio)methyl]benzonitril

(Methylsulfinyl) (methylthio)methan (7,26g, 0,0584 mol) se rozpustí ve 100 ml suchého THF pod argonem a ochladí se na -78 °C. Po kapkách a za míchání se přidá butyllithium v hexanu (16 ml 1,6M, 0,0256 mol). Směs se míchá 15 minut. Mezitím se ochladí roztok 3,4,5-trifluorbenzonitrilu (4,0 g, 0,025 mmol) ve 100 ml suchého THF na -78 °C pod argonem a dříve připravený roztok se přidá pomocí kanyly během 35 minut k později připravenému roztoku. Po 30 minutách se chladicí lázeň odstaví a když reakční směs dosáhne teploty místnosti, vlije se do 400 ml vody. THF se odpaří a zbývající vodná vrstva se extrahuje třikrát diethyletherem. Spojené etherové fáze se promyje s vodou, suší se (Na₂SO₄) a odpaří. Výtěžek: 2,0 g (30 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,4-7,25 (m, 2H), 5,01 (s, 1H, diasteromer), 4,91 (s, 1H, diasteromer), 2,88 (s, 3H, diasteromer), 2,52 (s, 3H, diasteromer), 2,49 (s, 3H, diasteromer), 2,34 (s, 3H, diasteromer), 1,72 (br, 1H)

(ii) 2,6-Difluor-4-formylbenzonitril

2,6-Difluor-4[(methylsulfinyl)(methylthio)methyl]benzonitril (2,17 g, 8,32 mmol; viz stupeň (i) shora) se rozpustí v 90 ml THF a přidá se 3,5 ml koncentrované kyseliny sírové. Směs se nechá stát při teplotě místnosti 3 dny a následně se vlije do 450 ml vody. Následuje 3x extrakce s EtOAc a spojená etherová fáze se promyje dvakrát vodným hydrogenuhlíčitanem sodným a poté solankou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Výtěžek: 1,36 g (98 %). Poloha formylové skupiny se stanovila ^{13}C NMR. Signál z fluorovaných uhlíků při 162,7 ppm vykazoval očekávaný kopulační charakteristický rys se dvěma kopulačními konstantami v pořadí 260 Hz a 6,3 Hz, odpovídající ipso a meta kopulaci atomů fluoru.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 10,35 (s, 1H), 7,33 (m, 2H)

(iii) 2,6-Difluor-4-hydroxymethylbenzonitril

2,6-Difluor-4-formylbenzonitril (1,36 g, 8,13 mmol; viz stupeň (ii) shora) se rozpustí v 25 ml methanolu a ochladí se v ledové lázni. Za míchání se přidá po částech borohydrid sodný (0,307 g, 8,12 mmol) a reakční směs se nechá 65 minut. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se rozdělí mezi diethylether a vodný hydrogenuhlíčitan sodný. Etherová vrstva se promyje ještě vodným hydrogenuhlíčitanem sodným a solankou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Surový produkt krystalizuje brzo a může se použít bez dalšího čištění. Výtěžek 1,24 g (90 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,24 (m, 2H), 4,81 (s, 2H), 2,10 (br, 1H)

(iv) 4-Kyano-2,6-difluorbenzylmethansulfonát

K ledem chlazenému roztoku 2,6-difluor-4-hydroxymethylbenzonitrilu (1,24 g, 7,32 mmol; viz stupeň (iii) shora) a methansulfonylchloridu (0,93 g, 8,1 mmol) v 60 ml methylenchloridu se přidá za míchání triethylamin (0,81 g, 8,1 mmol). Po 3 hodinách se při 0 °C směs promyje dvakrát 1M HCl a jednou vodou, suší se (Na₂SO₄) a odpaří se. Produkt se může použít bez dalšího čištění. Výtěžek: 1,61 g (89 %).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,29 (m, 2H), 5,33 (s, 2H), 3,07 (s, 3H)

(v) 4-Azidomethyl-2,6-difluorbenzonitril

Směs 4-kyano-2,6-difluorbenzylmethansulfonátu (1,61 g, 6,51 mmol; viz stupeň (iv) shora) a azidu sodného (0,72 g, 0,0111 mol) v 10 ml vody a 20 ml DMF se míchá při teplotě místnosti přes noc. Vzniklá směs se vlije do 200 ml vody a extrahuje se třikrát diethyletherem. Spojená etherová fáze se promyje pětkrát vodou, suší se (Na₂SO₄) a odpaří se. Malý vzorek se odpaří pro analýzu NMR a produkt se krystalizuje. Zbytek se opatrně odpaří, ale nikoliv do sucha. Výtěžek (teoreticky 1,26 g) je téměř kvantitativní (NMR a analytická HPLC).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7,29 (m, 2H), 4,46 (s, 2H)

(vi) 4-Aminomethyl-2,6-difluorbenzonitril

Tato reakce se provádí podle postupu popsáném v J. Chem. Res. (M) (1992) 3128. K suspenzi 520 mg 10% Pd/C (50% vlhkost) v 20 ml

vody se přidá roztok borohydridu sodného (0,834 g, 0,0221 mol) v 20 ml vody, přičemž se dochází k uvolňování plynu. 4-Azido-methyl-2,6-difluorbenzonitril (1,26 g, 6,49 mmol; viz stupeň (v) shora) se rozpustí v 50 ml THF a přidá se k vodné směsi v ledové lázni během 15 minut. Směs se míchá 4 hodiny, přidá se 20 ml 2M HCl a směs se filtruje přes Celit. Celit se propláchne ještě větším množstvím vody a spojená vodná fáze se promyje s EtOAc a následně se alkalizuje s 2M NaOH. Následuje extrakce třikrát s methylenchloridem a spojená organická fáze se promyje s vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Výsledek: 0,97 g (80 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,20 (m, 2H), 3,96 (s, 2H), 1,51 (br, 2H)

(vii) 2,6-Difluor-4-tert-butoxykarbonylaminomethylbenzonitril

Roztok 4-aminomethyl-2,6-difluorbenzonitrilu (0,876 g, 5,21 mmol; viz stupeň (vi) shora) se rozpustí v 50 ml THF a přidá se di-tert-butyldikarbonát (1,14 g, 5,22 mmol) v 10 ml THF. Směs se míchá 3,5 hodiny. THF se odpaří a zbytek se rozdělí mezi vodu a EtOAc. Organická vrstva se promyje třikrát s 0,5 M HCl a vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Produkt se může použít bez dalšího čištění. Výtěžek: 1,38 g (99 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,21 (m, 2H), 4,95 (br, 1H), 4,43 (br, 2H), 1,52 (s, 9H)

(viii) Boc-Pab(2,6-diF)(OH)

Směs 2,6-difluor-4-tert-butoxykarbonylaminomethylbenzonitrilu (1,38 g, 5,16 mmol; viz stupeň (vii) shora), hydroxylamin-

hydrochloridu (1,08 g, 0,0155 mol) a triethylaminu (1,57 g, 0,0155 mol) v 20 ml ethanolu se míchá při teplotě místnosti po dobu 36 hodin. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se rozdělí mezi vodu a methylenchlorid. Organická vrstva se promyje s vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Produkt se může použít bez čištění. Výtěžek: 1,43 g (92 %).

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7,14 (m, 2H), 4,97 (br, 1H), 4,84 (br, 2H), 4,40 (br, 2H), 1,43 (s, 9H)

(ix) Boc-Pab(2,6-diF) x HOAc

Tato reakce se provede podle postupu, který popsal Judkins a kol., Synth. Comm. (1998) 4351. Boc-Pab(2,6-diF)(OH) (1,32 g, 4,37 mmol; viz stupeň (viii) shora), anhydrid kyseliny octové (0,477 g, 4,68 mmol) a 442 mg 10% Pd/C (50% vlhkost) ve 100 ml kyseliny octové se hydrogenuje při tlaku 0,505 MPa po dobu 3,5 hodiny. Směs se filtruje přes Celit, propláchne se ethanolem a odpaří se. Zbytek se suší vymrazováním z acetonitrilu a vody a několika kapek ethanolu. Sloučenina uvedená v podnázvu se může použít bez dalšího čištění. Výtěžek: 0,149 g (99 %).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,45 (m, 2H), 4,34 (s, 2H), 1,90 (s, 3H), 1,40 (s, 9H)

(x) Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc)

K roztoku Boc-Pab(2,6-diF) x HOAc (1,56 g, 5,49 mmol; viz stupeň (ix) shora) ve 100 ml THF a 1 ml vody se přidá 2-(trimethylsilyl)ethyl-p-nitrofenylkarbonát (1,67 g, 5,89 mmol). Po kapkách se během 5 minut přidá roztok uhličitanu draselného (1,57 g, 0,0114

mol) v 20 ml vody. Směs se míchá přes noc. THF se odpaří a zbytek se rozdělí mezi vodu a methylenchlorid. Vodná vrstva se extrahuje s methylenchloridem a spojená organická fáze se promyje dvakrát vodným hydrogenuhličitanem sodným, suší se (Na_2SO_4) a odpaří. Mžikovou chromatografií na silikagelu směsí heptan/EtOAc = 2/1 se získá 1,71 g (73 %) čisté sloučeniny.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,43 (m, 2H), 4,97 (br, 1H), 4,41 (br, 2H), 4,24 (m, 2H), 1,41 (s, 9H), 1,11 (m, 2H), 0,06 (s, 9H)

(xi) Boc-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc)

Boc-Pab(2,6-diF)(Teoc) (1,009 g, 2,35 mmol; viz stupeň (x) shora) se rozpustí v 50 ml EtOAc nasyceném plynným HCl. Směs se nechá 10 minut, odpaří se a rozpustí v 18 ml DMF a poté se ochladí na ledové lázni. Přidá se Boc-Aze-OH (0,450 g, 2,24 mmol), PyBOP (1,24 g, 2,35 mmol) a konečně diizopropylethylamin (1,158 g, 8,96 mmol). Reakční směs se míchá 2 hodiny a poté se vlije do 350 ml vody a extrahuje se třikrát s EtOAc. Spojené organické fáze se promyjí solankou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří. Mžikovou chromatografií na silikagelu směsí heptan:EtOAc (1:3) se získá 1,097 g (06 %) žádané sloučeniny.

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,46 (m, 2H), 4,65-4,5 (m, 3H), 4,23 (m, 2H), 3,87 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 2,45-2,3 (m, 2H), 1,40 (s, 9H), 1,10 (m, 2H), 0,05 (s, 9H)

(xii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc)

Boc-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (0,256 g, 0,500 mmol; viz stupeň (xi) shora) se rozpustí v 20 ml EtOAc nasyceného plynným HCl. Směs se

nechá 10 minut a odpaří se a rozpustí se v 5 ml DMF. Přidá se Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (0,120 g, 0,475 mmol; viz příklad 1(viii) shora), PyBOP (0,263 g, 0,498 mmol) a nakonec diizopropylethylamin (0,245 g, 1,89 mmol). Reakční směs se míchá 2 hodiny a poté se vlije do 350 ml vody a extrahuje se třikrát s EtOAc. Spojená organická fáze se promyje solankou, suší se (Na₂SO₄) a odpaří se. Mžíkovou chromatografií na silikagelu s EtOAc se získá 0,184 g (60 %) žádané sloučeniny uvedené v podnázvu.

¹H NMR (400 MHz, CD₃OD, směs rotamerů) δ 7,55-7,45 (m, 2H), 7,32 (m, 1H, většinový rotamer), 7,27 (m, 1H, menšinový rotamer), 7,2-7,1 (m, 2H), 6,90 (t, 1H, většinový rotamer), 6,86 (t, 1H, menšinový rotamer), 5,15 (s, 1H, většinový rotamer), 5,12 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,06 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,72 (m, 1H, většinový rotamer), 4,6-4,45 (m, 2H), 4,30 (m, 1H, většinový rotamer), 4,24 (m, 2H), 4,13 (m, 1H, většinový rotamer), 4,04 (m, 1H, menšinový rotamer), 3,95 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,62 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,48 (m, 1H, většinový rotamer), 2,22 (m, 1H, většinový rotamer), 2,10 (m, 1H, menšinový rotamer), 1,07 (m, 2H), 0,07 (m, 9H)

(xiii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF)(Teoc) (81 mg, 0,127 mmol; viz stupeň (xii) shora) se rozpustí v 0,5 ml methylenchloridu a ochladí se v ledové lázni. Přidá se TFA (3 ml) a reakční směs se nechá 75 minut. TFA se odpaří a zbytek se suší vymrazováním z vody a acetonitrilu. Surový produkt se čistí preparativní RPLC směsí CH₃CN:0,1M NH₄OAc (35:65) a získá se 39 mg (55 %) sloučeniny uvedené v názvu jako její HOAc sůl, čistoty 99 %.

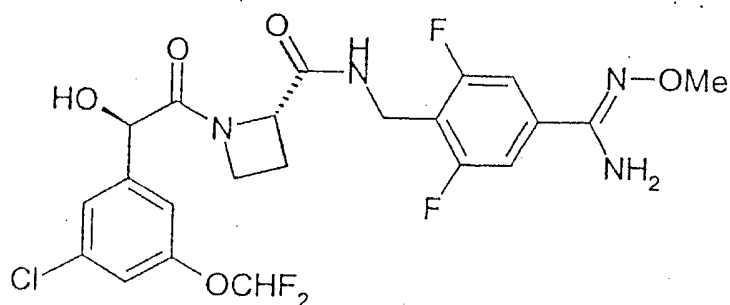
^1H NMR (400 MHz, CD_3OD směs rotamerů) δ 7,5-7,4 (m, 2H), 7,32 (m, 1H, většinový rotamer), 7,28 (m, 1H, menšinový rotamer), 7,2-7,1 (m, 3H) 6,90 (t, 1H, většinový rotamer), 6,86 (t, menšinový rotamer), 5,15 (s, 1H, většinový rotamer), 5,14 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,07 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,72 (m, 1H, většinový rotamer), 4,65-4,45 (m, 2H), 4,30 (m, 1H, většinový rotamer), 4,16 (m, 1H, většinový rotamer), 4,03 (m, 1H, menšinový rotamer), 3,95 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,63 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,48 (m, 1H, většinový rotamer), 2,21 (m, 1H, většinový rotamer), 2,07 (m, 1H, menšinový rotamer), 1,89 (s, 3H)

^{13}C -NMR (75 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, směs rotamerů) δ 171, 9, 171,2, 165,0, 162,8,160,4

APCI-MS: ($M + 1$) = 503/505 m/z.

Příklad 40

Ph(3-Cl) (5-OCHF₂) - (R) CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF) (OMe)



(i) Ph(3-Cl) (5-OCHF₂) - (R) CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF) (OMe, Teoc)

Směs Ph(3-Cl) (5-OCHF₂) - (R) CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,6-diF) (Teoc) (64 mg, 0,099 mmol; viz příklad 39(xii) shora) a O-methylhydroxylaminhydrochloridu (50 mg, 0,60 mmol) v 4 ml acetonitrilu se zahřívá na 70 °C po dobu 3 hodin. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek

se rozdělí mezi vodu a EtOAc. Vodná vrstva se extrahuje dvakrát s EtOAc a spojená organická fáze se promyje vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Produkt se může použít bez dalšího čištění. Výtěžek: 58 mg (87 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,90 (bt, 1H), 7,46 (m, 1H), 7,25-6,95 (m, 5H), 6,51, t, 1H), 4,88 (s, 1H), 4,83 (m, 1H), 4,6-4,5 (m, 2H), 4,4-3,9 (m, 4H), 3,95 (s, 3H), 3,63 (m, 1H), 2,67 (m, 1H), 2,38 (m, 1H), 1,87 (br, 1H), 0,98 (m, 2H), 0,01, s, 9H)

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{OMe})$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{OMe}, \text{Teoc})$ (58 mg, 0,086 mmol; viz stupeň (i) shora) se rozpustí ve 3 ml TFA, ochladí se v ledové lázni a nechá se reagovat po dobu 2 hodin. TFA se odpaří a zbytek se rozpustí v EtOAc. Organická vrstva se promyje dvakrát s vodným uhličitánem sodným a vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Zbytek se suší vymrazováním z vody a acetonitrilu a získá se 42 mg (92 %) sloučeniny uvedené v názvu. Čistota: 94 %.

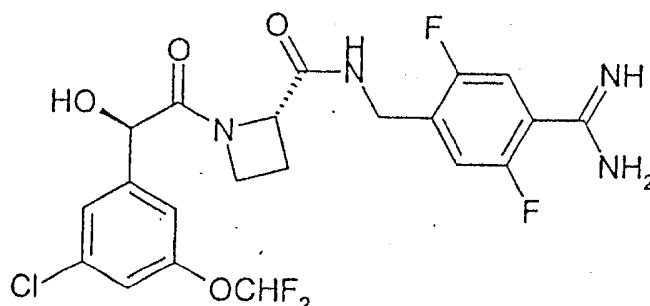
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,95 (bt, 1H), 7,2-7,1 (m, 4H), 6,99 (m, 1H), 6,52 (t, 1H), 4,88 (s, 1H), 4,85-4,75 (m, 3H), 4,6-4,45 (m, 2H), 4,29 (br, 1H), 4,09 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,69 (m, 1H), 2,64 (m, 1H), 2,38 (m, 1H), 1,85 (br, 1H)

^{13}C -NMR (100 MHz; CDCl_3): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky) δ 172,1, 169,8, 151,9

APCI-MS: $(\text{M} + 1) = 533/535 \text{ m/z}$

Příklad 41

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)



(i) 2,5-Difluor-4-[(methylsulfinyl)(methylthio)methyl]benzonitril

(Methylsulfinyl)(methylthio)methan (3,16 g, 0,0255 mol) se rozpustí v 50 ml suchého THF pod argonem a poté se ochladí na teplotu -78 °C. Po kapkách a za míchání se přidá butyllithium v hexanu (16 ml 1,6M, 0,0256). Směs se míchá 15 minut. Mezitím se ochladí roztok 2,4,5-trifluorbenzonitrilu (2,0 g, 0,013 mmol) v 50 ml suchého THF na -78 °C pod argonem a dříve připravený roztok se přidá pomocí kanyly během 3-5 minut k později připravenému roztoku. Po 30 minutách se chladicí lázeň odstaví a když reakční směs dosáhne teploty místnosti, vlije se do 200 ml vody. THF se odpaří a zbývající vodná vrstva se extrahuje třikrát diethyletherem. Spojené etherové fáze se promyjí s vodou, suší se (Na₂SO₄) a odpaří. Surový produkt začne krystalovat a může se použít jako takový v příštím stupni. Výtěžek: 2,8 g (84 %).

¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7,51-7,44 (m, 2H, většinový diastereomer), 7,39 (dd, 1H, menšinový diastereomer), 5,00 (s, 1H, menšinový diastereomer), 4,92 (s, 1H, většinový diastereomer), 2,59 (s, 3H, menšinový diastereomer), 2,56 (s, 1H, většinový diastereomer), 2,46 (s, 1H, menšinový diastereomer), 2,40 (s, 1H, většinový diastereomer)

(ii) 2,5-Difluor-4-formylbenzonitril

2,5-Difluor-4-[(methylsulfinyl)(methylthio)methyl]benzonitril (2,8 g, 0,0107 mol; viz stupeň (i) shora) se rozpustí ve 100 ml THF a přidá se 6,5 g koncentrované kyseliny sírové. Směs se nechá stát při teplotě místnosti 6 dnů a následně se vlije do 500 ml vody. Následuje 3x extrakce s diethyletherem a spojená etherová fáze se promyje několikrát vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Surový produkt se čistí mžikovou chromatografií na silikagelu za použití směsi heptan:EtOAc (8:2). Výtěžek: 1,2 g (67 %). Poloha formylové skupiny se stanovila ^{13}C NMR. Uhlíkové signály z fluorovaných uhlíků při 160,1 a 158,4 byly dublety a nikoli kvartety, kterými by měly být, pokud by formylová skupina byla ve 2 poloze.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10,36 (d, 1H), 7,72 (dd, 1H), 7,54 (dd, 1H)

(iii) 2,5-Difluor-4-hydroxymethylbenzonitril

2,5-Difluor-4-formylbenzonitril (3,60 g, 0,0215 mol; viz stupeň (ii) shora) se rozpustí v 50 ml methanolu a ochladí se v ledové lázni. Po částech a za míchání se přidá borohydrid sodný (0,815 g, 0,0215 mol) a reakční směs se nechá 45 minut. Přidá se voda (300 ml) a poté opatrně 2M HCl dokud se nedosáhne kyselého pH. Směs se extrahuje třikrát diethyletherem a spojená etherová fáze se promyje s vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří. Surový produkt krystalizuje brzo a může se použít bez dalšího čištění. Výtěžek: 3,1 g (85 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,45 (dd, 1H), 7,30 (dd, 1H), 4,85 (s, 2H), 2,10 (br, 1H)

(iv) 4-Kyano-2,5-difluorbenzylmethansulfonát

K ledem chlazenému roztoku 2,5-difluor-4-hydroxymethylbenzonitrilu (3,10 g, 0,0183 mol; viz stupeň (iii) shora) a methansulfonylchloridu (2,21 g, 0,0192 mol) v 60 ml methylenchloridu se přidá za míchání triethylamin (1,95 g, 0,0192 mol). Po 1,5 hodině při 0 °C se směs promyje vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Produkt se může použít bez dalšího čištění. Výtěžek: 4,5 g (99 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,45–7,35 (m, 2H), 5,32 (s, 2H), 3,13 (s, 3H)

(v) 4-Azidomethyl-2,5-difluorbenzonitril

Směs 4-kyano-2,5-difluorbenzylmethansulfonátu (4,5 g, 0,0182 mol; viz stupeň (iv) shora) a azidu sodného (2,0 g, 0,031 mol) v 20 ml vody a 40 ml DMF se míchá při teplotě místnosti 2 hodiny. Směs se poté vlije do 300 ml vody a extrahuje se třikrát diethyletherem. Spojená etherová fáze se promyje několikrát vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Malý vzorek se odpaří pro účely NMR a produkt krystalizuje. Zbytek se opatrně odpaří ale nikoliv úplně do sucha. Výtěžek (teoreticky 3,5 g) je téměř kvantitativní (založeno na NMR a analytické HPLC).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ ,38 (dd, 1H), 7,32 (dd, 1H), 4,54 (s, 2H)

(vi) 4-Aminomethyl-2,5-difluorbenzonitril

Tato reakce se provádí podle postupu popsáném v J. Chem. Res. (M) (1992) 3128. K suspenzi 300 mg 10% Pd/C (50% vlhkost) v 20 ml vody se přidá roztok borohydridu sodného (0,779 g, 0,0206 mol) v 20 ml vody, přičemž se dochází k uvolňování plynu. 4-Azido-methyl-2,5-difluorbenzonitril (1,00 g, 5,15 mmol; ze stupně (v) shora) se rozpustí v 60 ml THF a přidá se k vodné směsi v ledové lázni. Směs se míchá 1,5 hodiny, přidá se 10 ml 2M HCl a směs se filtruje přes Celit. Celit se propláchne ještě větším množstvím vody a spojená vodná fáze se promyje s EtOAc a následně se alkalizuje s 2M NaOH. Následuje extrakce třikrát s methylenchloridem a spojená organická fáze se promyje s vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Výsledek: 0,47 g (54 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,39 (dd, 1H), 7,29 (dd, 1H), 3,99 (s, 2H), 1,45 (br, 2H)

(vii) 2,5-Difluor-4-terc-butoxykarbonylaminomethylbenzonitril

Roztok 4-aminomethyl-2,5-difluorbenzonitrilu (0,46 g, 2,7 mmol; viz stupeň (vi) shora) a di-terc-butyldikarbonátu (0,60 g, 2,7 mmol) v 10 ml THF se míchá přes noc. THF se odpaří a zbytek se rozdělí mezi vodu a EtOAc. Organická vrstva se promyje s vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří. Produkt se může použít bez dalšího čištění. Výtěžek: 0,71 g (97 %).

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 7,35-7,2 (m, 2H), 5,11 (br triplet, 1H), 4,38 (d, 2H), 1,45 (s, 9H)

(viii) Boc-Pab(2,5-diF)(OH)

Směs 2,5-difluor-4-terc-butoxykarbonylaminomethylbenzonitrilu

(0,70 g, 2,6 mmol; viz stupeň (vii) shora), hydroxylaminhydrochloridu (0,54 g, 7,8 mmol) a triethylaminu (0,79 g, 7,8 mmol) v 10 ml ethanolu se míchá při teplotě místnosti 6 dnů. Směs se rozdělí mezi vodu a methylenchlorid. Vodná fáze se extrahuje s methylenchloridem a spojená organická fáze se promyje s vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Produkt se může použít bez dalšího čištění. Výtěžek: 0,72 g (92 %).

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7,27 (dd, 1H), 7,12 (dd, 1H), 4,29 (s, 2H), 1,47 (s, 9H)

(ix) Boc-Pab(2,5-diF) x HOAc

Tato reakce se může provést postupem, který popsal Judkins a kol., Synth. Comm. (1998) 4351. Boc-Pab(2,5-diF)(OH) (0,70 g, 2,3 mmol; viz stupeň (viii) shora), anhydrid kyseliny octové (0,25 g, 2,4 mmol) a 230 mg 10% Pd/C (50% vlhkost) v 70 ml kyseliny octové se hydrogenuje při tlaku 0,505 MPa po dobu 2,5 hodin. Směs se filtruje přes Celit a odpaří se. Zbytek se suší vymrazováním z acetonitrilu a vody. Produkt se může použít bez dalšího čištění v příštím stupni. Výtěžek: 0,80 g (100 %).

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7,49 (dd, 1H), 7,31 (dd, 1H), 4,33 (s, 2H), 1,91 (s, 3H), 1,46 (s, 9H)

(x) Boc-Pab(2,5-diF)(Teoc)

K suspenzi Boc-Pab(2,5-diF) x HOAc (0,80 g, 2,3 mmol; viz stupeň (ix) shora) v 50 ml THF se přidá 2-(trimethylsilyl)ethyl-p-nitro-fenylkarbonát (0,85 g, 3,0 mmol). Potom se přidá po kapkách roztok uhličitanu draselného (0,80 g, 5,8 mmol) v 10 ml vody.

Směs se míchá přes noc. Přebytek Teoc činidla se rozloží přidáním glycinu (0,100 g) a uhličitanu draselného (0,75 g) k roztoku a směs se nechá reagovat další 2 hodiny. THF se odpaří a zbytek se rozdělí mezi vodu a methylenchlorid. Vodná vrstva se extrahuje s methylenchloridem a spojená organická fáze se promyje vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Mžikovou chromatografií na silikagelu směsí heptan:EtOAc (2:1) se získá 0,72 g (72 %) čisté sloučeniny.

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,00 (dd, 1H), 7,15 (dd, 1H), 4,98 (br, 1H), 4,36 (bd, 2H), 4,24 (m, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,12 (m, 2H), 0,07 (s, 9H)

(xi) H-Pab(2,5-diF)(Teoc) x 2 HCl

Boc-Pab(2,5-diF)(Teoc) (0,38 g, 0,88 mmol; viz stupeň (x) shora) se rozpustí v 50 ml EtOAc nasyceném plynným HCl. Směs se nechá 30 minut stát a odpaří se.

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 7,75-7,6 (m, 2H), 4,46 (m, 2H), 4,3 (s, 2H), 1,15 (m, 2H), 0,07 (s, 9H)

(xii) Boc-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc)

K míchanému roztoku Boc-Aze-OH (0,189 g, 0,94 mmol), H-Pab(2,5-diF)(Teoc) x 2 HCl (0,36 g, 0,89 mmol; viz stupeň (xi) shora) a PyBOP (0,54 g, 1,03 mmol) v 5 ml DMF se přidá diizopropylethylamin (0,49 g, 3,8 mmol) a směs se nechá reagovat přes noc.

Vzniklá směs se poté vlije do vodného hydrogenuhličitanu sodného a extrahuje se třikrát s EtOAc. Spojená organická fáze se promyje s vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Mžikovou chromatografií na

silikagelu směsí heptan:EtOAc (3:7) se získá dostatečně čistá sloučenina. Výtěžek 0,25 g (48 %).

^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 7,98 (dd, 1H), 7,13 (dd, 1H), 4,69 (m, 1H), 4,53 (m, 2H), 4,22 (m, 2H), 3,92 (m, 1H), 3,79 (m, 1H), 2,55-2,35 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,11 (m, 2H), 0,06 (s, 9H)

(xiii) H-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) x 2 HCl

Boc-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) (0,25 g, 0,49 mmol; viz stupeň (xii) shora) se rozpustí v 50 ml EtOAc nasyceném s plynným HCl. Směs se nechá 30 minut a odpaří se. Produkt se použije v příštím stupni bez dalšího čištění. Výtěžek: 0,23 g (97 %).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD) δ 7,59 (dd, 1H), 7,47 (dd, 1H), 5,14 (m, 1H), 4,54 (m, 2H), 4,48 (m, 2H), 4,15 (m, 1H), 3,96 (m, 1H), 2,87 (m, 1H), 2,56 (m, 1H), 1,17 (m, 2H), 0,05 (s, 9H)

(xiv). Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc)

K roztoku Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)OH (0,12 g, 0,47 mmol; viz příklad 1(viii) shora), H-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) x 2 HCl (0,23 g, 0,47 mmol; viz stupeň (xiii) shora) a PyBOP (0,27 g, 0,52 mmol) v 10 ml DMF se přidá diizopropylethylamin (0,245 g, 1,90 mmol), a směs se míchá přes noc. Výsledná směs se vlije do vody a extrahuje se třikrát s EtOAc. Spojená organická fáze se promyje vodou, suší se (Na_2SO_4) a odpaří se. Mžikovou chromatografií na silikagelu s EtOAc se získá 100 mg čisté frakce a 30 mg frakce čistoty 90 %. Celkový výtěžek: 0,13 g (41 %).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 9,80 (br, 1H), 8,05 (bt, 1H), 7,94

(dd, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,2-7,1 (m, 2H), 7,02 (m, 1H), 6,54 (t, 1H), 4,93 (s, 1H), 4,91 (m, 1H), 4,51 (m, 2H), 4,28 (br, 1H), 4,23 (m, 2H), 4,13 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 2,69 (m, 1H), 2,43 (m, 1H), 1,73 (br, 1H), 1,11 (m, 2H), 1,11 (s, 9H)

(xv) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) (60 mg (0,093 mmol) čisté frakce ze stupně (xiv) shora) se rozpustí ve 3 ml TFA a nechá se stát při teplotě místnosti 1 hodinu. TFA se odpaří a zbytek se suší vymrazováním z vody a acetonitrilu a získá se 55 mg (96 %) sloučeniny uvedené v názvu, jako její TFA sůl, čistoty > 99 %.

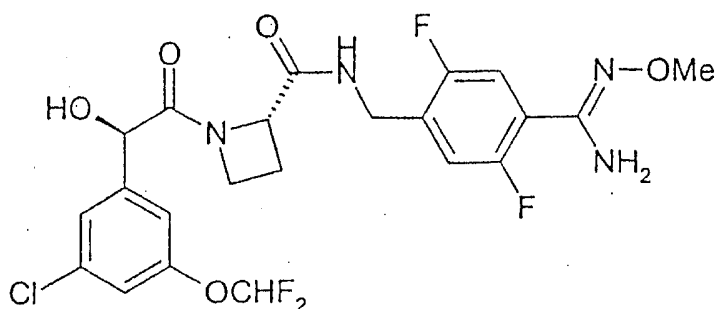
¹H NMR (500 MHz, CD₃OD směs rotamerů) δ 7,55-7,3 (m, 3H), 7,2-7,1 (m, 2H), 6,88 (t, 1H, většinový rotamer), 6,86 (t, 1H, menšinový rotamer), 5,22 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,20 (s, 1H, většinový rotamer), 5,13 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,80 (m, 1H, většinový rotamer), 4,6-4,45 (m, 2H), 4,36 (m, 1H, většinový rotamer), 4,19 (m, 1H, většinový rotamer), 4,07 (m, 1H, menšinový rotamer), 3,98 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,70 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,54 (m, 1H, většinový rotamer), 2,28 (m, 1H, většinový rotamer), 2,14 (m, 1H, menšinový rotamer)

¹³C-NMR (75 MHz; CD₃OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, směs rotamerů) δ 173,0, 172,6, 172,1, 172,0, 162,4

APCI-MS: (M + 1) = 503/505 m/z.

Příklad 42

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe)



(i) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe,Teoc)

Směs Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(Teoc) (40 mg, 0,062 mmol; viz příklad 41(xiv) shora) a O-methylhydroxylaminhydrochloridu (58 mg, 0,70 mmol) v 5 ml acetonitrilu se zahřívá při teplotě 70 °C po dobu 2 hodin. Rozpouštědlo se odpaří a zbytek se rozdělí mezi vodu a EtOAc. Vodná vrstva se extrahuje s EtOAc a spojená organická fáze se promyje s vodou, suší se (Na₂SO₄) a odpaří se. Produkt se může použít bez dalšího čištění. Výtěžek: 35 mg (84 %).

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7,99 (bt, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,15-7,1 (m, 1H), 7,07 (dd, 1H), 7,01 (m, 1H), 6,53 (t, 1H), 4,90 (s, 1H), 4,88 (m, 1H), 4,48 (m, 2H), 4,2-4,1 (m, 3H), 3,95 (s, 3H), 3,67 (m, 1H), 2,68 (m, 1H), 2,41 (m, 1H), 0,97 (m, 2H), 0,07 (s, 9H)

(ii) Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe)

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(2,5-diF)(OMe, Teoc) (35 mg, 0,052 mmol; viz stupeň (i) shora) se rozpustí ve 3 ml TFA a nechá se reagovat 30 minut. TFA se odpaří a zbytek se suší vymrazováním z vody a acetonitrilu a získá se 29 mg (99 %) sloučeniny uvedené v názvu. Čistota: 97 %.

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,01 (bt, 1H), 7,45 (dd, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,15 (m, 1H), 7,09 (dd, 1H), 7,02 (m, 1H), 6,54 (t, 1H), 5,2-5,0 (m, 2H), 4,95-4,85 (m, 2H), 4,6-4,4 (m, 2H), 4,25 (br, 1H), 4,13 (m, 1H), 3,90 (s, 3H), 3,71 (m, 1H), 2,69 (m, 1H), 2,43 (m, 1H)

^{13}C -NMR (75 MHz; CDCl_3): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky) δ 173,0, 170,9, 152,6

APCI-MS: $(M + 1) = 533/535$ m/z.

Příklad 43

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt)}$

(i) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt, Teoc)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (55 mg, 0,090 mmol; viz příklad 1(ix) shora) a O-ethylhydroxylaminhydrochlorid (53 mg, 0,54 mmol) se rozpustí ve 4 ml THF. Směs se míchá při teplotě 60 °C po dobu 5 hodin. Rozpouštědlo se odpaří. Zbytek se chromatografuje na silikagelu eluováním směsí methylenchlorid:methanol (95:5) a získá se 55 mg (93 %) sloučeniny uvedené v podnázvu.

^1H -NMR (400 MHz; CDCl_3): δ 7,84 (bt, 1H), 7,59 (bs, 1H), 7,47 (bd, 1H), 7,29 (bd, 1H), 7,21 (m, 1H), 7,14 (m, 1H), 7,02 (m, 1H), 6,53 (t, 1H), 4,90 (s, 1H), 4,86 (m, 1H), 4,55-4,4 (m, 2H), 4,25-4,1 (m, 5H), 3,69 (m, 1H), 2,66 (m, 1H), 2,41 (m, 1H), 1,33 (t, 3H), 0,98 (m, 2H), 0,02 (s, 9H)

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl, 5-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt)}$

K ledem chlazenému roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OEt, Teoc)}$. (55 mg, 0,084 mmol; viz stupeň (i) shora) v 0,5 ml methylenchloridu se přidají 3 ml TFA. Směs se míchá (ledová lázeň) po dobu 60 minut. Materiál se čistí za použití preparativní HPLC. Příslušné frakce se spojí a suší se vymrazováním (2x) a získá se 20 mg (47 %) sloučeniny uvedené v názvu.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,59 (bd, 2H), 7,35 (m, 1H), 7,32 (bd, 2H), 7,25-7,1 (m, 2H), 6,89 (t, 1H, většinový rotamer), 6,86 (t, 1H, menšinový rotamer), 5,18 (s, 1H, většinový rotamer), 5,18 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,11 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,77 (m, 1H), 4,5-4,3 (m, 3H), 4,2-3,9 (m, 3H), 2,67 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,52 (m, 1H, většinový rotamer), 2,28 (m, 1H, většinový rotamer), 2,15 (m, 1H, menšinový rotamer), 1,28 (t, 3H)
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 172,4, 171,9, 171,4, 153,8, 152,3
 MS (m/z) 509 ($\text{M}-1$)⁻, 511 ($\text{M}+1$)⁺

Příklad 44

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OnPr)}$

(i) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OnPr, Teoc)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (53 mg, 0,087 mmol; viz. příklad 1 (ix) shora) a O-n-propylhydroxylaminhydrochlorid, 58 mg (0,52 mmol) se rozpustí ve 4 ml THF. Směs se míchá při teplotě 60 °C po dobu 5 hodin. Rozpouštědlo se odpaří. Zbytek se chromatografuje na silikagelu eluováním směsí methylenchlo-

rid:methanolu (95:5) a získá se 51 mg (88 %) sloučeniny uvedené v podnázvu.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CDCl_3): δ 7,84 (m, 1H), 7,59 (bs, 1H), 7,47 (bd, 2H), 7,28 (bd, 2H), 7,21 (m, 1H), 7,14 (m, 1H), 7,02 (m, 1H), 6,53 (t, 1H), 4,90 (s, 1H), 4,85 (m, 1H), 4,55-4,4 (m, 2H), 4,2-4,05 (m, 5H), 3,69 (m, 1H), 2,65 (m, 1H), 2,41 (m, 1H), 1,74 (m, 2H), 1,05-0,95 (m, 5H), 0,03 (s, 9H)

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OnPr)}$

K ledem chlazenému roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OnPr, Teoc)}$ (51 mg, 0,078 mmol; viz stupeň (i) shora) v 0,5 ml methylenchloridu se přidají 3 ml TFA. Směs se míchá (ledová lázeň) po dobu 110 minut. Materiál se čistí za použití preparativní HPLC. Příslušné frakce se odpaří, suší se vymrazováním a získá se 20 mg (47 %) sloučeniny uvedené v názvu.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,61 (bd, 2H), 7,38 (m, 1H), 7,35 (bd, 2H), 7,22 (m, 1H, většinový rotamer), 7,18 (m, 1H), 7,15 (m, 1H, menšinový rotamer), 6,92 (t, 1H, většinový rotamer), 6,89 (t, 1H, menšinový rotamer), 5,20 (s, 1H, většinový rotamer), 5,20 (m, 1H, menšinový rotamer), 4,80 (m, 1H, většinový rotamer), 4,5-4,4 (m, 2H, zahrnující menšinový rotamer odpovídající většinovému při 4,37), 4,37 (m, 1H, většinový rotamer), 4,18 (m, 1H, většinový rotamer), 4,09 (m, 1H, menšinový rotamer), 3,99 (m, 2H), 2,70 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,54 (m, 1H, většinový rotamer), 2,30 (m, 1H, většinový rotamer), 2,18 (m, 1H, menšinový rotamer), 1,73 (m, 2H), 1,01 (t, 3H)

^{13}C -NMR (125 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 171,4, 153,8, 152,3
MS (m/z) 523 (M-1) $^-$, 525 (M + 1) $^+$

Příklad 45

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OiPr)}$

(i) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OiPr, Teoc)}$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)}$ (50 mg, 0,082 mmol; viz příklad 1(ix) shora) a O-i-propylhydroxylaminhydrochlorid, 55 mg (0,49 mmol) se rozpustí ve 4 ml THF. Směs se míchá při teplotě 60 °C po dobu 5 hodin. Rozpouštědlo se odpaří. Zbytek se chromatografuje na silikagelu, eluováním směsí methylenchlorid:methanol (95:5) a získá se 46 mg (84 %) sloučeniny uvedené v podnázvu.

^1H -NMR (400 MHz; CDCl_3): δ 7,84 (m, 1H), 7,57 (bs, 1H), 7,48 (bd, 2H), 7,29 (bd, 2H), 7,21 (m, 1H), 7,14 (m, 1H), 7,02 (m, 1H), 6,53 (t, 1H), 4,91 (s, 1H), 4,87 (m, 1H), 4,55-4,45 (m, 2H), 4,42 (m, 1H), 4,2-4,1 (m, 3H), 3,69 (m, 1H), 2,66 (m, 1H), 2,42 (m, 1H), 1,30 (d, 6H), 0,98 (m, 2H), 0,02 (s, 9H)

(ii) $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OiPr)}$

K ledem chlazenému roztoku $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)\text{-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OiPr, Teoc)}$ (46 mg, 0,069 mmol; viz stupeň (i) shora) v 5 ml methylenchloridu se přidají 3 ml TFA. Směs se míchá (ledová lázeň po dobu 150 minut. Materiál se čistí za použití preparativní HPLC. Příslušné frakce se odpaří a suší se vymrazováním (2x) a získá se 22 mg (55 %) sloučeniny uvedené v názvu.

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz; CD_3OD) rotamery: δ 7,59 (d, 2H), 7,35 (m, 1H), 7,32 (d, 2H), 7,19 (m, 1H, většinový rotamer), 7,15 (m, 1H), 7,12 (m, 1H, menšinový rotamer), 6,89 (t, 1H, většinový rotamer), 6,86 (t, 1H, menšinový rotamer), 5,18 (s, 1H, většinový rotamer), 5,18 (m, 1H, menšinový rotamer), 5,12 (s, 1H, menšinový rotamer), 4,78 (m, 1H, většinový rotamer), 4,5-3,9 (m, 5H), 2,67 (m, 1H, menšinový rotamer), 2,52 (m, 1H, většinový rotamer), 2,28 (m, 1H, většinový rotamer), 2,15 (m, 1H, menšinový rotamer), 1,26 (d, 6H)
 $^{13}\text{C-NMR}$ (100 MHz; CD_3OD): (karbonylové a/nebo amidinové uhlíky, rotamery) δ 171,9, 171,4, 153,6,
MS (m/z) 523 ($\text{M}-1$) $^-$, 525 ($\text{M} + 1$) $^+$

Příklad 46

Sloučeniny uvedené v názvu v příkladech 3, 6, 9, 10, 13 až 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 28, 32, 34, 36, 38, 39 a 41 byly testovány v testu A shora a bylo zjištěno, že vykazují hodnoty $\text{IC}_{50\text{TT}}$ menší než 3,5 μM . Sloučeniny z příkladů 3, 6, 9, 10, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 27, 32, 34 a 39 vykazují hodnoty menší než 0,02 μM ; sloučeniny z příkladů 25 a 28 menší než 0,03 μM , sloučeniny z příkladu 14 menší než 0,04 μM ; sloučeniny z příkladů 38 a 41 menší než 0,15 μM .

Příklad 47

Sloučeniny uvedené v názvu příkladů 3, 6, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 28, 32 a 34 byly testovány v testu D shora a bylo zjištěno, že vykazují hodnoty $\text{IC}_{50\text{APTT}}$ menší než 1 μM .

Příklad 48

Sloučeniny uvedené v názvu příkladů 1, 2, 4, 5, 7, 12, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 29, 30, 33 a 43 až 45 byly testovány v testu E shora a bylo zjištěno, že vykazují orální a/nebo parenterální biologickou dostupnost u krys jako odpovídající aktivní inhibitor (volný amidin).

Příklad 49

Sloučeniny uvedené v názvu příkladů 1, 2, 7, 8, 11, 12, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 29, 33, 37, 40, 43 a 45 byly testovány v testu G shora a bylo zjištěno, že konvertují na odpovídající aktivní inhibitor (volný amidin) v jaterních mikrosomech z lidí a krys.

Zkratky

Ac = acetyl

AcOH = kyselina octová

APCI = chemická ionizace při atmosférickém tlaku (vzhledem k MS)

API = ionizace při atmosférickém tlaku (vzhledem k MS)

aq. = vodný

AUC = oblast pod křivkou

Aze = (S)-azetidin-2-karboxylát (pokud není specifikováno jinak)

AzeOH = azetidin-2-karboxylová kyselina

Bn = benzyl

Boc terc-butyloxykarbonyl

BSA = hovězí sérumalbumin

Bu = butyl

Bzl = benzyl

CI = chemická ionizace (ve vztahu k MS)

DCC = dicyklohexylkarbodiimid

DIBAL-H = di-izobutylaluminiumhydrid

DIPEA = diizopropylethylamin

DMAP = 4-(NN-dimethylamino)pyridin
DMF = dimethylformamid
DMSO = dimethylsulfoxid
DVT = hluboká žilní trombóza
EDC = hydrochlorid 1-(3-dimethyl-aminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu
e.e. = enantiomerní přebytek
Et = ethyl
ether = diethylether
EtOAc = ethylacetát
EtOH = ethanol
Et₂O = diethylether
HATU = O-(azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'-tetramethyluroniumhexafluorofosfát
HBTU = [N,N,N',N'-tetramethyl-O-(benzotriazol-1-yl)uroniumhexafluorofosfát]
HCl = kyselina chlorovodíková, plynný chlorovodík nebo hydrochloridová sůl (v závislosti na kontextu)
Hex = hexany
HPLC = vysokoúčinná kapalinová chromatografie
LC = kapalinová chromatografie
Me = methyl
MEM = methoxyethoxymethyl
MeOH = methanol
MS = hmotová spektrometrie
MTBE = methylterc-butylether
NADH = nikotinamidadenindinukleotid, redukováná forma
NADPH = fosfát nikotinamidadenindinukleotidu, redukováná forma
NIH = National Institute of Health (US)
NIHU = National Institute of Health units
NMR = nukleární magnetická rezonance
OAc = acetát

Pab = p-amidinobenzylamino

H-Pab = p-amidinobenzylamin

Ph = fenyl

Pr = propyl

Pro = (S)-prolinyl

PyBOP = (benzotriazol-1-yloxy)tripyrroliodinfosfonium-
hexafluorofosfát

QF = tetrabutylamoniumfluorid

RedAl =sodium bis(2-methoxyethoxy)aluminiumhydrid

RPLC = vysokoúčinná kapalinová chromatografie s reverzními fázemi

rt/RT = teplota místnosti

SOP = standardní operační postup

TBTU = [N,N,N',N'-tetramethyl-O-benzotriazol-1-yl)uroniumtetra-
fluorborát]

TEA = triethylamin

Teoc = 2-(trimethylsilyl)ethoxykarbonyl

TEMPO = volný radikál 2,2,6,6-tetramethyl-1-piperidinyloxy

TFA = kyselina trifluoroctová

THF = tetrahydrofuran

THP = tetrahydropyranyl

TLC = chromatografie na tenké vrstvě

TMSCl = trimethylsilylchlorid

TMSCN = trimethylsilylkyanid

UV = ultrafialový

Z = benzyloxykarbonyl

Předpony n, s, i a terc- mají své obvyklé významy: normální,
sekundární, izo a terciární. Předpona c znamená cyklo.

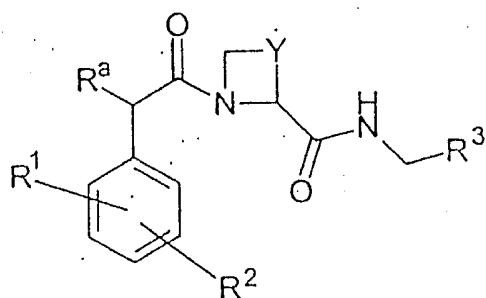
29.05.03

192

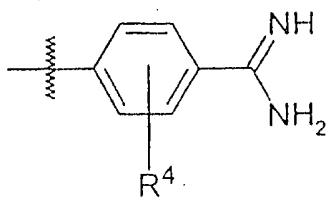
2003-1594/

P A T E N T O V É N Á R O K Y

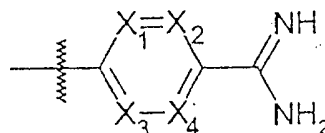
1. Sloučenina obecného vzorce I



kde

 R^a znamená skupinu $-OH$ nebo skupinu $-CH_2OH$; R^1 znamená jeden nebo více případných halogenových substituentů; R^2 znamená jeden nebo dva alkokysubstituenty obsahující 1 až 3 atomy uhlíku, kde alkylové části substituentů jsou samotné substituovány jedním nebo více fluorovými substituenty; Y znamená skupinu $-CH_2-$ nebo $-(CH_2)_2-$; a R^3 znamená strukturní skupinu obecného vzorce I(i) nebo I(ii):

I(i)



I(ii)

kde

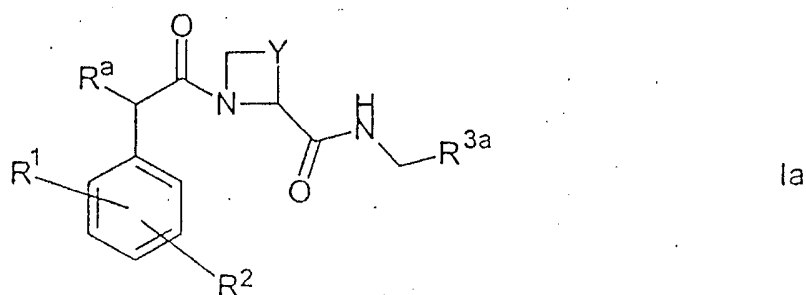
 R^4 znamená atom vodíku nebo jeden nebo více fluorových substituentů; ajedno nebo dvě z X_1 , X_2 , X_3 a X_4 představuje skupinu $-N-$ a zbývající představují skupinu $-CH-$,

nebo její farmaceuticky přijatelný derivát.

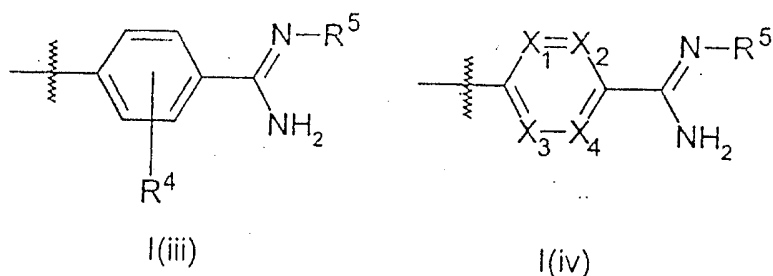
2. Sloučeniny podle nároku 1, kde R^1 znamená jeden fluorový substituent, jeden chlorový substituent nebo jeden bromový substituent.
3. Sloučenina podle nároku 2, kde R^1 znamená atom chloru.
4. Sloučenina podle kteréhokoliv z předchozích nároků, kde R^2 znamená skupinu $-\text{OCHF}_2$, $-\text{OCF}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CF}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CHF}_2$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{F}$ nebo $-\text{OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2$.
5. Sloučenina podle nároku 4, kde R^2 znamená $-\text{OCHF}_2$, $-\text{OCH}_2\text{CHF}_2$, nebo $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{F}$.
6. Sloučenina podle kteréhokoliv z předchozích nároků, kde R^3 znamená strukturní vzorek obecného vzorce I(i).
7. Sloučenina podle nároku 6, kde R^4 znamená atom vodíku.
8. Sloučenina podle nároku 6, kde R^4 znamená jeden nebo více fluorových substituentů, přičemž R^4 znamená jeden fluorový substituent ve 2-poloze nebo 3-poloze nebo dva fluorové substituenty buď ve 2- a 5-poloze nebo 2- a 6-poloze.
9. Sloučenina podle nároku 8, kde R^4 znamená jeden fluorový substituent ve 2-poloze nebo dva fluorové substituenty ve 2- a 6-poloze.
10. Sloučenina podle kteréhokoliv z předchozích nároků, kde R^a znamená skupinu OH.
11. Sloučenina podle kteréhokoliv z předchozích nároků, kde body substituce R^1 a R^2 na relevantní fenylové skupině sloučenin

obecného vzorce I jsou jeden nebo oba v meta-poloze vzhledem k bodu připojení této fenylové skupiny ke zbytku molekuly.

12. Farmaceuticky přijatelný derivát sloučeniny obecného vzorce I, jak je definována v kterémkoliv z nároků 1 až 11, v y z n a č u j í c í s e t í m, že tento derivát je sloučenina obecného vzorce Ia



kde R^{3a} znamená strukturní fragment obecného vzorce I(iii) nebo I(iv):



kde R^5 znamená skupinu OR^6 nebo skupinu $C(O)OR^7$;

R^6 znamená atom vodíku, alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku, alkylarylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části nebo alkyloxyarylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části (příčemž alkylové části později uváděných dvou skupin jsou případně přerušeny jedním nebo více atomy kyslíku a arylové části, později uváděných dvou skupin jsou případně substituovány jedním nebo více substituenty vybranými z atomů halogenu,

fenylové skupiny, methylové skupiny nebo methoxyskupiny, přičemž později uváděné tři skupiny jsou případně substituovány jedním nebo více atomy halogenu);

R^7 znamená alkylovou skupinu s 1 až 10 atomy uhlíku (přičemž později uváděná skupina je případně přerušena jedním nebo více atomy kyslíku) nebo alkylarylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části nebo alkyloxyarylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části (přičemž alkylové části později uváděných dvou skupin jsou případně přerušeny jedním nebo více atomy kyslíku a arylové části, později uváděných dvou skupin jsou případně substituovány jedním nebo více substituenty vybranými z atomů halogenu, fenylové skupiny, methylové skupiny nebo methoxyskupiny, přičemž později uváděné tři skupiny jsou případně substituovány jedním nebo více atomy halogenu); a

R^a , R^1 , R^2 , Y, R^4 , X_1 , X_2 , X_3 a X_4 mají význam definovaný v nárocích 1 až 11 (jak to je vhodné) nebo jeho farmaceuticky přijatelný derivát.

13. Sloučenina podle nároku 12, kde R^5 znamená skupinu OR^6 .

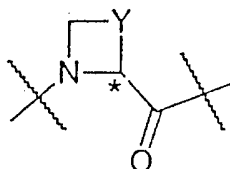
14. Sloučenina podle nároku 13, kde R^6 znamená atom vodíku nebo nesubstituovanou, lineární, rozvětvenou nebo cyklickou alkylovou skupinu obsahující 1 až 8 atomů uhlíku.

15. Sloučenina podle nároku 14, kde R^6 znamená atom vodíku nebo alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku.

16. Sloučenina podle nároku 14, kde R^6 znamená lineární alkylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku, rozvětvenou alkylovou skupinu se 3 až 8 atomy uhlíku nebo cyklickou alkylovou skupinu se 4 až 7 atomy uhlíku.

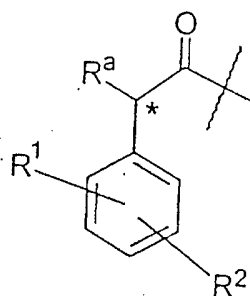
17. Sloučenina podle nároku 15 nebo nároku 16, kde R^6 znamená methylovou skupinu, ethylovou skupinu, n-propylovou skupinu, izopropylovou skupinu nebo cyklobutylovou skupinu.

18. Sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 17, kde



fragment je v S-konfiguraci.

19. Sloučenina podle kteréhokoliv z nároků 1 až 18, kde fragment



je v R-konfiguraci když R^a znamená skupinu -OH nebo je v S-konfiguraci, když R^a znamená skupinu -CH₂OH.

20. Sloučenina podle nároku 1, kterou je

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCHF₂)-(S)CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCF₃)-(S)CH(CH₂OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-OCHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-OCF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH₂CF₃)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

Ph(3-Cl)(5-OCH₂CHF₂)-(R)CH(OH)C(O)-Aze-Pab;

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F})-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab};$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F})-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab};$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab};$
 $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab};$
 $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCH}_2\text{F})-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab};$
 $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab};$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl}, 5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Pro-Pab};$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl}, 5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-NH-CH}_2\text{-((2-amidino)-5-pyridinyl)};$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl}, 5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-NH-CH}_2\text{-((5-amidino)-2-pyrimidinyl)};$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl}, 5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(3\text{-F});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl}, 5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(2,6\text{-diF});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl}, 5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(2,5\text{-diF});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OMe});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OEt});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OnPr});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OiPr});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OcBu});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OH});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{COOcPentyl});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCHF}_2)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{Z});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OMe});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OCH}_2\text{-3-(5-Me-izoxazol)});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OCH}_2\text{-3-pyridin});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OiBu});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OEt});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OBn});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OcHexyl});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OcBu});$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OPh}(3\text{-CF}_3));$
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3)-(\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OBn}(4\text{-Cl}));$

$\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OBn}(3\text{-MeO}))$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OBn}(2\text{-Br}))$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OBn}(4\text{-Me}))$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{O-4-heptyl})$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCF}_3) - (\text{S})\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OMe})$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CF}_3) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OMe})$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OMe})$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{F}) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OMe})$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F}) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OMe})$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl})(5\text{-OCH}(\text{CH}_2\text{F})_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OMe})$;
 $\text{Ph}(3\text{-F})(5\text{-OCHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OMe})$;
 $\text{Ph}(3\text{-Br})(5\text{-OCHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OMe})$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl}, 5\text{-OCH}_2\text{CHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OH})$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl}, 5\text{-OCH}_2\text{CH}_2\text{F}) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(\text{OH})$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl}, 5\text{-OCHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Pro-Pab}(\text{OMe})$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl}, 5\text{-OCHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-NH-CH}_2\text{-}((2\text{-methoxyamidino})\text{-5-pyridinyl})$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl}, 5\text{-OCHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-NH-CH}_2\text{-}((5\text{-methoxyamidino})\text{-2-pyrimidinyl})$;
 $\text{Ph}(3\text{-Cl}, 5\text{-OCHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(2,6\text{-diF})(\text{OMe})$; nebo
 $\text{Ph}(3\text{-Cl}, 5\text{-OCHF}_2) - (\text{R})\text{CH}(\text{OH})\text{C}(\text{O})\text{-Aze-Pab}(2,5\text{-diF})(\text{OMe})$.

21. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m, že obsahuje sloučeninu jak je definována v kterémkoli z nároků 1 až 20 nebo její farmaceuticky přijatelný derivát ve směsi s farmaceuticky přijatelnou pomocnou látkou, ředidlem nebo nosičem.

22. Prostředek podle nároku 21, kde pomocná látka, ředidlo a/nebo nosič zvyšují modifikované uvolňování sloučenin.

23. Prostředek podle nároku 21 nebo nároku 22, který je upraven

pro orální podání.

24. Prostředek podle nároku 22 nebo nároku 23, který je ve formě gelující matrice s modifikovaným uvolňováním obsahující hydrofilní gelující složku a aktivní složku.

25. Sloučenina jak je definována v kterémkoliv z nároků 1 až 20 nebo její farmaceuticky přijatelný derivát pro použití jako léčivo.

26. Sloučenina jak je definována v kterémkoliv z nároků 1 až 20 nebo její farmaceuticky přijatelný derivát, pro použití k léčbě stavu, kde se vyžaduje inhibice trombinu.

27. Sloučenina jak je definována v kterémkoliv z nároků 1 až 20 nebo její farmaceuticky přijatelný derivát pro použití k léčbě stavu, kde je indikována antikoagulační terapie.

28. Sloučenina jak je definována v kterémkoliv z nároků 1 až 20 nebo její farmaceuticky přijatelný derivát pro použití k léčbě trombózy.

29. Sloučenina jak je definována v kterémkoliv z nároků 1 až 20 nebo její farmaceuticky přijatelný derivát pro použití jako antikoagulant.

30. Použití sloučeniny jak je definována v kterémkoliv z nároků 1 až 20 nebo jejího farmaceuticky přijatelného derivátu, jako aktivní složky pro přípravu léčiva pro léčbu stavu, kde se požaduje inhibice trombinu.

31. Použití sloučeniny jak je definována v kterémkoliv z nároků

1 až 20 nebo jejího farmaceuticky přijatelného derivátu, jako aktivní složky pro přípravu léčiva pro léčbu stavu, kde je indikována antikoagulační terapie.

32. Použití jak je nárokováno v kterémkoliv z nároků 30 nebo 31, kde stav je trombóza.

33. Použití jak je nárokováno v kterémkoliv z nároků 30 nebo 31, kde stav je hyperkoagulabilita v krvi a/nebo v tkáních.

34. Použití sloučeniny, jak je nárokováno v kterémkoliv z nároků 30 nebo 31, nebo její farmaceuticky přijatelného derivátu, jako aktivní složky pro přípravu antikoagulantu.

35. Způsob léčby stavu, kde se vyžaduje inhibice trombinu, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje podání terapeuticky účinného množství sloučeniny, jak je definována v kterémkoliv z nároků 1 až 20, nebo jejího farmaceuticky přijatelného derivátu, osobě, která trpí nebo je citlivá k takovému stavu.

36. Způsob léčby stavu, kde se vyžaduje antikoagulační terapie, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje podání terapeuticky účinného množství sloučeniny, jak je definována v kterémkoliv z nároků 1 až 20, nebo jejího farmaceuticky přijatelného derivátu, osobě, která trpí nebo je citlivá k takovému stavu.

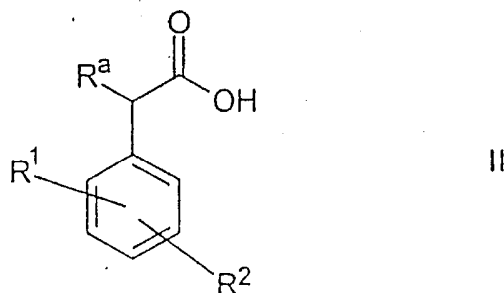
37. Způsob, jak je nárokován v nároku 35 a nároku 36, kde stav je trombóza.

38. Způsob, jak je nárokován v nároku 35 a nároku 36, kde stav

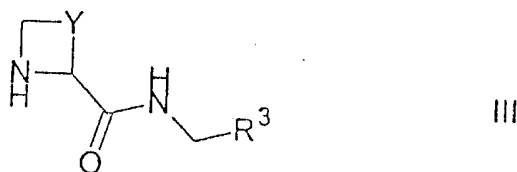
je hyperkoagulabilita v krvi a/nebo tkáních.

39. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce I, jak je definována v nároku 1, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje:

(i) kondenzací sloučeniny obecného vzorce II,

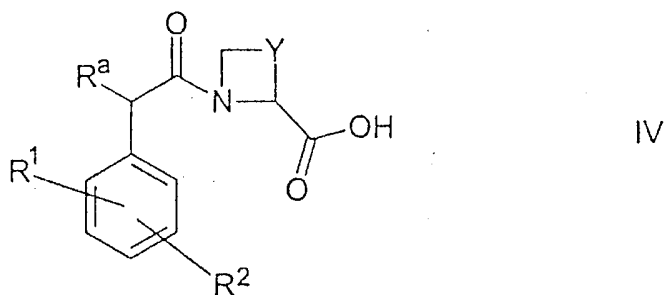


kde R^a , R^1 a R^2 mají význam definovaný v nároku 1, se sloučeninou obecného vzorce III,



kde Y a R^3 mají význam definovaný v nároku 1;

(ii) kondenzací sloučeniny obecného vzorce IV,



kde R^a , R^1 , R^2 a Y mají význam definovaný v nároku 1, se sloučeninou obecného vzorce V

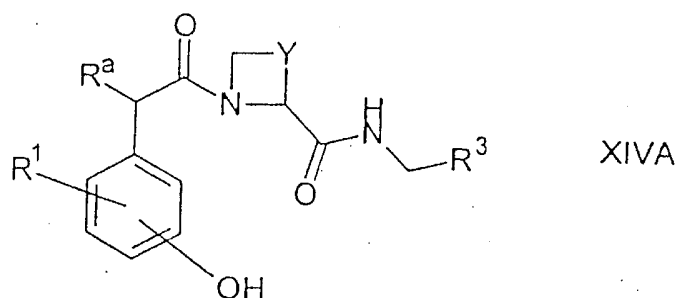


kde R^3 má význam definovaný v nároku 1;

(iii) pro sloučeniny obecného vzorce I, kde R^1 nepředstavuje jeden nebo více atomů halogenu, redukcí odpovídající sloučeniny obecného vzorce Ia, jak je definována nároku 12, kde R^5 znamená skupinu OR^6 , kde R^5 a R^6 mají význam definovaný v nároku 12;

(iv) reakci odpovídající sloučeniny obecného vzorce XVIA nebo XVIB, jak je definováno v nároku 47, se zdrojem amoniaku;

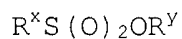
(v) reakci sloučeniny obecného vzorce XIVA,



kde R_a , R^1 , R^3 a Y mají význam definovaný v nároku 1, s

(a) odpovídajícím fluorovaným halogenalkanem; nebo

(b) pro sloučeniny obecného vzorce I, kde R^2 znamená skupinu - OCH_2CF_3 , - OCH_2CHF_2 , - OCH_2CH_2F nebo - $OCH(CH_2F)_2$, sloučeninou obecného vzorce XIVJ,



XIVJ

kde R^x znamená alkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku, perfluoralkylovou skupinu s 1 až 4 atomy uhlíku nebo fenylovou skupinu (případně substituovanou methylovou skupinou, nitroskupinou nebo atomem halogenu) a R^y znamená skupinu - CH_2CF_3 , - CH_2CHF_2 , - CH_2CH_2F nebo - $CH(CH_2F)_2$;

(vi) pro sloučeninu obecného vzorce I, kde R^1 neznámá jeden nebo více atomů halogenu, hydrogenaci odpovídající sloučeniny obecného vzorce I, kde R^1 znamená jeden nebo více atomů halogenu; nebo

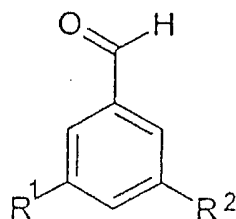
(vii) odstranění chránicí skupiny u chráněného derivátu sloučeniny jak je nárokována v nároku 1.

40. Sloučenina obecného vzorce II, jak je definována v nároku 39 nebo její chráněný derivát.

41. Sloučenina podle nároku 40, kde sloučenina je v R-konfiguraci (okolo atomu uhlíku, ke kterému se váže R^a), když R^a představuje skupinu -OH, nebo S-konfiguraci, když R^a představuje skupinu -CH₂OH.

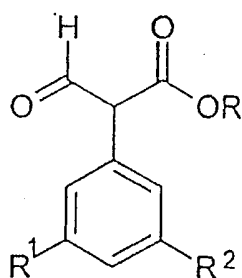
42. Sloučenina obecného vzorce IV, podle nároku 39 nebo její chráněný derivát.

43. Sloučenina obecného vzorce VI^a

VI^a

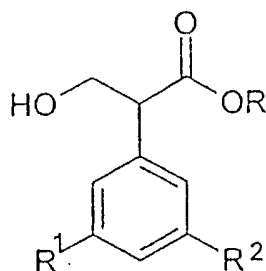
kde R^1 znamená atom halogenu a R^2 má význam definovaný v nároku 1, nebo její chráněný derivát.

44. Sloučenina obecného vzorce IX^a

IX^a

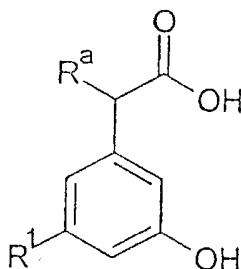
kde R znamená alkylovou skupinu s 1 až 6 atomy uhlíku nebo alkylfenylovou skupinu s 1 až 3 atomy uhlíku v alkylové části, R¹ znamená atom halogenu a R² má význam definovaný v nároku 1 nebo její chráněný derivát.

45. Sloučenina obecného vzorce IXA^a,

IXA^a

kde R má význam definovaný v nároku 44, R¹ znamená atom halogenu a R² má význam definovaný v nároku 1 nebo její chráněný derivát.

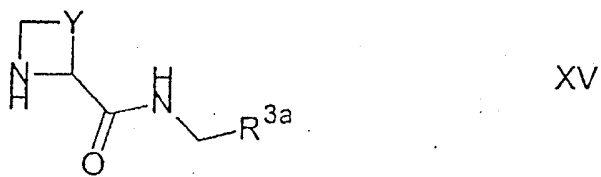
46. Sloučenina obecného vzorce XIVB^a,

XIVB^a

nebo její fenol O-chráněný derivát, kde R¹ znamená atom halogenu a R^a má význam definovaný v nároku 1.

47. Způsob přípravy sloučeniny obecného vzorce Ia, jak je definována v nároku 12, v y z n a č u j í c í s e t í m, že zahrnuje:

(a) reakcí odpovídající sloučeniny obecného vzorce II jak je definováno v nároku 39, se sloučeninou obecného vzorce XV,



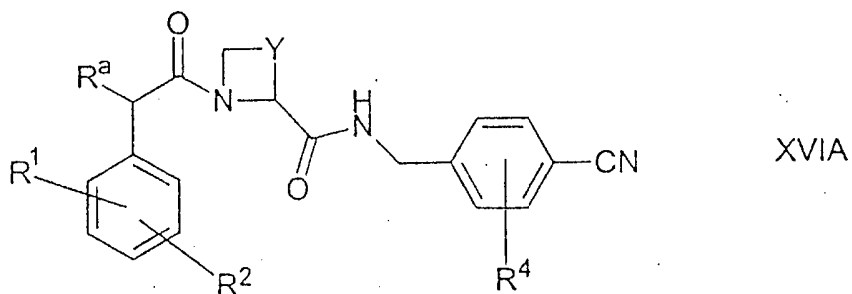
kde Y má význam definovaný v nároku 1 a R^{3a} má význam definovaný v nároku 12;

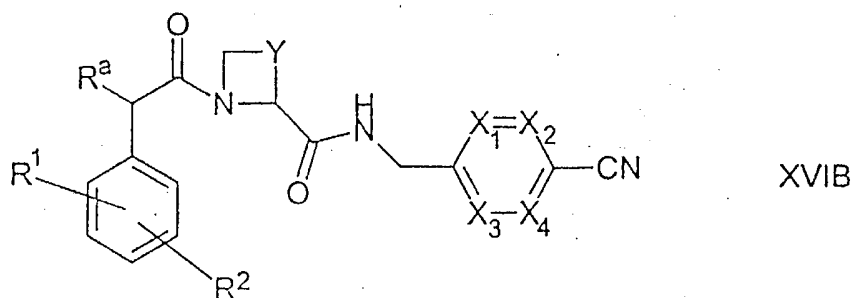
(b) reakcí odpovídající sloučeniny obecného vzorce IV jak je definována v nároku 39 se sloučeninou obecného vzorce XVI,



kde R^{3a} má význam definovaný v nároku 12;

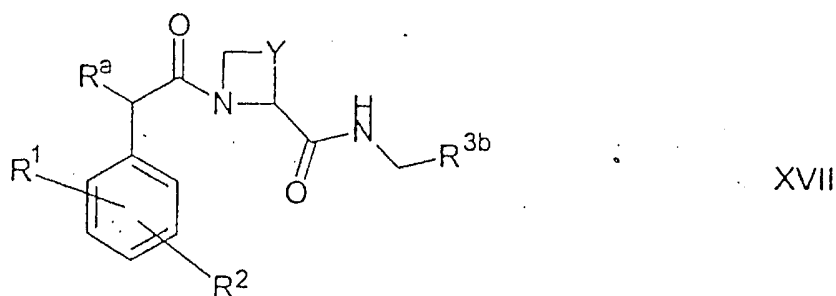
(c) pro sloučeniny obecného vzorce Ia, kde R^5 znamená OH skupinu, reakci odpovídající sloučeniny obecného vzorce XVIA nebo XVIB,



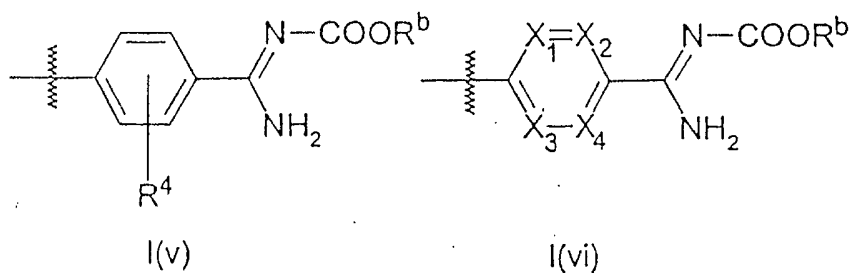


kde R^a , R^1 , R^2 , R^4 , Y , X_1 , X_2 , X_3 a X_4 mají význam definovaný v nároku 1, s hydroxylaminem, například za podmínek, které jsou odborníkovi známe;

(d) pro sloučeniny obecného vzorce Ia, kde R^5 znamená skupinu OR^6 , reakci chráněného derivátu odpovídající sloučeniny obecného XVII,



kde R^{3b} znamená strukturní fragment obecného vzorce I(v) nebo I(vi):



kde R^b znamená například skupinu $-CH_2CH_2-Si(CH_3)_3$ nebo benzylovou skupinu nebo její tautomer a R^a , R^1 , R^2 , Y , R^4 , X_1 , X_2 , X_3 a X_4 mají význam definovaný v nároku 1, se sloučeninou obecného vzorce

XVIII,



XVIII

kde R^6 má význam definovaný v nároku 12, nebo její adiční soli s kyselinou a následným odstraněním skupiny $-C(O)OR^b$;

(e) pro sloučeniny obecného Ia, kde R^5 znamená OH, reakci sloučeniny obecného vzorce XVII, jak je definována shora, kde R^b znamená benzylovou skupinu, s hydroxylaminem nebo jeho adiční soli s kyselinou;

(f) pro sloučeniny obecného vzorce Ia, kde R^5 znamená skupinu $COOR^7$, reakci odpovídající sloučeniny obecného vzorce I, jak je definována v nároku 1, se sloučeninou obecného vzorce XIX



XIX

kde L^1 je vhodná odštěpující se skupina a R^7 má význam uvedený v nároku 12; nebo

(g) pro sloučeniny obecného vzorce Ia, kde R^5 znamená skupinu OCH_3 nebo OCH_2CH_3 , reakci odpovídající sloučeniny obecného vzorce Ia, kde R^5 znamená skupinu OH, s dimethylsulfátem nebo diethylsulfátem.

48. Sloučenina obecného vzorce XVIa nebo XVIb, jak je definována v nároku 47 nebo její chráněný derivát.

49. Sloučenina obecného vzorce XVII, jak je definována v nároku 47 nebo její chráněný derivát.