



NORGE

(12) PATENT

(19) NO

(11) 321377

(13) B1

(51) Int Cl.

C07D 213/54 (2006.01)

A61K 31/445 (2006.01)

Patentstyret

(21)	Søknadsnr	20015383	(86)	Int.inng.dag og søknadsnr	2000.05.03 PCT/SE00/00834
(22)	Inng.dag	2001.11.02	(85)	Videreføringsdag	2001.11.02
(24)	Løpedag	2000.05.03	(30)	Prioritet	1999.05.03, SE, 9901573
(41)	Alm.tilgj	2001.12.21			
(45)	Meddelt	2006.05.02			

(73)	Innehaver	AstraZeneca AB , 15185 SÖDERTÄLJE, SE
(72)	Oppfinner	Marcel Linschoten, c/o Astra Hässle AB, S-431 83 Mölndal, SE Magnus Polla, c/o AstraZeneca R & D Mölndal, 43183 MÖLNDAL, SE Peder Svensson, c/o AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal, SE
(74)	Fullmektig	Zacco Norway AS , Postboks 2003 Vika, 0125 OSLO, NO

(54)	Benevnelse	Nye forbindelser
(56)	Anførte publikasjoner	Ingen
(57)	Sammendrag	

Foreliggende oppfinnelse angår forbindelser med formel I, eller farmasøytiske akseptable salter eller solvater derav, eller solvater av slike salter, hvilke forbindelser inhiberer karboksypeptidase U og således kan anvendes ved hindring og behandling av sykdommer assosiert med karboksypeptidase U. I ytterligere aspekter angår oppfinnelsen forbindelser ifølge oppfinnelsen for anvendelse innen behandling; fremgangsmåte for fremstilling av slike nye forbindelser; farmasøytiske sammensetninger som inneholder minst en forbindelse ifølge oppfinnelsen, eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller solvat derav, som aktiv ingrediens; og anvendelsen av de aktive forbindelsene ved fremstilling av medikamenter for medisinsk anvendelse indikert ovenfor.



(I)

Foreliggende oppfinnelse angår nye forbindelser og farmasøytiske akseptable salter derav, som inhiberer basiske karboksypeptidaser, mer spesifikt karboksypeptidase U, og som således kan anvendes ved hindring og behandling av sykdommer hvori inhibering av karboksypeptidaser U er fordelaktig. I ytterligere aspekter angår foreliggende oppfinnelse forbindelser ifølge oppfinnelsen for anvendelse ved behandling; fremgangsmåte for fremstilling av slike nye forbindelser; farmasøytiske sammensetninger som inneholder minst en forbindelse ifølge oppfinnelsen, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som aktiv ingrediens; og anvendelse av de aktive forbindelsene ved fremstilling av medikamenter for medisinsk anvendelse som indikert ovenfor. I tillegg angår oppfinnelsen et kit for anvendelse med den farmasøytiske formuleringen.

Fibrinolyse er resultatet av en serie enzymatiske reaksjoner som resulterer i nedbryting av fibrin ved plasmin. Aktivering av plasminogen er den sentrale prosessen i fibrinolyse. Spalting av plasminogen for å gi plasmin utføres av plasminogen-aktivatorer, vevstype plasminogen aktivator (t-PA) eller urokinase-type plasminogen aktivator (u-PA). Begynnende plasmin nedbryting av fibrin generer karboksyterminale lysinrester som tjener som høyaffinitets bindingssteder for plasminogen. Siden plasminogen bundet til fibrin blir langt lettere aktivert til plasmin enn fritt plasminogen gir denne mekanismen en positiv feedback regulering av fibrinolyse.

En av de endogene inhibitorene til fibrinolyse er karboksypeptidase U (CPU). CPU er også kjent som plasma karboksypeptidase B, aktiv trombinaktivert fibrinolyse inhibitor (TAFIa), karboksypeptidase R og induserbar karboksypeptidase aktivitet. CPU dannes i løpet av koagulering og fibrinolyse fra dens forløper proCPU ved hjelp av protolytiske enzymer, for eksempel trombin, trombin-trombomodulin kompleks eller plasmin. CPU spalter basiske aminosyrer ved karboksyterminalen til fibrinfragmentene. Tapet av karboksyterminale lysiner og derved lysinbindingssteder for plasminogen tjener deretter til å inhibere fibrinolyse.

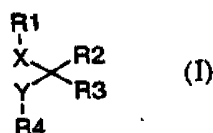
Ved å inhibere tapet av lysinbindingssteder for plasminogen og således øke plasminogendannelseshastigheten vil effektive inhibitorer av karboksypeptidase U forventes å lette fibrinolyse.

2-merkapto-3-guanidinoetyltiopropansyre er rapportert som en karboksypeptidase N inhibitor. Mer nylig har denne forbindelsen vist seg å inhibere CPU, Hendriks, D, et al., Biochemica et Biophysica Acta, 1034 (1990), 86-92.

Guanidinoethylmerkaptoravsyre er rapportert som en karboksypeptidase N inhibitor. Nylig har denne forbindelsen vist seg å inhibere CPU, Eaton, D.L. et al., The Journal of Biological Chemistry, 266 (1991) 21833-21838.

5 Det har overraskende blitt funnet at forbindelser med formel I er særlig effektive som inhibitorer av karboksypeptidase U og derved anvendelige som medikamenter for behandling eller profylakse av tilstander hvor inhibering av karboksypeptidase U er fordelaktig.

10 I et aspekt angår oppfinnelsen således forbindelse med den generelle formelen I.



15

hvor

R₁ representerer

C₃-C₇ sykloalkenyl, substituert med amino;

heterosyklyl valgt blant azetidin, pyrrolidin, tiazol, pyridin, pyrimidin eller piperazin;

20 hvilke heterosyklyl er eventuelt substituert med en eller flere av amino, C₁-C₆ alkyl, halogen eller hydroksy-C₁-C₆ alkyl;

R₂ representerer H, C₁-C₃ alkyl, amino, halogen, hydroksy;

R₃ representerer COOR₅,

R₄ representerer SH eller S-CO-C₁-C₆ alkyl;

25 R₅ representerer H eller C₁-C₆ alkyl;

X representerer C(Z)₂,

Y representerer C(Z)₂,

Z representerer uavhengig H eller C₁-C₆ alkyl, fenyl eller fenyl-C₁-C₄ alkyl,

eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller solvat derav, eller et solvat av et slikt salt.

30

Foretrukne forbindelser ifølge oppfinnelsen er gitt ved de uselvstendige kravene 2-4.

Foretrukket angår oppfinnelsen forbindelsene

2-merkaptometyl-3-piperidin-4-yl-propionsyre;

35 3-(1-acetyl-piperidin-4-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;

3-merkpto-5-metyl-2-piperidin-4-ylmetyl-heksanonsyre;

3-merkpto-4-metyl-2-piperidin-4-ylmetyl-smørsyre;

- 2-(2-amino-pyridin-4-ylmetyl)-3-merkaptometyl-5-propionsyre;
- 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;
- 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-2-metyl-propionsyre;
- 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-2-merkaptometyl-smørsyre;
- 5 3-(6-amino-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-2-metyl-propionsyre;
- 3-(6-amino-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;
- 3-(6-amino-4-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;
- 2-merkaptometyl-3-piperidin-4-yl-smørsyre;
- 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-smørsyre;
- 10 3-(6-amino-2-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;
- 2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-amino-pyrimidin-5-yl)-propionsyreetyler;
- 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkaptometyl-smørsyre;
- 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkaptometyl-pentansyre;
- 3-(6-amino-5-klor-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;
- 15 3-(6-amino-5-hydroksymetyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;
- 2-merkaptometyl-3-pyrrolidin-3-yl-propionsyre;
- 2-merkaptometyl-3-piperazin-1-yl-propionsyre;
- 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-pentansyre;
- 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-4-metyl-pentansyre;
- 20 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-4-fenyl-pentansyre;
- 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-4-fenyl-smørsyre;
- 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkaptometyl-5-fenyl-pentansyre;
- 3-[3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-etoksykarbonyl-propyl-disulfanylmetyl-2-(6-aminopyridin-3-ylmetyl)-propionsyreetyler];
- 25 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-heksansyre; eller
- 3-(2-amino-tiazol-5-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre.

Følgende definisjoner skal gjelde gjennom beskrivelsen og kravene:

- 30 Begrepet "basisk gruppe" betegner en basisk gruppe, hvori den konjugerende syren av nevnte basiske gruppe har en pKa fra ca. -5 til ca. 25, foretrukket fra 1 til 15.

Begrepet "karboksylsyre isoster" betegner en sur gruppe som har en pKa på fra ca. -5 til ca. 25, foretrukket fra 1 til 15.

35

Begrepet "C₁-C₆ alkyl" betegner en rett eller forgrenet, mettet eller umettet, substituert eller usubstituert alkylgruppe som har 1 til 6 karbonatomer i kjeden hvorav

alkylgruppen eventuelt kan avbrytes av ett eller flere heteroatomer utvalgt fra O, N eller S. Eksempler på nevnte alkyl inkluderer, men er ikke begrenset til metyl, etyl, etenyl, etynyl, n-propyl, iso-propyl, propenyl, iso-propenyl, propynyl, n-butyl, iso-butyl, sek-butyl, t-butyl, butenyl, iso-butenyl, butynyl og rett og forgrenet fenyl og heksyl.

5

Begrepet "C₁-C₃ alkyl" betegner en rett eller forgrenet, mettet eller umettet, substituert eller usubstituert alkylgruppe som har 1 til 3 karbonatomer i kjeden hvor alkylgruppen kan eventuelt være avbrutt av ett eller flere heteroatomer utvalgt fra O, N eller S.

Eksempler på nevnte alkyl inkluderer, men er ikke begrenset til metyl, etyl, etenyl, etynyl, n-propyl, iso-propyl, propenyl, iso-propenyl, propynyl.

10

Begrepet "C₁ alkyl" betegner en substituert eller usubstituert alkylgruppe som har ett karbonatom. Et eksempel på nevnte alkyl inkluderer, men er ikke begrenset til, metyl.

15 Begrepet "C₁-C₆ alkyl" betegner en alkyl o-gruppe, hvori C₁-C₆ alkyl er som definert ovenfor.

Begrepet "C₁-C₃ alkoksy" betegner en alkyl-O-gruppe, hvori C₁-C₃ alkyl er som definert ovenfor.

20

Begrepet "heterosyklyl" betegner et substituert eller usubstituert 4- til 10-leddet monosyklisk eller multisyklisk ringsystem hvori ett eller flere av atomene i ringen eller ringene er et element forskjellig fra karbon, for eksempel nitrogen, oksygen eller svovel, særlig 4-, 5- eller 6-leddet aromatiske eller alifatisk heterosykslike grupper, og

25 inkluderer, men er ikke begrenset til, azetidin, furan, tiofen, pyrrol, pyrrolin, pyrrolidin, dioksolan, oksatiolan, oksasolan, oksasol, tiasol, imidasol, imidasolidin, pyrasol, pyrasolin, pyrasolidin, isoksasol, isotiasol, oksadiazol, furasan, triasol, tiadiazol, pyran, pyridin, piperidin, dioksan, morfolin, ditian, oksatian, tiomorfolin, pyridasin, pyrimidin, pyrasin, piperasin, triasin, tiadiazin, ditiazin, azaindol, azaindolin, indol, indolin,
30 naftyridin grupper, og skal forstås å inkludere alle isomerer av gruppene identifisert ovenfor.

Begrepet "azetidinyl" skal for eksempel forstås til å inkludere 2- og 3-isomerer og begrepene "pyridyl" og "piperidinyl" skal for eksempel forstås å inkludere 2-, 3- og 4-

35 isomerer.

Begrepet "sykloalkyl" betegner en mettet eller umettet substitueret eller usubstitueret ikke-aromatisk ring bestående af 3, 4, 5, 6 eller 7 karbonatomer og inkluderer, men ikke begrænset til, syklopropyl, syklobutyl, syklopentyl, sykloheksyl, sykloheptyl, syklobutenyl, syklopentenyl, sykloheksenyl, sykloheptenyl, syklopentadienyl, syklo-
 5 heksadienyl og sykloheptadienyl grupper.

Begrepet "halogen" inkluderer fluor, klor, brom og jodgrupper.

Begrepet "aryl" betegner et substitueret eller usubstitueret C_6-C_{14} aromatisk hydrokarbon
 10 og inkluderer, men er ikke begrænset til fenyl, naftyl, indenyl, antrasenyl, fenantrenyl og fluorenyl.

Begrepet "aryloksy" betegner en aryl-O-gruppe, hvor aryl er som defineret ovenfor.

Begrepet "asyl" betegner en alkyl-CO-gruppe, hvori alkyl er som defineret ovenfor.

15

Begrepet "aroyl" betegner en aryl-CO-gruppe, hvori aryl er som defineret ovenfor.

Begrepet "alkyltio" betegner en alkyl-S-gruppe, hvori alkyl er som defineret ovenfor.

20 Begrepet "aryltio" betegner en aryl-S-gruppe, hvori aryl er som defineret ovenfor.

Begrepet "arylamino" betegner en aroyl-N(Z)-gruppe, hvori aroyl og Z er som defineret ovenfor.

25 Begrepet "asylamino" betegner en asyl-N(Z)-gruppe, hvori asyl og Z er som defineret ovenfor.

Begrepet "karbamoyl" betegner en H_2N-CO -gruppe.

30 Begrepet "alkylkarbamoyl" betegner en Z_2-N-CO -gruppe hvori Z er som defineret ovenfor.

Begrepet "substitueret" betegner en " C_1 alkyl", " C_1-C_3 alkyl", " C_1-C_6 alkyl", "sykloalkyl", "heterosyklyl" eller en "aryl" gruppe som defineret ovenfor som er
 35 substitueret med en eller flere asyl, asylamino, alkyl, alkylkarbamoyl, alkyltio, alkoksy, aroyl, aroylamino, aryloksy, aryltio, amidino, amino, aryl, karbamoyl, karboksy,

syano, sykloalkyl, formyl, guanidino, halogen, heterosyklyl, hydroksy, okso, nitro, tiol, tio, $Z_2N-CO-O-$, $ZO-CO-NZ-$, eller $Z_2N-CO-NZ$ -grupper.

Videre kan forbindelser med formel I hvori R_4 er merkaptogruppe være i form av en dimer
5 som bundet via $-S-S-$ binding, som også er inkludert ifølge oppfinnelsen.

Både rene enantiomerer, rasemiske blandinger og ulike blandinger av to enantiomerer er innenfor omfanget av oppfinnelsen. Det er å forstå at alle diastereomere former som er mulige er innenfor omfanget av oppfinnelsen. Også inkludert i oppfinnelsen er
10 derivater av forbindelser med formel I som har den biologiske funksjonen til forbindelser med formel I, slik som prodrugs.

Avhengig av fremstillingsbetingelsene oppnås forbindelsene med formel I enten i nøytral eller saltform eller som et solvat, for eksempel et hydrat, og er alle innenfor
15 omfanget av oppfinnelsen.

Foreliggende oppfinnelse tilveiebringer også fremgangsmåtene A-C for fremstilling av forbindelser med den generelle formel I.

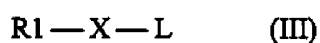
20 Fremgangsmåte A

Fremgangsmåte A for fremstilling av forbindelser med den generelle formel I, hvor R_1 , R_3 , R_4 og Y er som definert ovenfor og R_2 er H, og X er $C(Z)_2$, innbefatter følgende trinn:

25 a) Forbindelser med den generelle formel II,

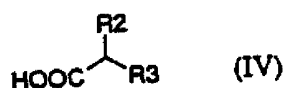


hvor R_1 er som definert for formel I og X er $C(Z)_2$, som enten er kommersielt tilgjengelige eller tilgjengelige ved anvendelse av kjente teknikker, kan omdannes til
30 en forbindelse med den generelle formel III,

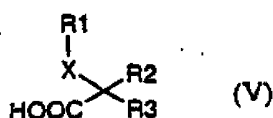


35 hvor L er en egnet utgående gruppe, slik som klor, brom, jod, triflat eller tosyl, under standard betingelser ved anvendelse av egnet reagens, slik som PPh_3/CBr_4 , $TosCl/pyridin$ eller $(CF_3SO_2)_2O/TEA$.

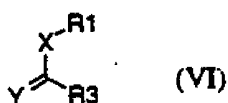
- b) Forbindelser med generell formel III kan deretter reageres med forbindelser med generell formel IV,



hvor R_2 og R_3 er som definert for formel I, som enten er kommersielt tilgjengelig eller tilgjengelig ved anvendelse av kjente teknikker, i nærvær av en egnet base, slik som K_2CO_3 eller NaH , under standard betingelser som gir forbindelser med den generelle formelen V.



- c) Forbindelser med den generelle formel V hvor R_1 og R_3 er som definert for formel I og X er $\text{C}(\text{Z})_2$ og R_2 er H kan deretter omdannes til forbindelser med den generelle formel VI,

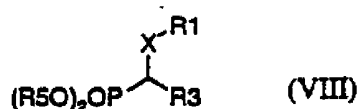


ved behandling med formaldehyd i nærvær av en egnet base, slik som Et_2NH , under standard betingelser.

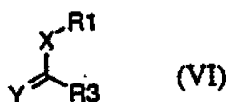
- d) Forbindelser med generell formel VI kan også fremstilles ved å behandle forbindelser med generell formel VII,



hvor R_3 og R_5 er som definert for formel I, med et alkyleringsmiddel med generell formel III i nærvær av en egnet base, slik som LDA eller NaH, under standard betingelser og gir forbindelser med den generelle formel VIII,



- e) Forbindelser med den generelle formel VIII kan deretter reageres med et passende aldehyd eller keton $OC(Z)_2$ i nærvær av en egnet base slik som $KOtBu$, LDA eller NaH, under standard betingelser for å gi en forbindelse med den generelle formel VI.



- f) Forbindelser med den generelle formel VI kan ytterligere reageres med forbindelser med den generelle formel IX,

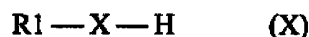


hvor R_5 er en egnet beskyttende gruppe, slik som Ac, Bz, PMB eller Bn, alene eller i nærvær av en egnet base, slik som NaOMe, NaH eller trietylamin eller alternativt i nærvær av en fri-radikal initiator, slik som AIBN under standard betingelser for å gi forbindelser med den generelle formel I, hvor R_1 , R_3 , R_4 og Y er som definert for formel I og R_2 er H og X er $C(Z)_2$.

Fremgangsmåte B

Fremgangsmåte B for fremstilling av forbindelser med generell formel I, hvori R_1 , R_2 , R_3 og R_4 er som definert i formel I og Y er CH_2 , og X er O, S, SO, SO_2 , $C(Z)_2$, eller $N(Z)$, innbefatter følgende trinn:

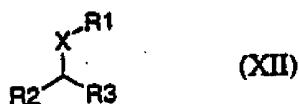
- a) Reagere en forbindelse med generell formel X,



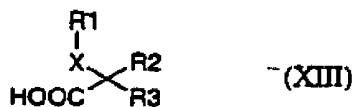
hvor R_1 er som definert for formel I og X er O, S, eller N(Z), med et alkyleringsmiddel med generell formel XI,



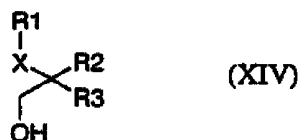
hvor R_2 og R_3 er som definert for formel I og L er en egnet utgående gruppe, slik som en klorm brom, jod, triflat eller tosylatgruppe, under standard betingelser ved anvendelse av egnede reagenser, slike som NaH, Ag_2CO_3 , eller $\text{Bu}_4\text{NHSO}_4/\text{NaOH}$, for å gi forbindelser med den generelle formel XII,



- b) Forbindelser med den generelle formel XII kan deretter reageres med karbondioksid i nærvær av en egnet base, slik som LDA eller KHMDS under standard betingelser og gi en forbindelse med generell formel XIII,



- c) Forbindelser med den generelle formel XIII kan deretter reageres med et alkyl klorformat, slik som ClCOOMe i nærvær av en base, slik som trietylamin, og deretter redusere det dannede blandede anhydridet med et egnet reduksjonsmiddel, slik som NaBH_4 , under standard betingelser, og gi en forbindelse med generell formel XIV



- d) Forbindelser med generell formel XIV kan deretter reageres med en forbindelse med generell formel IX



hvor R_5 er en egnet beskyttende gruppe, slik som Ac eller Bz, i nærvær av et egnet reagens, slik som $PPh_3/DIAD$, under standard betingelser og gi forbindelser med den generelle formel I, hvori R_1 , R_2 , R_3 og R_4 er som definert ovenfor og Y er CH_2 og X er O, S, $C(Z)_2$ eller $N(Z)$.

5

- e) Forbindelser med generell formel I, hvori R_1 , R_2 , R_3 , R_4 og Y er som definert ovenfor og X er S kan deretter reageres med et egnet oksidasjonsmiddel, slik som MCPBA under standard betingelser og gi forbindelser med generell formel I, hvori R_1 , R_2 , R_3 , R_4 og Y er som definert ovenfor og X er SO eller SO_2 .

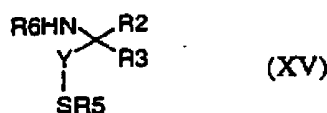
10

Fremgangsmåte C

Fremgangsmåte C for fremstilling av forbindelser med generell formel I, hvori R_1 , R_2 , R_3 , R_4 og Y er som definert ovenfor og X er NR_6CO , $CONR_6$, SO_2NR_6 eller NR_6SO_2 omfatter følgende trinn:

15

- a) Reagere en forbindelse med generell formel XV,



20

hvor R_2 , R_3 , R_6 og Y er som definert for formel I og R_5 er en egnet beskyttende gruppe, slike som Ac, Bz, PMB eller Bn, med en forbindelse med generell formel XVI,

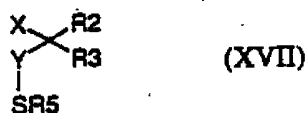
25



hvor R_1 er som definert for formel I og X er $COOH$ eller SO_2Cl i nærvær av et egnet koblingsreagens, slik som $PyBOP/DIPEA$, $DCC/HOBt$, $EDC/TEA/DMAP$ eller pyridin under standard betingelser for å gi forbindelser med generell formel I, hvori R_1 , R_2 , R_3 , R_4 og Y er som definert ovenfor og X er NR_6CO eller NR_6SO_2 .

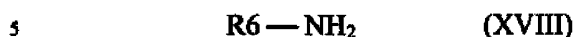
30

- b) Reagere en forbindelse med generell formel XVII,



35

hvor R_2 , R_3 og Y er som definert for formel I og X er COOH eller SO_2Cl og R_5 er en egnet beskyttende gruppe, slik som Ac , Bz , PMB eller Bn , med en forbindelse med den generelle formel XVIII,



hvor R_6 er som definert for formel I i nærvær av egnede koblingsreagenser, slike som PyBOP/DIPEA , CDD/HOBt , EDC/TEA/DMAP eller pyridin under standard betingelser og gi forbindelser med den generelle formel I, hvor R_1 , R_2 , R_3 , R_4 og Y er som definert ovenfor og X er CONR_6 eller SO_2NR_6 .

Således angår oppfinnelsen en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse ifølge oppfinnelsen, hvor R_1 , R_3 , R_4 og Y er som definert ifølge oppfinnelsen og X er $\text{C}(\text{Z})_2$ og R_2 er H , kjennetegnet ved at den innbefatter trinnet med å omsette en forbindelse med formel VI,

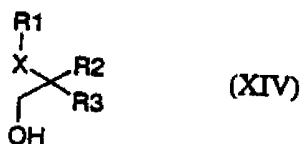


hvor R_1 , R_3 og Y er som definert ifølge oppfinnelsen og X er $\text{C}(\text{Z})_2$, med en forbindelse med formel IX,



hvor R_5 er en egnet beskyttende gruppe, slik som Ac , Bz , PMB eller Bn , alene eller under nærvær av en passende base, slik som NaOMe , NaH eller trietylamin eller alternativt under nærvær av en fri-radikal initiator, slik som AIBN , under standard betingelser.

Oppfinnelsen angår også en fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse ifølge oppfinnelsen, hvor R_1 , R_2 , R_3 og R_4 er som definert ifølge oppfinnelsen og Y er CH_2 og X er $\text{C}(\text{Z})_2$, kjennetegnet ved at den innbefatter trinnet med å omsette en forbindelse med formel XIV:



- 5 hvor R_1 , R_2 og R_3 er som definert ifølge oppfinnelsen og X er $C(Z)_2$ med en forbindelse med generell formel IX.



- 10 hvori R_5 er egnet beskyttende gruppe, slik som Ac eller Bz, under nærvær av et passende reagens, slik som PPh_3 /DIAD, under standard betingelser.

Det vil være foretrukket av fagmannen at i de fremgangsmåtene beskrevet ovenfor kan funksjonelle gruppene til intermediatforbindelsene trenge å være beskyttet ved egnede
15 beskyttende grupper.

Funksjonelle grupper, som det er ønskelig å beskytte, inkluderer hydroksy, amino, merkaptogruppe, og karboksylsyre. Egnede beskyttende grupper for hydroksy inkluderer trialkylsilyl eller diarylalkylsilyl (for eksempel t-butyldimetylsilyl, t-butyldifenylsilyl
20 eller trimetylsilyl), tetrahydropyranyl og bensyl. Egnede beskyttende grupper for amino, amidino og guanidino inkluderer t-butyloksykarbonyl og bensyloksykarbonyl. Egnede beskyttende grupper for merkaptogruppe inkluderer CO- C_{1-6} alkyl, p-metoksybensyl og trityl. Egnede beskyttende grupper for karboksylsyre inkluderer C_{1-6} alkyl og bensylester.

25 Beskyttende grupper kan fjernes i henhold til teknikker som er godt kjente for fagmannen.

30 Visse beskyttede derivater og forbindelser av formel I, som kan fremstilles før det endelige avbeskyttelsestrinnet for å danne forbindelser med formel I, er nye.

Anvendelsen av beskyttende grupper er beskrevet i "Protective Groups in Organic Synthesis", 2. utgave, T.W. Greene & P.G.M. Wutz, Wiley-Interscience (1991). Den beskyttede gruppen kan også være en polymer slik som en Wang harpiks eller en 2-
35 klortrityl klorid harpiks.

Det vil også være foretrukket av fagmannen, selv om slike beskyttede derivater av forbindelser med formel I ikke fremviser farmakologisk aktivitet som sådan, kan de administreres parenteralt eller oralt og deretter metaboliseres i kroppen for å danne forbindelser ifølge forbindelsen som er farmakologisk aktive. Slike derivater kan derfor
5 beskrives som "prodrugs". Alle prodrugs av forbindelser med I er inkludert innenfor omfanget av oppfinnelsen.

Det skal også forstås at alle polymorfer, amorfe former, anhydrater, hydrater, solvater av forbindelser ifølge oppfinnelsen er innefor omfanget av oppfinnelsen.

10

I et ytterligere aspekt angår foreliggende oppfinnelse farmasøytiske sammensetninger som innbefatter minst en forbindelse ifølge oppfinnelsen, eller et farmasøytisk akseptabelt salt derav, som aktiv ingrediens.

15 For klinisk anvendelse blir forbindelsen ifølge oppfinnelsen formulert til farmasøytiske formuleringer for oral, intravenøs, subkutan, trakeal, bronkial, intranasal, pulmonær, transdermal, bukkal, rektal, parenteral, eller annen administrasjonsmåte. Den farmasøytiske formuleringen inneholder en forbindelse ifølge oppfinnelsen i kombinasjon med en eller flere farmasøytiske akseptable ingredienser. Bæreren kan
20 være i form av et fast stoff, delvis fast stoff eller et flytende fortynningsmiddel, eller en kapsel. Disse farmasøytiske preparatene er ytterligere et formål for oppfinnelsen. Vanlig mengde av aktiv forbindelse er mellom 0,1 og 95 vektprosent av preparatet.

Ved fremstilling av de farmasøytiske formuleringene som inneholder en forbindelse
25 ifølge oppfinnelsen kan forbindelsen som velges ut blandes med faste pulveriserte ingredienser, slike som laktose, sakkarose, sorbitol, mannitol, stivelse, amylopektin, cellulosederivater, gelatin eller annen egnet ingrediens, så vel som med disintegreringsmidler og smøremidler slik som magnesium stearat, kalsium stearat, natrium stearyl fumarat og polyetylen glykol vokser. Blandingen kan også bearbeides til granuler eller
30 presses til tabletter.

Myke gelatin kapsler kan fremstilles med kapsler som inneholder en blanding av den aktive forbindelsen eller forbindelser ifølge oppfinnelsen, vegetabilsk olje, fett, eller andre annen egnet vehikel for myke gelatin kapsler. Harde gelatin kapsler kan
35 inneholde granuler av den aktive forbindelsen. Harde gelatin kapsler kan også inneholde den aktive forbindelsen i kombinasjon med faste pulverformige ingredienser

slik som laktose, sakkarose, sorbitol, mannitol, potetstivelse, maisstivelse, amylopektin, cellulose derivater eller gelatin.

Doseringsenheter for rektal administrasjon kan fremstilles

5

- (i) i form av stikkpiller som inneholder den aktive substansen blandet med en nøytral fettbase;
- (ii) i form av en gelatin rektal kapsel som inneholder den aktive substansen i blanding med en vegetabilsk olje, parafinolje eller annen egnet vehikel for rektale gelatin kapsler;
- (iii) i form av en ferdig mikro klyster; eller
- (iv) i form av en tørr klysterformulering som kan rekonstitusjoneres i et egnet løsemiddel like før administrasjon.

10

- 15 Væskepreparater kan fremstilles i form av siruper eller suspensjoner, for eksempel løsninger eller suspensjoner som inneholder den aktive ingrediensen og hvor resten består for eksempel av sukker eller sukkeralkoholer og en blanding av etanol, vann, glyserol, propylen glykol og polyetylen glykol. Hvis ønskelig kan slike væskepreparater inneholde fargestoffer, smaksstoffer, konserveringsmidler, sakkarin og
- 20 karboksymetyl cellulose eller andre fortykningsmidler. Flytende preparater kan også fremstilles i form av et tørt pulver som kan rekonstitusjoneres med et egnet løsemiddel før anvendelse.

25

Løsninger for parenteral administrasjon kan fremstilles som en løsning av en forbindelse ifølge oppfinnelsen i et farmasøytisk akseptabelt løsemiddel. Disse løsninger kan også inneholde stabiliseringsingredienser, konserveringsmidler og/eller buffer ingredienser. Løsninger for parenteral administrasjon kan også fremstilles som et tørt preparat som kan rekonstitusjoneres med et egnet løsemiddel før anvendelse.

30

Typisk daglig dose aktiv substans varierer innenfor brede grenser og vil avhenge av forskjellige faktorer slik som for eksempel det individuelle kravet til hver pasient, administrasjonsrute og sykdom. Generelt vil orale og parenterale doseringer være i området 0,1 til 1000 mg pr. dag aktiv substans.

35

Forbindelser ifølge oppfinnelsen er inhibitorer av karboksypeptidase U enten som sådan, eller i tilfellet prodrug etter administrasjon. Forbindelsene ifølge oppfinnelsen forventes således å være anvendelige ovenfor de tilstander hvor inhibering av karboksy-

peptidase U er fordelaktig, slik som i behandling eller profylakse av trombose og hyperkoaguleringssevne i blod og vev hos pattedyr, som inkluderer mennesket.

Det er kjent at hyperkoaguleringssevne kan føre til trombo-emboliske sykdommer.

- 5 Tilstander assosiert med hyperkoaguleringssevne og tromboemboliske sykdommer som kan nevnes inkluderer protein C resistens og iboende eller tillærte svakheter i anti-trombin III, protein C, protein S og heparin kofaktor II. Andre tilstander kjente å være assosiert med hyperkoaguleringssevne og tromboembolisk sykdom inkluderer sirkulasjons- og septisk sjokk, sirkulerende antifosfor lipid antistoffer, homosysteinemi, heparinindusert trombocytopeni og defekter ved fibrinolyse. Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er således indikert både ved terapeutisk og/eller profylaktisk behandling av disse tilstandene. Forbindelsene ifølge oppfinnelsen er videre indikert ved behandling av tilstander hvor det er uønsket overskudd av proCPU/CPU.
- 15 Særlige sykdomstilstander som kan nevnes inkluderer terapeutisk og/eller profylaktisk behandling av venøs trombose og pulmonær embolisme, arterisk trombose (for eksempel ved myokardisk infarkt, ustabil angina, trombosebasert slag og perifer arterie trombose) og systemisk embolisme vanligvis fra atrium i løpet av arterisk fibrillering eller fra venstre ventrikel etter transmural myokardisk infarkt.
- 20 Videre forventes forbindelsen ifølge oppfinnelsen å ha anvendelse ved profylakse av reokklusjon og restenose (for eksempel trombose) etter trombolyse, perkutant transluminal angioplasti (PTA) og koronare bypass operasjoner; og hindring av re-trombose etter mikrokirurgi og vaskulær kirurgi generelt.
- 25 Ytterligere indikasjoner inkluderer terapeutisk og/eller profylaktisk behandling av disseminert intravaskulær koagulering forårsaket av bakterie, multippel trauma, intoksikasjon eller en hvilken som helst annen mekanisme, fibrinolytisk behandling når blodet er i kontakt med fremmede overflater i kroppen, slik som vaskulære podinger, vaskulære stenter, vaskulære kateter, mekaniske og biologiske proteseventiler og et hvilket som helst annet medisinsk utstyr, og fibrinolytisk behandling når blod er i kontakt med medisinsk utstyr utenfor kroppen, slik som i løpet av kardiovaskulær kirurgi ved anvendelse av en hjerte-lunge maskin eller ved hemodialyse.
- 35 Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan også kombineres og/eller koadministreres med et hvilket som helst annet antitrombotisk middel med en forskjellig virkningsmekanisme, slike som anti-blodplate midlene acetylsalisylsyre tiklopidin, klopidoogrel, tromboksan

reseptor og/eller syntase inhibitorer, fibrinogen reseptor antagonist, prostasyklin etterlignere og fosfodiesterase inhibitorer og ADP-reseptor (P_2T) antagonist og trombin inhibitorer.

- 5 Forbindelsene ifølge oppfinnelsen kan ytterligere kombineres og/eller koadministreres med trombolytiske midler slike som vevs plasminogen aktivator (naturlig, rekombinant eller modifisert), streptokinase, urokinase, prourokinase, anisoylert plasminogen-streptokinase aktivator kompleks (APSAC), dyrespytt kjertel plasminogen aktivatorer, og lignende, ved behandling av trombotiske sykdommer, særlig myokardisk infarkt og
10 slag.

Utførelsesformer av foreliggende oppfinnelse er videre angitt i de selvstendige kravene 8, 11 og 12 som angir en farmasøytisk formulering, krav 10 som angår en anvendelse og krav 13 som angår et kit.

15

Inhiberingseffekten til forbindelsene ifølge oppfinnelsen ble estimert ved anvendelse av undersøkelsen beskrevet i: Dirk Hendriks, Simon Scharpe og Marc van Sande, Clinical Chemistry, 31, 1936-1939 (1985); og Wei Wang, Dirk F. Hendriks, Simon S. Scharpe, The Journal of Biological Chemistry, 269, 15937-15944 (1994).

20

EKSEMPLER

Massespekter ble utført på en Finnigan MAT TSQ 700 trippel kvadropol masse-spektrometer utstyrt med et elektropray grensesnitt (FAB-MS) og VG plattform II
25 massespektrometer utstyrt med et elektropray grensesnitt (LC-MS). ^1H NMR og ^{13}C NMR målinger ble utført på Varian UNITY pluss 400, 500 og 600 spektrometre som opererte på ^1H frekvensene 400, 500 og 600 MHz respektivt. Kjemiske skift er gitt i ppm med løsemidlet som indre standard. De organiske ekstraktene ble tørket ved anvendelse av $MgSO_4$ eller Na_2SO_4 som tørkemiddel. Kromatografiske separasjoner
30 ble utført ved anvendelse av mørk silika gel 60 (0,063-0,200 mm). HPLC separasjoner ble utført på en HIGHCROM KR100-10C8 kolonne.

Eksempel 1

2-merkaptometyl-3-piperidin-4-yl-propionsyre

35

a) 3-piperidin-4-yl-propionsyre

En løsning av 3-pyridin-4-yl-akrylsyre (4,20 g, 28,0 mmol) i vann (50 ml) og ammoniakk (aq, 25%, 4 ml) ble hydrogenert ved 60 bar i en høytrykks stålautoklave i nærvær av rutenium (5% på alumina, 439 mg). Når hydrogentrykket også er konstant (3 dager) ble katalysatoren fjernet fra reaksjonsblandingen ved filtrering. Katalysatoren ble vasket med etanol og vann og etanolet ble fjernet fra løsningen på en rotavapor og den vandige løsningen ble frysetørket og ga 3-piperidin-4-yl-propionsyre (4,30 g, 100%).

b) 4-(2-karboksy-etyl)-piperidin-1-karboksyisyre tert-butylester

En løsning 3-piperidin-4-yl-propionsyre (4,79 g, 30,5 mmol), di-tert-butyl-dikarbonat (6,98 g, 32,0 mmol) og NaHCO_3 (2,69 g, 32,0 mmol) i THF/vann (1:1, 50 ml) ble omrørt ved romtemperatur i 22 timer. En annen porsjon di-tert-butyl-dikarbonat (2,00 g, 9,10 mmol) ble tilsatt sammen med en katalytisk mengde DMAP og den resulterende blandingen ble rørt i ytterligere 4 dager. THF ble fjernet under redusert trykk og den vandige fasen ble ekstrahert med CH_2Cl_2 . De vandige stoffene ble deretter surgjort i pH 2 med 1M HCl og syren ekstrahert med CH_2Cl_2 . De kombinerte organiske ekstraktene ble vasket med saltvann, tørket og konsentrert i vakuum som ga 4-(2-karboksy-etyl)-piperidin-1-karboksyisyre tert-butyl ester som et hvitt fast stoff (6,36 g, 81%).

c) 4-(3-bensylsulfanyl-2-karboksy-propyl)-piperidin-1-karboksyisyre tert-butyl ester

BuLi (1,6 M, 15,3 ml, 24,4 mmol) ble tilsatt til en løsning av diisopropylamin (3,43 ml, 24,4 mmol) i THF (3 ml) ved -78°C under argon. Etter noen minutter ble løsningen varmet opp til romtemperatur i løpet av 15 minutter. Den resulterende LDA løsningen ble sakte tilsatt til en løsning av 4-(2-karboksy-etyl)-piperidin-1-karboksyisyre tert-butyl ester (3,07 g, 11,9 mmol) i THF (7 ml) ved -78°C . Den resulterende løsningen ble omrørt ved -78°C i 10 minutter og deretter ble THF (20 ml) tilsatt i løpet av den tiden for å løse opp anionet som hadde størknet. Dianonene ble avkjølt til -78°C og brommetyl tiobensyleter (2,72 g, 12,5 mmol) ble tilsatt som en løsning i THF (3 ml), løsningen ble rørt ved -78°C i 30 minutter, ved 0°C i 30 minutter og deretter varmet til romtemperatur og rørt over natten. Reaksjonsblandingen ble surgjort med 1M HCl, fortynnet med EtOAc og den organiske fasen ble vasket med vann og tørket. Det urene produktet ble rensert med flash kromatografi ($\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$, 1:9) som ga 4-(3-bensyl-sulfanyl-2-karboksy-propyl)-piperidin-1-karboksyisyre tert-butyl ester som en matt gul olje (3,12 g, 66%).

d) 4-(2-karboksy-3-merkaptopropyl)-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester

Natrium metall (513 mg, 22,5 mmol) ble tilsatt i porsjoner i løpet av 5 minutter til en løsning av 4-(3-bensylsulfanyl-2-karboksypropyl)-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (0,9 g, 2,29 mmol) i THF (45 ml) og flytende ammoniakk (50 ml) ved -60°C under argon. Etter røring i 15 minutter ble ammonium klorid (1,7 g, 31,5 mmol) tilsatt i porsjoner. Kjølebadet ble fjernet og ammoniakken ble fordampet ved anvendelse av en strøm av argon. 0,5 M NaOH ble tilsatt og blandingen ble vasket med heptan. Den vandige fasen ble surgjort med 2M HCl og ekstrahert med metylklorid. Den organiske fasen ble vasket med saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 4-(2-karboksy-3-merkaptopropyl)-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (0,7 g, 100%).

e) 2-merkaptometyl-3-piperidin-4-yl-propionsyre

Til en løsning av 4-(2-karboksy-3-merkaptopropyl)-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (0,7 g, 2,29 mmol) i metylen klorid (8 ml) under argon ble det tilsatt trietyl silan (731 µl, 4,58 mmol) fulgt av TFA (4 ml). Reaksjonsblandingen ble rørt i 60 minutter og deretter konsentrert under redusert trykk. Rensing med HPLC (10 → 30% asetonitril, 0,1% TFA i vann) ga tittelforbindelsen som TFA saltet (447 mg, 61%).

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 1,34-1,50 (m, 2H), 1,54-1,76 (m, 3H), 1,90-1,99 (m, 1H), 2,0-2,1 (m, 1H), 2,9-3,05 (m, 5H), 3,38-3,48 (m, 2H).
MS (+) 204 (M+1).

Eksempel 2

3-(1-asetyl-piperidin-4-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre

En løsning av 2-merkaptometyl-3-piperidin-4-yl-propionsyre TFA salt (0,1 g, 0,32 mmol) i eddiksyre anhydrid (2 ml) ble rørt over natten under argon og deretter konsentrert under redusert trykk. Rensing med HPLC (10 → 50% asetonitril, 0,1% TFA i vann) ga tittelforbindelsen (63 mg, 80%).

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 1,0-1,22 (m, 2H), 1,46-1,55 (m, 1H), 1,55-1,66 (m, 2H), 1,67-1,79 (m, 1H), 1,81-1,92 (m, 1H), 2,08 (s, 3H), 2,55-2,73 (m, 4H), 3,03-3,12 (m, 1H), 3,83-3,94 (m, 1H), 4,45-4,53 (m, 1H).
MS (+) 246 (M+1).

Eksempel 3**3-merkapto-5-metyl-2-piperidin-4-ylmetyl-heksansyre****a) 4-hydroksymetyl-piperidin-1-karboksylysyre tert-butylester**

5

Til en løsning av 4-(hydroksymetyl)piperidin (5,00 g, 43,41 mmol THF/H₂O (1:1, 120 ml) ble tilsatt di-t-butyl dikarbonat (9,47 g, 43,41 mmol). Reaksjonsblandingen ble rørt i 16 timer ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble deretter helt over i H₂O (500 ml) og ekstrahert med etyl acetat (3 x 250 ml). De organiske sjiktene ble kombinert og
 10 vasket med vann. Det organiske sjiktet ble tørket over natrium sulfat, filtrert og deretter konsentrert under redusert trykk som ga 4-hydroksymetyl-piperidin-1-karboksylysyre tert-butyl ester (9,01 g, 96%).

b) 4-brommetyl-piperidin-1-karboksylysyre tert-butyl ester

15

Til en løsning av 4-hydroksymetyl-piperidin-1-karboksylysyre tert-butyl ester (8,75 g, 40,64 mmol) i dietyl eter (200 ml) ble det ved 0°C under nitrogen tilsatt trifenyl fosfin (21,32 g, 81,28 mmol) og karbon tetrabromid (26,96 g, 81,28 mmol). Blandingen ble varmet til romtemperatur og rørt under nitrogen i 48 timer. Reaksjonsblandingen ble
 20 filtrert gjennom et lag av celite og det organiske filtratet ble vasket med 5% Na₂S₂O₃, vann, saltvann og tørket. Blandingen ble filtrert og konsentrert under redusert trykk. Det urene produktet ble rensset med kolonne kromatografi (etyl acetat/heksan, 1:9) som ga 4-brommetyl-piperidin-1-karboksylysyre tert-butyl ester (8,26 g, 73%).

25 c) 4-[2-tert-butoksykarbonyl-2-(dietoksy-fosforyl)-etyl]-piperidin-1-karboksylysyre tert-butyl ester

tert-butyl dietylfosfonacetat (75,0 g, 297,32 mmol) ble tilsatt dråpevis til en suspensjon av natrium hydrid (8,03 g, 334,58 mmol) i DMF (450 ml) ved 0°C under nitrogen.
 30 Blandingen ble rørt ved 0°C i 0,5 timer og ved romtemperatur i 0,5 timer. 4-brommetyl-piperidin-1-karboksylysyre tert-butyl ester (20,68 g, 74,34 mmol) i DMF (50 ml) ble tilsatt dråpevis til reaksjonsblandingen og reaksjonen ble varmet til 60°C og rørt i 16 timer. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur, helt over i H₂O og ekstrahert med etyl acetat. De organiske sjiktene ble kombinert og vasket med vann. Det
 35 organiske sjiktet ble tørket, filtrert og konsentrert under redusert trykk. Det urene produktet ble rensset med kolonne kromatografi (etyl acetat/heksan, 3:7) som ga 4-[2-tert-butoksykarbonyl-2-(dietoksy-fosforyl)-etyl]-piperidin-1-karboksylysyre tert-butyl

ester og ureagert t-butyl dietylfosfonoacetat. Produktet var 47% rent med HPLC. Produktet ble ytterligere rensset med vakuum destillasjon og ga 77% renhet. Denne blandingen ble tatt med til neste reaksjon.

5 d) 4-(2-tert-butoksykarbonyl-5-metyl-heks-2-enyl)-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester

4-[2-tert-butoksykarbonyl-2-(dietoksy-fosforyl)-etyl]-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (8,1 g) i 20 ml DME ble tilsatt dråpevis til en suspensjon av natrium hydrid
 10 (1,04 g, 43,13 mmol) i DME (20 ml) ved 0°C under nitrogen. Blandingen ble rørt i 0,75 timer og isovaleraldehyd (7,76 g, 90,1 mmol) ble tilsatt dråpevis til blandingen. Blandingen ble varmet til romtemperatur og rørt i 48 timer. Blandingen ble fortynnet med eter og vasket med vann. Det organiske sjiktet ble tørket, filtrert og konsentrert under redusert trykk som ga 9,4 g av en gul olje. Det urene produktet ble rensset med
 15 kolonne kromatografi (etyl acetat/heksan, 1:50) som ga 4-(2-tert butoksykarbonyl-5-metyl-heks-2-enyl)-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (1,53 g, 24%) for to reaksjoner.

20 e) 4-[2-tert-butoksykarbonyl-3-(4-metoksy-bensylsulfanyl)-5-metyl-heksyl]-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester

En løsning av 4-(2-tert-butoksykarbonyl-5-metyl-heks-2-enyl)-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (2,0 g, 5,24 mmol) i DMF (5 ml) ble tilsatt til en blanding av kalium karbonat (0,54 g, 3,93 mmol) og 4-metoksy- α -toluentiol (1,17 g, 10,48
 25 mmol) i DMF (50 ml) under nitrogen. Blandingen ble refluxert i 5 timer og avkjølt til romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble deretter helt over i H₂O og ekstrahert med etyl acetat. Det organiske sjiktene ble kombinert og vasket med vann. Det organiske sjiktet ble tørket, filtrert og redusert under trykk som ga 3,76 g av urent materiale. Det urene produktet ble rensset med kolonne kromatografi (etyl acetat/heksan, 1:10) som ga
 30 4-[2-tert-butoksykarbonyl-3-(4-metoksy-bensylsulfanyl)-5-metyl-heksyl]-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (1,77 g, 63%).

f) 3-merkapt-5-metyl-2-piperidin-4-ylmetyl-heksansyre

35 En blanding av H₂O (2,6 ml) og TFA (26 ml) ble frosset og deretter varmet til romtemperatur under nitrogen. 4-[2-tert-butoksykarbonyl-3-(4-metoksy-bensylsulfanyl)-5-metyl-heksyl]-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (2,62 g, 4,89 mmol)

ble tilsatt og blandingen ble refluksert i 16 timer. Blandingen ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert under redusert trykk. Det urene produktet ble rensset med omvendt-fase kolonne kromatografi (MeOH/H₂O, 3:2) som ga tittelforbindelsen som TFA saltet (0,40 g, 22%).

5

¹H NMR (300 MHz)(CD₃OD) δ 0,88 (d), 0,94 (d), 1,43 (m), 1,70 (br), 1,94 (m), 2,48 (m), 2,90 (m), 2,99 (br), 3,34 (m)
MS (+) 260,2 (M-TFA).

10 **Eksempel 4****3-merkaptto-4-fenyl-2-piperidin-4-ylmetyl-smørsyre**a) **4-(2-tert-butoksykarbonyl-4-fenyl-but-2-enyl)-piperidin-1-karboksyisyre tert-butyl ester**

15

En løsning av 4-[2-tert-butoksykarbonyl-2-(dietoksy-fosforyl)-etyl]-piperidin-1-karboksyisyre tert-butyl ester (3,0 g) i DME (8 ml) ble tilsatt dråpevis til en suspensjon av natrium hydrid (0,26 g, 10,51 mmol) i DME (8 ml) ved 0°C under nitrogen. Blandingen ble rørt i 0,75 timer. Fenyl acetaldehyd (5,26 g, 43,81 mmol) ble dråpevis tilsatt til blandingen ved 0°C. Blandingen ble varmet til romtemperatur og rørt i 16 timer. Blandingen ble fortynnet med eter og vasket med vann. Det organiske sjiktet ble tørket, filtrert og konsentrert under redusert trykk som ga 8,6 g av en gul olje. Det urene produktet ble rensset med kolonne kromatografi (etyl acetat/heksan, 1:50 → 1:10) som ga 4-(2-tert-butoksykarbonyl-4-fenyl-but-2-enyl)-piperidin-1-karboksyisyre tert-butyl ester (1,32 g, 62% utbytte) for to reaksjoner.

25

b) **4-[2-tert-butoksykarbonyl-3-(4-metoksy-bensylsulfanyl)-4-fenyl-butyl]-piperidin-1-karboksyisyre tert-butyl ester**

4-(2-tert-butoksykarbonyl-4-fenyl-but-2-enyl)-piperidin-1-karboksyisyre tert-butyl ester (0,8 g, 1,93 mmol) i DMF (10 ml) ble tilsatt til en suspensjon av kalium karbonat (0,20 g, 1,44 mmol) og 4-metoksy-α-toluentiol (0,54 ml, 3,85 mmol) i DMF (10 ml) under nitrogen. Blandingen ble oppvarmet til 75°C i 24 timer og avkjølt til romtemperatur. Reaksjonsblanding ble deretter helt over i H₂O og ekstrahert med etyl acetat. De organiske sjiktene ble kombinert og vasket med vann. Det organiske sjiktet ble tørket, filtrert og konsentrert under redusert trykk som ga 1,8 g urent materiale. Det urene produktet ble rensset med kolonne kromatografi (etyl acetat/heksan, 1:10) som ga 4-[2-

35

tert-butoksykarbonyl-3-(4-metoksy-bensylsulfanyl)-4-fenyl-butyl]-piperidin-1-karboksylysyre tert-butyl ester (0,55 g, 50%).

c) 3-merkapto-4-fenyl-2-piperidin-4-ylmetyl-smørsyre

5

En blanding av H₂O (0,65 ml) og TFA (6,5 ml) ble frosset og deretter varmet opp til romtemperatur under nitrogen. 4-[2-tert-butoksykarbonyl-3-(4-metoksy-bensylsulfanyl)-4-fenyl-butyl]-piperidin-1-karboksylysyre tert-butyl ester (0,65 g, 1,14 mmol) ble tilsatt og blandingen ble refluxert i 16 timer. Blandingen ble avkjølt til
10 romtemperatur og konsentrert under redusert trykk. Det urene produktet ble renset med omvendt-fase kolonne kromatografi (MeOH/H₂O, 1:1) som ga tittelforbindelsen som TFA saltet (0,27 g, 58%).

¹H NMR (300 MHz) (DMSO) δ 1,22 (m), 1,49 (m), 1,67 (br), 2,21 (d), 2,98 (m), 7,25
15 (m, 5H), 8,27 (br), 8,57 (br), 12,59 (br).
MS (+) 294,3 (M-TFA).

Eksempel 5

2-(2-amino-pyridin-4-ylmetyl)-3-merkapto-propionsyre

20

a) N-(4-metyl-pyridin-2-yl)-acetamid

2-amino-4-metylpyridin (99,0 g, 91,5 mmol) i eddiksyreanhydrid (250 ml) ble varmet til 70°C i to timer. Blandingen ble avkjølt til romtemperatur og dietyler (100 ml) ble
25 tilsatt. Produktet krystalliserte som hvite nålkrystaller. Filtrering og tørking i vakuum ga N-(4-metyl-pyridin-2-yl)-acetamid (130 g, 95%).

b) 2-acetylamino-isonikotinsyre

30 En blanding av N-(4-metyl-pyridin-2-yl)-acetamid (40,0 g, 0,26 mol) og vann (400 ml) ble varmet ved 90°C til løsningen ble homogen. KmnO₄ (100 g, 0,62 mol) ble tilsatt forsiktig i små porsjoner med kraftig mekanisk røring i løpet av to timer. Reaksjonsblanding ble holdt ved 90-95°C i ytterligere 3 timer før filtrering gjennom Celite mens blandingen fremdeles var varm. Filtratet ble konsentrert til ca. 100 ml og
35 konsentrert HCl ble tilsatt for å justere pH til ca. 4. Reaksjonskolben ble avkjølt på isbad og det hvite faste stoffet filtrert fra. Krystallene ble vasket med kaldt vann og kloroform og tørket i vakuum som ga 2-asetylamino-isonikotinsyre (12,0 g, 25%).

c) 2-amino-isonikotinsyre etyl ester

2-acetylamino-isonikotinsyre (10,8 g, 60,0 mmol) ble suspendert i etanol (150 ml) og BF_3OEt_2 (22 ml, 138 mmol) ble tilsatt. Blandingen ble refluksert over natten og etter
 5 avkjøling til romtemperatur ble 10% NaHCO_3 (250 ml) tilsatt. Produktet ble ekstrahert med kloroform og de kombinerte organiske ekstraktene ble vasket med vann og tørket. Filtrering og konsentrering ga 2-amino-isonikotinsyre etyl ester (7,46 g, 79%) som matte gule krystaller.

10 d) 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-isonikotinsyre etyl ester

Til en løsning av 2-amino-isonikotinsyre etyl ester (5,00 g, 30 mmol) i t-BuOH (45 ml) og aceton (15 ml) ble det tilsatt DMAP (50 mg, 0,41 mmol) og di-t-butyl dikarbonat (16,4 g, 75,0 mmol). Reaksjonen ble rørt ved romtemperatur over natten og heksan (60
 15 ml) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble avkjølt i et kjøleskap i 3 timer og filtrert som ga 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-isonikotinsyre etyl ester (8,71 g, 79%).

e) (4-hydroksymetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester

20 En løsning av 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-isonikotinsyre etyl ester (35,0 g, 95,5 mmol) i THF (350 ml) ble behandlet med LiAlH_4 (7,25 g, 191 mmol) og refluksert i 1 time under nitrogen. Reaksjonsblandingen ble helt forsiktig over knust is og produktet ble ekstrahert flere ganger med CHCl_3 og $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (9:1). De kombinerte organiske ekstraktene ble tørket, filtrert og konsentrert under redusert trykk
 25 som ga (4-hydroksymetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (18,5 g, 86%) som et matt gult fast stoff.

f) (4-brommetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester

30 (4-hydroksymetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (8,00 g, 35,6 mmol) ble oppløst i CH_2Cl_2 (150 ml) og behandlet med PPh_3 (11,2 g, 42,8 mmol) under nitrogen. Reaksjonskolben ble avkjølt på isbad og CBr_4 (14,2 g, 42,8 mmol) ble tilsatt i små porsjoner. Isbadet ble fjernet etter 30 minutter og reaksjonsblandingen ble rørt over natten ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble konsentrert under redusert trykk
 35 og acetonitril (50 ml) ble tilsatt. Reaksjonskolben ble plassert i et kjøleskap i 3 timer og presipitatet filtrert og vasket med kald acetonitril. Det hvite faste stoffet ble tørket i

vakuum som ga (4-brommetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (8,38 g, 82%).

g) 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-4-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester

5

Til en løsning av NaH (80%, 0,17 g, 4,00 mmol) i THF (5 ml) ved 0°C under argon ble det tilsatt dietyl malonat (0,64 g, 4,00 mmol). Etter at blandingen var rørt i 15 minutter ble blandingen tilsatt til en refluxert blanding av 4-brommetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (1,00 g, 3,48 mmol) i THF (10 ml), og blandingen ble
10 refluxert i 2 timer. Blandingen ble konsentrert under redusert trykk og residuet ble fordelt mellom vann og kloroform. Det organiske sjiktet ble vasket med vann og saltvann og tørket. Etter filtrering og fordamping av løsemidlet ble det urene produktet renset med flash kromatografi (MeOH/CH₂Cl₂, 1:100) som ga 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-4-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (0,80 g, 55%).

15

h) 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-4-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester

En løsning av KOH (0,19 g, 3,43 mmol) etanol (5 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-4-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (1,20 g, 3,27
20 mmol) i etanol (5 ml) og metylenklorid (5 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt i 18 timer ved romtemperatur. Blandingen ble konsentrert under redusert trykk og vann ble tilsatt til residuet. Det vandige sjiktet ble vasket med dietyleter, surgjort til pH 4 med 1M HCl, og ekstrahert med metylenklorid. Det organiske sjiktet ble vasket med vann, saltvann og tørket. Etter filtrering og fordamping i vakuum ble det urene produktet
25 renset med flash kromatografi (CH₃OH/CH₂Cl₂, 1:20) som ga 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-4-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (0,90 g, 81%).

i) 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-4-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester

30 En løsning av dietylamin (0,26 g, 2,67 mmol) i metylen klorid (4 ml) ble tilsatt til en blanding av 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-4-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (0,90 g, 2,66 mmol) og 37% vandig løsning av formaldehyd (0,24 g, 3,00 mmol) ved 0°C. Blandingen ble rørt i 5 timer ved romtemperatur og blandingen ble helt over i isvann og ekstrahert med metylklorid. Det organiske sjiktet ble vasket med 5%
35 NaHCO₃ og tørket. Det urene produktet ble renset med flash kromatografi (1% metanol i CH₂Cl₂) som ga 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-4-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (0,58 g, 71%).

j) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-4-yl)-propionsyre etyl ester

En løsning av 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-4-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (0,48 g, 1,57 mmol) og trietylamin (0,17 g, 1,64 mmol) ble tilsatt til tioeddiksyre (3 ml) ved 0°C under nitrogen. Blandingen ble rørt ved romtemperatur i 4 timer. Blandingen ble helt over i isvann og ekstrahert med CH₂Cl₂. Den organiske fasen ble vasket med mettet NaHCO₃ (aq.) og tørket. Det urene produktet ble renset med flash kromatografi (2,5% MeOH i CH₂Cl₂) som ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-4-yl)propionsyre etyl ester (0,60 g, 100%).

k) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-amino-pyridin-4-yl)-propionsyre etyl ester

TFA (0,5 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-4-yl)-propionsyre etyl ester (50 mg, 0,13 mmol) i metylenklorid under argon. Løsningen ble rørt i 60 minutter og konsentrert under redusert trykk som ga urent 2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-amino-pyridin-4-yl)-propionsyre etyl ester (52 mg, 100%).

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD₃): δ 1,15 (t, 3H), 2,32 (s, 3H), 2,73-2,83 (m, 2H), 2,86-2,93 (m, 1H), 3,01-3,07 (dd, 1H), 3,12-3,18 (dd, 1H), 4,03-4,12 (m, 2H), 6,39 (s, 1H), 6,43 (d, 1H), 7,77 (d, 1H).

l) 2-(2-amino-pyridin-4-ylmetyl)-3-merkpto-propionsyre

2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-amino-pyridin-4-yl)-propionsyre etyl ester (52 mg, 0,13 mmol) ble oppløst i konsentrert HCl (2 ml) under argon. Løsningen ble varmet til reflux i 1 time. Konsentrasjonen under redusert trykk ga tittelforbindelsen som hydrokloridsaltet (32 mg, 100%).

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 2,70 (bs, 2H), 2,85-3,0 (m, 3H), 6,76 (s, 1H), 6,81 (bs, 1H), 7,67 (bs, 1H).
MS (+) 213 (M + 1).

Eksempel 6**3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre****a) 6-amino-nikotinsyre etyl ester**

5

2-amino-5-pyridinkarboksylysyre (25,0 g, 181 mmol) ble suspendert i etanol (190 ml) og SOCl₂ (15 ml, 206 mmol) ble tilsatt. Blandingen ble refluxert i 10 timer og mer SOCl₂ (16 ml) ble tilsatt. Etter 3 dager med reflux (og mer SOCl₂ (10 ml) tilsatt hver dag) ble reaksjonsblandingen avkjølt til romtemperatur og dietyleter ble tilsatt. Etter 24 timer
 10 ved -20°C ble blandingen filtrert. Det urene saltet ble løst i metanol (214 ml) og løsningen av NaOH (40,0 g, 23,5 mmol) i etanol (90 ml) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble rørt i 1 time og THF (270 ml) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble filtrert gjennom en plugg av silika (THF/MeOH) og konsentrert under redusert trykk som ga 6-amino-nikotinsyre etyl ester (36,2 g, 97%).

15

b) 6-tert-butoksykarbonylamino-nikotinsyre etyl ester

Til en løsning av 6-amino-nikotinsyre etyl ester (36,0 g, 217,0 mmol) i t-BuOH (308 ml) og aceton (103 ml) ble tilsatt DMAP (0,53 g, 4,34 mmol) og di-t-butyl dikarbonat
 20 (72,0 g, 330 mmol). Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur i 10 timer fulgt av tilsetning av mer di-t-butyl dikarbonat (2,60 g). Etter 10 timers røring ved romtemperatur ble heksan (470 ml) tilsatt. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til -20°C i 2 timer og filtrert. Filtratet ble vasket med heksan/diklormetan (3:1) og tørket i vakuum som ga 6-tert-butoksykarbonylamino-nikotinsyre etyl ester (40,5 g, 70%).

25

c) (5-hydroksymetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester

Til en rørt løsning av 6-tert-butoksykarbonylamino-nikotinsyre etyl ester (3,50 g, 13,1 mmol) i THF (20 ml) under nitrogen ble det tilsatt LiAlH₄ (0,91 g, 24,0 mmol) i THF
 30 (20 ml) i løpet av 2 timer. Reaksjonsblandingen ble rørt i 6 timer og deretter ble NH₄Cl (mettet) tilsatt (forsiktig) til nøytral løsning. Blandingen ble filtrert og konsentrert under redusert trykk som ga (5-hydroksymetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (2,00 g, 68%).

5-brommetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester

Trifenylfosfin (8,70 g, 33,1 mmol) og karbontetrabromid (17,0 g, 51,2 mmol) ble tilsatt til en suspensjon av (5-hydroksymetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (7,00 g, 31,2 mmol) i CH_2Cl_2 (200 ml) ved romtemperatur. Røringen fortsatte i 5 timer fulgt av fordampning av løsemidlet. Acetonitril (200 ml) ble tilsatt og blandingen ble avkjølt til -20°C i 2 timer. Blandingen ble deretter filtrert og det krystallinske residuet ble vasket med kald acetonitril (2 x 10 ml) som ga (5-brommetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (5,96 g, 67%).

d) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester

Til en suspensjon av NaH (0,49 g, 16,3 mmol, 80%) i THF (15 ml) ble det ved 0°C tilsatt dimetylmalonat (2,61 g, 16,3 mmol). Blandingen ble rørt i 15 minutter og ble deretter tilsatt dråpevis til en refluksert blanding av (5-brommetyl-pyridin-2-yl)-karbamin syre tert-butyl ester (3,90 g, 13,6 mmol) i THF (25 ml), og den resulterende løsningen ble refluksert i 15 minutter. Etter fordampning av løsemidlet ble det urene produktet rensert med flash kromatografi (metanol/ CH_2Cl_2 , 1:100 $\rightarrow$ 2,5:100) som ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (2,18 g, 44%).

e) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester

En løsning av KOH (0,37 g, 6,54 mmol) i etanol (5 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (2,18 g, 5,95 mmol) i etanol (25 ml) og metylen klorid (10 ml) ved 0°C . Blandingen ble rørt i 18 timer ved romtemperatur. Blandingen ble konsentrert under redusert trykk og residuet løst i vann. Det vandige sjiktet ble vasket med eter, surgjort til pH 4 med 1M HCl og ekstrahert med metylenklorid. Det organiske sjiktet ble vasket med vann, saltvann og tørket. Etter filtrering og konsentrering under redusert trykk ble det urene produktet rensert med flash kromatografi (metanol/ CH_2Cl_2 , 1:20) som ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (1,00 g, 50%).

f) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester

Dietylamin (0,29 g, 3,00 mmol), vann (2 ml) og metylenklorid (2 ml) ble tilsatt til en blanding av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre mono-etyl ester (1,00 g, 2,96 mmol) og 37% vandig løsning av formaldehyd (0,25 g, 3,05 mmol)

ved 0°C. Blandingen ble rørt i 16 timer ved romtemperatur og deretter helt over i isvann og ekstrahert med metylenklorid. Det organiske sjiktet ble vasket med 5% NaHCO₃ og tørket. Filtrering og konsentrering under redusert trykk ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (0,75 g, 83%).

g) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester

2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (0,49 g, 1,60 mmol) og trietylamin (0,17 g, 1,64 mmol) ble tilsatt til tioeddiksyre (3 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt ved romtemperatur i 6 timer. Blandingen ble helt over i isvann og ekstrahert med CH₂Cl₂. Den organiske fasen ble vasket med mettet NaHCO₃ og tørket. Det urene produktet ble renset med flash kromatografi (MeOH/CH₂Cl₂, 2,4:100) som ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester (0,36 g, 61%).

h) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(3-amino-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester

TFA (0,5 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester (100 mg, 0,26 mmol) i metylenklorid (2 ml) under argon. Løsningen ble rørt i 60 minutter og konsentrert under redusert trykk som ga urent 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-amino-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester (104 mg, 100%).

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 1,21 (t, 3H), 2,33 (s, 3H), 2,78-2,97 (m, 3H), 3,05-3,13 (m, 1H), 3,14-3,21 (m, 1H), 4,08-4,15 (m, 2H), 6,99 (d, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,85 (d, 1H).

i) 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester (38 mg, 0,096 mmol) ble løst i konsentrert HCl (2,0 ml) under argon. Løsningen ble rørt ved romtemperatur i 1 time og varmet til reflux i 1 time. Konsentrering under redusert trykk ga tittelforbindelsen (25,7 mg, 100%) som hydrokloridsaltet.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 2,74-2,78 (m, 2H), 2,84-2,94 (m, 3H), 7,02 (d, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,89 (d, 1H).

MS (+) 213 (M+1).

Eksempel 7

3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-2-metyl-propionsyre

5

a) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-2-metyl-malonsyre tert-butyl ester etyl ester

En løsning av tert-butyl etyl metylmalonat (457 mg, 2,26 mmol) i DMF (4 ml) ble
 10 dråpevis tilsatt til en suspensjon av NaH (90 mg, 2,26 mmol, 60% i olje) i DMF (4 ml).
 Reaksjonsblandingen ble rørt i 20 minutter. En løsning av (5-brommetyl-pyridin-2-yl)-
 karbaminsyre tert-butyl ester (500 mg, 1,74 mmol) i DMF (2,5 ml) ble tilsatt og
 reaksjonsblandingen ble rørt i 70 minutter. EtOAc ble tilsatt og blandingen ble vasket
 med vann og saltvann og tørket og konsentrert under redusert trykk. Kromatografi
 15 (heptan/EtOAc, 3:1 → 1:3) ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-2-
 metyl-malonsyre tert-butyl ester etyl ester (437 mg, 61% utbytte).

b) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-2-metyl-malonsyre mono-tert-butyl ester

20

1M NaOH (2 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-
 ylmetyl)-2-metyl-malonsyre tert-butyl ester etyl ester (0,42 g, 1,03 mmol) i THF/EtOH
 (4 ml, 1:1). Reaksjonsblandingen ble rørt ved 50°C i 16 timer. CH₂Cl₂ ble tilsatt og
 blandingen ble vasket med 0,5 M HCl og saltvann og tørket. Konsentrering under
 25 redusert trykk ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-2-metyl-
 malonsyre mono-tert butyl ester (348 mg, 89%).

c) 3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-hydroksymetyl-2-metyl-propionsyre tert-butyl ester

30

Metyl kloroformat (75 µl, 0,92 mmol) ble tilsatt dråpevis til en løsning av 2-(6-tert-
 butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-2-metyl-malonsyre mono-tert-butyl ester
 (348 mg, 0,915 mmol) og Et₃N (123 µl, 0,92 mmol) i THF (6 ml). Reaksjons-
 blandingen ble rørt i 20 minutter, filtrert og tilsatt dråpevis til en suspensjon av NaBH₄
 35 (39 mg, 1,04 mmol) i THF (6 ml) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt 16 timer ved
 romtemperatur. 0,2 M HCl ble tilsatt fulgt av EtOAc. Den organiske fasen ble vasket
 med saltvann og tørket. Konsentrering under redusert trykk fulgt av kromatografi

(toluen/EtOAc, 3:1 → 1:3) ga 3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-hydroksymetyl-2-metyl-propionsyre tert-butyl ester (190 mg, 57%).

d) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-metyl-propionsyre tert-butyl ester

Dietyl azodikarboksylat (160 µl, 1,01 mmol) ble tilsatt dråpevis til en løsning av 3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-hydroksymetyl-2-metyl-propionsyre tert-butyl ester (180 mg, 0,49 mmol) og trifenylfosfin (266 mg, 1,01 mmol) i THF (6 ml) og reaksjonen ble rørt i 5 minutter. Tioleddiksyre (96 µl, 1,34 mmol) ble tilsatt og reaksjonsblandingen ble rørt i 16 timer. Konsentrering under redusert trykk fulgt av kromatografi (toluen/EtOAc, 10:1 → 1:1) ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-metyl-propionsyre tert-butyl ester (137 mg, 65%).

e) 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-2-metyl-propionsyre

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-metyl-propionsyre tert-butyl ester (4 mg, 9,4 µmol) ble oppløst i konsentrert HCl under argon. Løsningen ble varmet til reflux i 1 time. Konsentrering under redusert trykk ga tittel-forbindelsen som hydrokloridsalt (2,5 mg, 100%).

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 1,20 (s, 3H), 2,62 (d, 1H), 2,76-2,83 (m, 2H), 2,95 (d, 1H), 6,94 (d, 1H), 7,64 (d, 1H), 7,80 (dd, 1H).

MS (+) 227 (M+1).

25

Eksempel 8

2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-2-merkaptometyl-smørsyre

a) [5-(5-etyl-2,2-dimetyl-4,6-diokso-[1,3]dioksan-5-ylmetyl)-pyridin-2-yl]-karbaminsyre tert-butyl ester

(5-brommetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (1,0 g, 3,48 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2,2-dimetyl-5-etyl-1,3-dioksan-4,6-dione (600 mg, 3,48 mmol) og trietylamin (0,5 ml, 3,66 mmol) i dimetyl sulfoksid (40 ml) under nitrogen. Reaksjonsblandingen ble rørt over natten og vann (100 ml) ble tilsatt. Filtrering av presipitatet ga [5-(5-etyl-2,2-dimetyl-4,6-diokso-[1,3]dioksan-5-ylmetyl)-pyridin-2-yl]-karbaminsyre tert-butyl ester (1,15 g, 87%).

35

b) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-2-etyl-malonsyre monoetyl ester

- 5 En løsning av natriummetall (140 mg, 6,08 mmol) i etanol (20 ml) ble tilsatt til en løsning av [5-(5-etyl-2,2-dimetyl-4,6-diokso-[1,3]dioksan-5-ylmetyl)-pyridin-2-yl]-karbaminsyre tert-butyl ester (1,15 g, 3,04 mmol) i etanol (10 ml). Reaksjonen ble rørt i 90 minutter og metylenklorid ble deretter tilsatt. Blandingen ble vasket med 0,5M HCl, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-
- 10 pyridin-3-ylmetyl)-2-etyl-malonsyre monoetyl ester (1,05 g, 95%).

c) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-2-hydroksymetyl-smørsyre etyl ester

- 15 Metyl kloroformat (150 µl, 1,95 mmol) ble dråpevis tilsatt til en løsning av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-2-etyl-malonsyre monoetyl ester (700 mg, 1,91 mmol) og Et₃N (275 µl, 1,97 mmol) i THF (15 ml) ved -20°C under nitrogen. Reaksjonsblandingen ble rørt i 50 minutter, filtrert og dråpevis tilsatt til en suspensjon av NaBH₄ (80 mg, 2,1 mmol) i THF (15 ml) ved -20°C. Reaksjonen ble rørt i 16 timer
- 20 ved romtemperatur. 0,2 M HCl ble tilsatt fulgt av metylenklorid. Den organiske fasen ble vasket med saltvann og tørket. Konsentrering under redusert trykk fulgt av kromatografi (toluen/EtOAc, 3:1 → 1:3) ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-2-hydroksymetyl-smørsyre etyl ester (300 mg, 45%).

25 d) 2-acetylsulfanylmetyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester

- Diisopropyl azodikarboksylat (296 µl, 1,53 mmol) ble dråpevis tilsatt til en løsning av trifenyfosfin (402 mg, 1,53 mmol) i THF (4 ml) ved 0°C under argon og reaksjons-
- 30 blandingen ble rørt i 30 minutter. En løsning av tioleddiksyre (109 ml, 1,53 mmol) og 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-2-hydroksymetyl-smørsyre etyl ester (0,27 g, 0,77 mmol) i THF (2 ml) ble dråpevis tilsatt i løpet av 10 minutter. Reaksjonen ble rørt i 60 minutter ved 0°C og deretter i 16 timer ved romtemperatur. Konsentrering under redusert trykk fulgt av kromatografi (heptan/EtOAc, 10:1 → 1:1)
- 35 ga 2-acetylsulfanylmetyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester (193 mg, 61%).

e) 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-2-merkaptometyl-smørsyre

2-acetylsulfanylmetyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester (12,3 mg, 30 µmol) ble løst i konsentrert HCl (2 ml) under argon. Løsningen ble varmet til reflux i 24 timer. Konsentrering under redusert trykk ga tittel-

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 0,91 (t, 3H), 1,71 (m, 2H), 2,68 (m, 2H), 2,92 (m, 2H), 6,96 (d, 1H), 7,65 (bs, 1H), 7,82 (dd, 1H).

MS (-) 239 (M-1).

Eksempel 93-(6-amino-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-2-metyl-propionsyrea) 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-metyl-5-(2,2,5-trimetyl-4,6-diokso-[1,3]dioksan-5-ylmetyl)-pyridin

2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-brommetyl-3-metyl-pyridin (1,6 g, 4,0 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2,2,5-trimetyl-1,3-dioksan-4,6-dion (630 mg, 4,0 mmol) og trietylamin (0,58 ml, 4,2 mmol) i dimetyl sulfoksid (40 ml). Reaksjons-

b) 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-2-metyl-malonsyre monoetyl ester

En løsning av natriummetall (184 mg, 8,0 mmol) i etanol (20 ml) ble tilsatt til en løsning av urent 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-metyl-5-(2,2,5-trimetyl-4,6-diokso-[1,3]dioksan-5-ylmetyl)-pyridin (2,06 g, ~4,0 mmol) i etanol (20 ml) under argon. Reaksjonen ble rørt i 60 minutter og metylenklorid ble deretter tilsatt. Blandingen ble vasket med 0,5 M HCl og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga urent 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-2-metyl-malonsyre monoetyl ester (1,9 g).

c) 3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-hydroksymetyl-2-metyl-propionsyre etyl ester

Metyl kloroformat (338 µl, 4,4 mmol) ble dråpevis tilsatt til en løsning av urent 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-2-metyl-malonsyre monoetyl ester (1,9 g) og Et₃N (641 µl, 4,6 mmol) i THF (30 ml) ved -20°C. Reaksjonsblandingen ble rørt i 50 minutter, filtrert og dråpevis tilsatt til en suspensjon av NaBH₄ (182 mg, 4,8 mmol) i THF (30 ml) ved -20°C. Reaksjonsblandingen ble rørt i 16 timer ved romtemperatur. 0,5 M HCl ble tilsatt fulgt av metylenklorid. Den organiske fasen ble vasket med saltvann og tørket. Konsentrering under redusert trykk fulgt av kromatografi (toluen/EtOAc, 10:1 → 1:3) ga 3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-hydroksymetyl-2-metyl-propionsyre etyl ester (885 mg, 49%).

d) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-metyl-propionsyre etyl ester

Diisopropyl azodikarboksylat (775 µl, 3,91 mmol) ble tilsatt dråpevis til en løsning av trifenylfosfin (1,026 g, 3,91 mmol) i THF (10 ml) ved 0°C og reaksjonsblandingen ble rørt i 30 minutter. En løsning av tioleddiksyre (279 µl, 3,91 mmol) og 3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-hydroksymetyl-2-metyl-propionsyre etyl ester (885 mg, 1,96 mmol) i THF (5 ml) ble tilsatt dråpevis i løpet 10 minutter. Reaksjonsblandingen ble rørt i 60 minutter ved 0°C og deretter i 16 timer ved romtemperatur. Konsentrasjon under redusert trykk fulgt av kromatografi (heptan/EtOAc, 10:1 → 1:3) ga urent 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-metyl-propionsyre etyl ester (1,46 g).

e) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-amino-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-metyl-propionsyre etyl ester

Urent 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-metyl-propionsyre etyl ester (1,46 g) ble løst i TFA (5 ml) og rørt i 60 minutter. Konsentrasjon under redusert trykk fulgt av kromatografi (toluen/EtOAc, 1:1 → 1:10 → 0:1) ga noe urent 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-amino-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-metyl-propionsyre etyl ester (696 mg, 84%).

f) 3-(6-amino-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-2-metyl propionsyre

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-amino-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-metyl-propionsyre etyl ester (17 mg, 40 μ mol) ble løst i konsentrert HCl (2 ml) under argon. Løsningen ble varmet til reflux i 150 minutter. Konsentrering under redusert trykk ga tittelforbindelsen som hydrokloridsaltet (10,7 mg, 96%).

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 1,20 (s, 3H), 2,23 (s, 3H), 2,61 (d, 1H), 2,79 (2d, 2H), 2,94 (d, 1H), 7,55 (m, 1H), 7,69 (m, 1H).

MS (+) 241 (M+1).

Eksempel 103-merkpto-2-[(piperidin-4-karbonyl)-amino]-propionsyre

CH_2Cl_2 (70 ml) ble tilsatt til 4-metoksytrityl klorid harpiks (7 g, $L=0,91$ mmol/g, 6,37 mmol) under argon og harpiksen svellet i 10 minutter og 2-amino-3-merkpto-propionsyre etyl ester HCl-salt (5,9 g, 32 mmol) ble tilsatt. TFA (70 ml) ble deretter tilsatt i små porsjoner i løpet av 10 minutter. Slurrien ble ristet ved romtemperatur i 1 time og konsentrert under redusert trykk. Deretter ble nesten tørr toluen (150 ml) tilsatt og blandingen ble igjen konsentrert under redusert trykk. Denne fremgangsmåten ble gjentatt to ganger. Den nå gule harpiksen ble vasket med DMF (3 x 60 ml), CH_2Cl_2 (2 x 60 ml), TFA: CH_2Cl_2 (1:1, 2 x 60 ml), CH_2Cl_2 (2 x 60 ml), MeOH (2 x 60 ml) og tørket under vakuum over natten.

For å beregne tilsetningen av 2-amino-3-merkpto-propionsyre etyl ester til harpiksen ble 50 mg av produktet behandlet med 10% TFA i CH_2Cl_2 i 1 minutt og denne fremgangsmåten ble gjentatt fire ganger. Blandingene ble konsentrert under redusert trykk som ga 2-amino-3-merkpto-propionsyre etyl ester (9,8 mg), som indikerer en tilsetning på ca. 0,6 mmol/g.

30

En løsning av piperidin-1,4-dikarboksylysyre mono-tert-butyl ester (28 mg, 0,12 mmol) i DMD (1 ml) ble tilsatt til harpiksen (100 mg, $L = 0,6$ mmol/g, 0,06 mmol) i en plastikk sprøyte, fulgt av PyBOP (62 mg, 0,12 mmol) i DMF (0,5 ml) og DIPEA (41 μ l, 0,24 mmol). Reaksjonen ble værende ved romtemperatur i 2 timer med tilfeldig røring og fremgangsmåten ble gjentatt en gang til. Harpiksen ble deretter vasket med DMF (2 x 2 ml), CH_2Cl_2 (2 x 2 ml), MeOH (2 x 2 ml), CH_2Cl_2 (2 x 2 ml) og THF (2 x 2 ml).

35

THF (800 µl) ble tilsatt til sprøyten og harpiksen ble svellet i 10 minutter. Deretter ble vann (250 ml) og 10 M NaOH (50 µl) tilsatt. Reaksjonsblandingen ble stående ved romtemperatur i 16 timer med tilfeldig røring. Harpiksen ble deretter vasket med THF:vann (1:1, 2 x 2 ml), THF (2 x 2 ml), CH₂Cl₂ (2 x 2 ml), MeOH (2 x 2 ml), og
 5 CH₂Cl₂ (2 x 2 ml).

10% TFA i CH₂Cl₂ (1 ml) ble tilsatt til sprøyten og etter 5 minutter ble løsningen samlet opp i et tarert glass. Denne fremgangsmåten ble gjentatt en gang til og de kombinerte organiske fasene ble konsentrert under redusert trykk og ga tittelforbindelsen som TFA
 10 salt (15,3 g, 74%).

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 1,85-2,10 (m, 4H), 2,65-2,72 (m, 1H), 2,85-2,92 (m, 1H), 2,95-3,08 (m, 3H), 3,40-3,47 (m, 2H), 4,55-4,60 (m, 1H).

15 **Eksempel 11**

2-[(azetidin-2-karbonyl)-amino]-3-merkpto-propionsyre

Tittelforbindelsen ble fremstilt fra azetidin-1,2-dikarboksylsyre 1-tert-butyl ester ved fremgangsmåten beskrevet i eksempel 14. Utbytte: 13,8 mg (72%).

20 ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 2,54-2,63 (m, 1H), 2,82-3,05 (m, 3H), 3,93-4,15 (m, 2H), 4,66-4,71 (m, 1H), 5,05-5,10 (m, 1H).

Eksempel 12

25 **3-merkpto-2-[(piperidin-3-karbonyl)-amino]-propionsyre**

Tittelforbindelsen ble fremstilt fra piperidin-1,3-dikarboksylsyre 1-tert-butyl ester ved fremgangsmåten beskrevet i eksempel 14. Utbytte: 15,1 mg (73%).

30 ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 1,73-2,10 (m, 4H), 2,84-2,92 (m, 2H), 2,95-3,14 (m, 2H), 3,15-3,29 (m, 3H), 4,56-4,62 (m, 1H).

Eksempel 13

2-[(azetidin-3-karbonyl)-amino]-3-merkpto-propionsyre

35 Tittelforbindelsen ble fremstilt fra azetidin-1,3-dikarboksylsyre mono-tert-butyl ester ved fremgangsmåten beskrevet i eksempel 14. Utbytte: 13,5 mg (71%).

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 2,86-3,02 (m, 2H), 3,72-3,80 (m, 1H), 4,20-4,24 (d, 4H), 4,62-4,67 (m, 1H).

5 **Eksempel 14**

3-(6-amino-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre

a) **5-brom-2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-metyl-pyridin**

10 2-amino-5-brom-3-metylpyridin (15,0 g, 80,2 mmol) i tert-butanol ble behandlet med di-tert-butyl dikarbonat (43,6 g, 200 mmol) og DMAP (0,60 g, 4,91 mmol). Reaksjonsblandingen ble værende ved omgivelsestemperatur over natten og ble deretter konsentrert under redusert trykk. Heksan ble tilsatt og produktet ble presipitert som et fast stoff. Filtrering ga 5-brom-2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-metyl-
15 pyridin (22,0 g, 71%).

b) **2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-(tert-butyl-dimetyl-silanylmetyl)-3-metylpyridin**

20 En løsning av 5-brom-2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-metyl-pyridin (26,0 g, 67,1 mmol), tert-butyl-dimetyl-tributylstannanylmetyloksy-silan (47,6 g, 109 mmol) og bis(trifenylfosfin)palladium(II) diklorid (0,90 g, 1,42 mmol) i 1,2-diklorethan (80 ml) og rørt ved 90°C i to dager. Blandingen ble avkjølt til 0°C og dietyl eter (200 ml) ble tilsatt fulgt av mettet vandig kalium fluorid (40 ml). Blandingen ble rørt kraftig i 30 minutter
25 og filtrert. Den organiske fasen ble vasket med vann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (heksan/EtOAc, 100:0 → 95:5) ga 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-(tert-butyl-dimetyl-silanyloksymetyl)-3-metylpyridin (18,0 g, 59%).

30 c) **2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-hydroksymetyl-3-metylpyridin**

Tetrabutylammonium fluorid (25,1 g, 79,6 mmol) ble tilsatt til en løsning 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-(tert-butyl-dimetyl-silanyloksymetyl)-3-metylpyridin (18,0 g, 39,8 mmol) i THF (150 ml). Reaksjonsblandingen ble rørt over
35 natten ved romtemperatur. Konsentrasjon under redusert trykk fulgt av flash kromatografi (Heksan/EtOAc, 50:50) ga 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-hydroksymetyl-3-metylpyridin (8,0 g, 59%).

d) 5-brommetyl-2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-metylpyridin

Trifenylfosfin (7,43 g, 28,3 mmol) og CBr₄ (9,49 g, 28,6 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-hydroksymetyl-3-metylpyridin (8,00 g, 23,6 mmol) i diklormetan (220 ml) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt i 3 timer og deretter konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (heksan/EtOAc, 80:20) ga 5-brommetyl-2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-metylpyridin (8,0 g, 77%).

e) 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester

Til en suspensjon av NaH (0,24 g, 6,0 mmol, 60%) i DMF (5 ml) ble det tilsatt dietyl malonat (0,91 ml, 6,0 mmol) og blandingen ble rørt i 15 minutter. En løsning av 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-brommetyl-3-metyl-pyridin (2,0 g, 5,0 mmol) i DMF (5 ml) ble tilsatt og den resulterende løsningen rørt i 120 minutter ved 60°C. Etyl acetat ble tilsatt og blandingen ble vasket med vann og saltvann og tørket. Etter fordampning av løsemidlet med det urene produktet renses med flash kromatografi (CH₃OH/CH₂Cl₂, 1:100 → 1:20) som ga 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (1,2 g, 50%).

f) 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester

En løsning av KOH (154 g, 2,75 mmol) i etanol (2 ml) ble tilsatt til en løsning 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (1,2 g, 2,50 mmol) i etanol (10 ml) og metylen klorid (4 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt i 18 timer ved romtemperatur. Blandingen ble konsentrert under redusert trykk og residuet løst i vann. Etyl acetat ble tilsatt og det organiske sjikt ble vasket med 0,5 M HCl, vann, saltvann og tørket. Etter filtrering og konsentrering under redusert trykk ga urent 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (1,0 g, 88%).

g) 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester

Dietylamin (0,26 g, 2,67 mmol) ble tilsatt til en blanding av 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (1,0 g, 2,2

mmol) og 37% vandig løsning av formaldehyd (0,24 g, 3,00 mmol) i metylen klorid (2 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt i 16 timer ved romtemperatur og etyl acetat ble tilsatt. Det organiske sjikt ble vasket med vann og 5% NaHCO₃ og tørket. Konsentrering under redusert trykk fulgt av flash kromatografi (toluen/etyl acetat, 3:1 → 1:1) ga 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-ylmetyl)akrylsyre etyl ester (0,68 g, 73%).

h) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-yl)propionsyre etyl ester

Trietylamin (0,234 ml, 1,68 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (0,68 g, 1,61 mmol) i tioaddiksyre (3 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt ved romtemperatur i 16 timer. Etyl acetat ble tilsatt og den organiske fasen ble vasket med vann og mettet NaHCO₃ og saltvann og tørket. Det urene produktet ble rensset med flash kromatografi (toluen/etyl acetat, 3:1 → 1:2) som ga ren 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester (489 mg, 61%) og noe uren 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-yl)propionsyre etyl ester (0,34 g, 43%).

i) 3-(6-amino-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester (17 mg, 0,034 mmol) ble løst i konsentrert HCl (3,0 ml). Løsningen ble varmet til reflux i 1 time. Konsentrering under redusert trykk ga tittel-forbindelsen (8,9 mg, 100%) som et hydroklorid salt.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 2,26 (s, 3H), 2,72-2,75 (m, 2H), 2,83-2,91 (m, 3H), 7,60 (s, 1H), 7,77 (s, 1H).

MS (+) 227 (M+1).

Eksempel 15

3-(6-amino-4-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre

a) 2-amino-5-brom-4-metylpyridin

2-amino-4-metylpyridin (110 g, 1,02 mol) i hydrobromsyre (1L, 48%) ble rørt ved 70°C og en løsning av hydrogen peroksid (300 ml, 15%) ble tilsatt dråpevis i løpet en time ved en slik hastighet at temperaturen til reaksjonsblandingen holdt seg mellom 70 - 80°C. Blandingen ble rørt i 90 minutter ved 70°C og helt over i knust is. pH ble justert
 5 til 4-5 med natrium karbonat og det presipiterte faste stoffet (som inneholdt for det meste dibromerte produkter) ble filtrert fra og kastet. pH ble deretter hevet til 9 og det presipiterte produktet samlet opp ved filtrering. Rekrystallisering fra toluen ga 2-amino-5-brom-4-metylpyridin (76,3 g, 40%).

10 b) 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-brom-4-metylpyridin

2-amino-5-brom-4-metylpyridin (5,70 g, 30,5 mmol) i kloroform ble behandlet med di-tert-butyl dikarbonat (20,0 g, 91,60 mmol) og DMAP (0,60 g, 4,91 mmol). Reaksjonsblandingen ble værende ved omgivelsestemperatur over natten og ble deretter
 15 konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (heksan/EtOAc, 95:5) ga 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-brom-4-metylpyridin (8,02 g, 68%).

c) 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-(tert-butyl-dimetyl-silanyloksymetyl)-4-metylpyridin

20 En løsning av 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-brom-4-metylpyridin (15,0 g, 38,70 mmol), tert-butyl-dimetyl-tributylstannalylmetoksy-silan (25,4 g, 58,3 mmol), og bis(trifenylfosfin)palladium(II) diklorid (0,90 g, 1,42 mmol) i 1,2-diklorethan (50 ml) ble rørt ved 90°C i to dager. Blandingen ble avkjølt til 0°C og dietyl eter (200 ml) ble tilsatt
 25 fulgt av mettet vandig kalium fluorid (40 ml). Blandingen ble rørt kraftig i 30 minutter og filtrert. Den organiske fasen ble vasket med vann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (heksan/EtOAc, 95:5) ga 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-(tert-butyl-dimetyl-silanyloksymetyl)-4-metylpyridin (10,0 g, 57%).

30 d) 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-hydroksymetyl-4-metylpyridin

Tetrabutylammonium fluorid (13,9 g, 44,1 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-(tert-butyl-dimetyl-silanyloksymetyl)-4-metylpyridin (10,0 g, 24,3 mmol) i THF (100 ml). Reaksjonsblandingen ble rørt i 3
 35 timer ved romtemperatur. Konsentrasjon under redusert trykk fulgt av flash kromatografi (heksan/EtOAc, 50:50) ga 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-hydroksymetyl-4-metylpyridin (5,0 g, 67%).

e) 5-brommetyl-2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-4-metylpyridin

Trifenylfosfin (4,69 g, 17,9 mmol) og CBr₄ (4,89 g, 14,8 mmol) ble tilsatt til en løsning
 5 av 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-hydroksymetyl-4-metylpyridin (5,00 g,
 22,0 mmol) i diklormetan (130 ml) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt i 3 timer og
 deretter fortynnet med diklormetan. Den organiske fasen ble vasket med vann, tørket
 og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (heksan/EtOAc, 80:20) ga 5-
 brommetyl-2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-4-metylpyridin (5,35 g, 90%).

10

f) 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-4-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre
 dietyl ester

Til en suspensjon av NaH (0,24 g, 6,0 mmol, 60%) i DMF (5 ml) ble det tilsatt dietyl
 15 malonat (0,91 ml, 6,0 mmol) og blandingen ble rørt i 15 minutter. En løsning av 2-
 [N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-brommetyl-4-metyl-pyridin (2,0 g, 5,0 mmol)
 DMF (5 ml) ble tilsatt og den resulterende løsningen rørt i 120 minutter ved 60°C. Etyl
 acetat ble tilsatt og blandingen ble vasket med vann og saltvann og tørket. Etter
 fordampning av løsemidlet ble det urene produktet rensset med flash kromatografi
 20 (CH₃OH/CH₂Cl₂, 1:100 → 1:20) som ga en ren fraksjon 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksy-
 karbonyl)amino]-4-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (1,15 g, 48%) og en
 uren fraksjon 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-4-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-
 malonsyre dietyl ester (1,1 g).

25 g) 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-4-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre
 monoetyl ester

En løsning av KOH (141 mg, 2,52 mmol) i etanol (2 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-
 (6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-4-metyl-pyridin-3-yl-metyl)-malonsyre dietyl
 30 ester (1,1 g, 2,29 mmol) i etanol (10 ml) og metylenklorid (4 ml) ved 0°C. Blanding
 ble rørt i 18 timer ved romtemperatur. Blanding ble konsentrert under redusert trykk
 og residuet løst i vann. Etyl acetat ble tilsatt og det organiske sjikt ble vasket med 0,5
 M HCl, vann og saltvann og tørket. Etter filtrering og konsentrering under redusert
 trykk ga urent 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)-amino]-4-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-
 35 malonsyre monoetyl ester (1,0 g, 97%).

h) 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-4-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester

Dietylamin (0,26 g, 2,67 mmol) ble tilsatt til en blanding av 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-4-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (1,0 g, 2,2 mmol) og 37% vandig løsning av formaldehyd (0,24 g, 3,00 mmol) i metylen klorid (2 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt i 16 timer ved romtemperatur og etyl acetat ble tilsatt. Det organiske sjikt ble vasket med vann og 5% NaHCO₃ og tørket. Konsentrering under redusert trykk fulgt av flash kromatografi (toluen/etyl acetat, 3:1 → 1:1) ga 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-4-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (0,81 g, 88%).

i) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-4-metyl-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester

Trietylamin (0,279 ml, 2,0 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-4-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (0,8 g, 1,9 mmol) i tioeddiksyre (3 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt ved romtemperatur i 16 timer. Etyl acetat ble tilsatt og den organiske fasen ble vasket med vann, mettet NaHCO₃ og saltvann og tørket. Det urene produktet ble rensset ved flash kromatografi (toluen/etyl acetat, 3:1 → 1:2) som ga ren 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-metyl-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester (200 mg, 21%) og noe uren 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarobnyl)amino]-4-metyl-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester (0,68 g).

j) 3-(6-amino-4-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-4-metyl-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester (36 mg, 0,072 mmol) ble løst i konsentrert HCl (3,0 ml). Løsningen ble varmet til reflux i 1 time. Konsentrering under redusert trykk ga tittel forbindelsen (18,7 mg, 98%) som hydroklorid salt.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 2,42 (s, 3H), 2,72-2,95 (m, 5H), 6,81 (s, 1H), 7,58 (s, 1H).

MS (+) 227 (M+1).

Eksempel 16**2-merkaptometyl-3-piperidin-4-yl-smørsyre****a) 4-formyl-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester**

5

Periodinan (26,9 g, 63,5 mmol) ble tilsatt til en løsning av 1-tert-butoksykarbonyl-piperidin-4-metanol (10,5 g, 48,8 mmol) i metylen klorid (200 ml) og blandingen ble rørt i 90 minutter. Dietyl eter ble tilsatt og presipitatet ble fjernet ved ekstraksjon med 10% Na₂S₂O₃/mettet NaHCO₃ (1:1, 300 ml). Det organiske sjiktet ble vasket med 0,5 M NaOH og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (heksan/EtOAc, 8:2) ga 4-formyl-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (8,5 g, 81%).

10

b) 2-(1-tert-butoksykarbonyl-piperidin-4-ylmetylen)-malonsyre dietyl ester

15

Til en løsning av dietyl malonat (710 µl, 4,7 mmol) og 4-formyl-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (1,0 g, 4,7 mmol) i metylenklorid (5 ml) ble det tilsatt piperidin (46 µl, 0,47 mmol) og eddiksyre (27 µl, 0,47 mmol). Reaksjonsblandingen ble rørt i 72 timer ved romtemperatur og deretter i 16 timer ved 45°C. EtOAc ble tilsatt og blandingen ble vasket med vann og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Det urene produktet ble rensset ved flash kromatografi (heptan/EtOAc, 3:1 → 1:3) som ga 2-(1-tert-butoksykarbonyl-piperidin-4-yl-metylen)-malonsyre dietyl ester (0,69 g, 40%).

20

c) 2-[1-(1-tert-butoksykarbonyl-piperidin-4-yl)-etyl]-malonsyre dietyl ester

25

MeLi (5,34 ml, 8,54 mmol, 1,6 M i dietyl eter) ble tilsatt dråpevis til en slurry av CuI (0,74 g, 3,88 mmol) i THF (5 ml) ved -78°C under argon og blandingen ble rørt i 30 minutter. En løsning av 2-(1-tert-butoksykarbonyl-piperidin-4-ylmetylen)-malonsyre dietyl ester (0,69 g, 1,94 mmol) i THF (5 ml) ble tilsatt dråpevis og reaksjonsblandingen ble rørt i 120 minutter ved -78°C og deretter varmet til romtemperatur i løpet av 60 minutter. Konsentrert vandig NH₄OH ble tilsatt og blandingen ble deretter ekstrahert med EtOAc, vasket med konsentrert vandig NH₄OH og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Det urene produktet ble rensset med flash kromatografi (heptan/EtOAc, 3:1 → 1:6) som ga 2-[1-tert-butoksykarbonyl-piperidin-4-yl)-etyl]-malon syre dietyl ester (0,39 g, 54%).

30

35

d) 2-[1-(1-tert-butoksykarbonyl-piperidin-4-yl)-malonsyre monoetyl ester

En løsning av KOH (84 mg, 1,16 mmol) i EtOH (2 ml) ble tilsatt dråpevis til en løsning av 2-[1-(1-tert-butoksykarbonyl-piperidin-4-yl)-malonsyre dietyl ester (0,39 g, 1,01 mmol) i metylenklorid (4 ml) og EtOH (10 ml) ved 0°C. Den resulterende blandingen ble rørt ved romtemperatur over natten. EtOAc ble tilsatt og blandingen ble vasket med 0,5 M HCl og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 416 mg av uren 2-[1-(1-tert-butoksykarbonyl-piperidin-4-yl)-etyl]-malonsyre monoetyl ester.

e) 4-(2-etoksykarbonyl-1-metyl-allyl)-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester

Formaldehyd (132 mg, 1,65 mmol, 37% i vann) ble tilsatt til en løsning av uren 2-[1-(1-tert-butoksykarbonyl-piperidin-4-yl)-etyl]-malonsyre monoetyl ester (416 mg) i metylenklorid (2 ml) ved 0°C. Dietylamin (153 µl, 1,47 mmol) ble tilsatt dråpevis og blandingen ble rørt ved romtemperatur over natten. EtOAc ble tilsatt og blandingen ble vasket med vann og mettet NaHCO₃, tørket og konsentrert under redusert trykk. Det urene produktet ble renset med flash kromatografi (toluen/EtOAc, 3:1) og ga 4-(2-etoksykarbonyl-1-metyl-allyl)-piperidin-1-karboksytsyre tert butyl ester (0,18 g, 49% i løpet av to trinn.

20

f) 4-(3-acetylsulfanyl-2-etoksykarbonyl-1-metyl-propyl)-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester

TEA (86 µl, 0,617 mmol) ble tilsatt til en løsning av 4-(2-etoksykarbonyl-1-metyl-allyl)-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (0,18 g, 0,59 mmol) i tioeddiksyre (2 ml) ved 0°C. Etter røring i 6 timer ble mer tioeddiksyre (2 ml) tilsatt og blandingen ble rørt ved 45°C over natten. EtOAc ble tilsatt og blandingen ble vasket med vann og mettet NaHCO₃ og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Det urene produktet ble renset med flash kromatografi (toluen/EtOAc, 5:1 → 1:1) til et noe urent 4-(3-acetylsulfanyl-2-etoksykarbonyl-1-metyl-propyl)-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (0,17 g, 75%).

30

g) 2-acetylsulfanylmetyl-3-piperidin-4-yl-smørsyre etyl ester

TFA (2 ml) ble tilsatt til en løsning av 4-(3-acetylsulfanyl-2-etoksykarbonyl-1-metyl-propyl)-piperidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (0,17 g, 0,439 mmol) i metylen klorid (10 ml). Reaksjonsblanding ble rørt i 90 minutter og konsentrert under redusert

35

trykk. Det urene produktet ble renset ved anvendelse av HPLC (10 → 50% acetonitril i vann, 0,1% TFA) som ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-piperidin-4-yl-smørsyre etyl ester (101 mg, 54%) som TFA saltet.

5 h) 2-merkaptometyl-3-piperidin-4-yl-smørsyre

Konsentrert saltsyre (4 ml) ble tilsatt til 2-acetylsulfanylmetyl-3-piperidin-4-yl-smørsyre etyl ester TFA salt (0,101 mg, 0,253 mmol) under argon. Reaksjonsblanding ble varmet til reflux i 5 timer og deretter konsentrert under redusert trykk
10 som ga en diastereomer blanding av tittelforbindelsen (73,7 mg) som hydrokloridsaltet.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD) for hoveddiastereomeren: δ 1,10 (d, 3H), 1,36-1,58 (m, 2H), 1,71-1,78 (m, 2H), 1,93-1,99 (m, 1H), 2,05-2,11 (m, 1H), 2,60-2,66 (m, 2H), 2,80-2,86 (m, 1H), 2,94-3,02 (m, 2H), 3,38-3,45 (m, 2H).

15 MS (+) 218 (M+1).

Eksempel 17

3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-smørsyre

20 a) (5-formyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester

(5-hydroksymetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (7,00 g, 31,2 mmol) ble oppløst i tørr DMSO (50 ml) og reaksjonskolben ble nedsenket i et vannbad ved 15°C. TEA (13,1 ml, 94,0 mmol) ble tilsatt, fulgt av svovel trioksid pyridin kompleks (15,0 g,
25 94,0 mmol) i porsjoner. Reaksjonsblanding ble rørt i ytterligere 45 minutter og helt over i knust is. Produktet ble ekstrahert med dietyl eter og de kombinerte organiske ekstraktene ble vasket med saltvann og tørket og konsentrert under redusert trykk. Rekrystallisering fra heksan/CH₂Cl₂ ga (5-formyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (5,40 g, 78%) som hvite krystaller.

30

b) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetylen)-malonsyre dietyl ester

Til en løsning av dietyl malonat (710 µl, 4,7 mmol) og (5-formyl-pyridin-2-yl)-karbamin syre tert-butyl ester (1,04 g, 4,7 mmol) i metylen klorid/DMF (1:1, 5 ml) ble
35 det tilsatt piperidin (46 µl, 0,47 mmol) og eddiksyre (27 µl, 0,47 mmol). Reaksjonsblanding ble rørt i 72 timer ved romtemperatur og deretter i 16 timer ved 45°C.

Heptan ble tilsatt sakte som ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetylen)-malonsyre dietyl ester (0,69 g, 40%) som grå krystaller.

c) 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-etyl]-malonsyre dietyl ester

5 MeLi (6,5 ml, 10,4 mmol, 1,6 M i dietyl eter) ble tilsatt dråpevis til en slurry av CuI (0,9 g, 4,73 mmol) i THF (28 ml) ved -78°C under argon. Reaksjonsblandingen ble rørt i 30 minutter. En løsning av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetylen)-malon syre dietyl eter (0,84 g, 2,3 mmol) i THF (7 ml) ble tilsatt dråpevis og reaksjons-
10 blandingen ble rørt i 180 minutter ved -78°C. Mettet vandig NH₄OH ble tilsatt dråpevis og blandingen ble ekstrahert med EtOAc. Den organiske fasen ble vasket med mettet vandig NH₄OH og NaCl, tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (toluen/EtOAc, 3:1 → 1:6) ga 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-etyl]-malonsyre dietyl ester (0,723 g, 82,4%) som et hvitt fast stoff.

15

d) 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-etyl]-malonsyre monoetyl ester

En løsning av KOH (113,6 mg, 2,04 mmol) i EtOH (2 ml) ble tilsatt dråpevis til en
løsning av 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-etyl]-malonsyre dietyl ester
20 (0,7 g, 1,84 mmol) i metylen klorid (4 ml) og EtOH (10 ml) ved 0°C under argon og reaksjonsblandingen ble rørt over natten. 1M KOH (100 ml) ble tilsatt og blandingen ble vasket med metylen klorid. Den vandige fasen ble surgjort til pH 2 ved anvendelse av 2M HCl og ekstrahert med EtOAc. Den organiske fasen ble tørket og konsentrert under redusert trykk som ga urent 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-
25 etyl]-malonsyre monoetyl ester (423 mg, 6%).

e) 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-akrylsyre etyl ester

Dietylamin (0,153 ml, 1,473 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-malonsyre monoetyl ester (423 mg, 1,2 mmol) og
30 formaldehyd (132 mg, 1,626 mmol, 36% i vann) i metylen klorid (2 ml) ved 0°C under argon. Blandingen ble rørt ved romtemperatur over natten. EtOAc ble tilsatt og løsningen ble vasket med vann, NaHCO₃ og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (toluen/EtOAc, 3:1) ga 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-akrylsyre etyl ester (158 mg, 41%).
35

f) 2-actylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-smørsyre etyl ester

TEA (0,076 ml, 0,542 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-[1-(6-tert-butoksykarbonyl-
 5 amino-pyridin-3-yl)-etyl]-akrylsyre etyl ester (158 mg, 0,493 mmol) i tioeddiksyre (2 ml) ved 0°C under argon. Blandingen ble rørt ved 45°C over natten. EtOAc ble tilsatt og løsningen ble vasket med NaHCO₃ og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (toluen/EtOAc, 5:1 → 1:1) ga noe uren 2-actylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-smørsyre etyl ester (178 mg, 91%).

g) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-amino-pyridin-3-yl)-smørsyre etyl ester

TFA (2 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonyl-
 amino-pyridin-3-yl)-smørsyre etyl ester (178 mg, 0,449 mmol) metylen klorid (2 ml).

15 Blandingen ble rørt i 60 minutter og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (toluen/EtOAc, 1:6) ga uren 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-amino-pyridin-3-yl)-smørsyre etyl ester (176 mg, 95%). Ytterligere rensing med HPLC (10 → 70% acetonitril i vann, 0,1% TFA) ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-amino-pyridin-3-yl)-smørsyre etyl ester (104 mg, 56%) som TFA saltet.

h) 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-smørsyre

Konsentrert saltsyre (4 ml) ble tilsatt til 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-amino-pyridin-3-yl)-
 smørsyre etyl ester (104 mg, 0,253 mmol) under argon. Reaksjonsblandingen ble

25 varmet til reflux i 5 timer og konsentrert under redusert trykk som ga en diastereomer blanding av tittelforbindelsen (61 mg, 92%) som hydrokloridsaltet.

¹H NMR (500 MHz, D₂O) for hoveddiastereomeren: δ 1.26 (d, 3H), 2.49-2.53 (m, 2H), 2.64-2.77 (m, 1H), 2.95-3.02 (m, 1H), 7.02 (d, 1H), 7.69 (d, 1H), 7.88 (m, 1H).

30 MS (+) 227 (M+1).

Eksempel 18

3-(6-amino-2-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre

a) (5-brom-6-metyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester

5-brom-6-metyl-pyridin-2-yl (25,0 g, 133,7 mmol) i THF/tert-butanol (1:10, 550 ml) ble behandlet med di-tert-butyl dikarbonat (39,3 g, 180,0 mmol) og DMAP (2,40 g, 19,6 mmol). Reaksjonsblandingen ble rørt i 4 timer ved 40°C og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (metylen klorid) ga (5-brom-6-metyl-pyridin-2-yl)-

5 karbaminsyre tert-butyl ester (17,0 g, 44%).

b) [5-(tert-butyl-dimetyl-silanyloksymetyl)-6-metyl-pyridin-2-yl]-karbamin syre tert-butyl ester

10 En løsning av (5-brom-6-metyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (27,5 g, 95,8 mmol), tert-butyl-dimetyl-tribuylstannanylmetyloksy-silan (43,5 g, 100,2 mmol) og bis(trifenylfosfin)palladium(II)diklorid (1,00 g, 1,40 mmol) i 1,2-dikloretan (350 ml) ble rørt ved reflux i 48 timer. Ytterligere bis(trifenylfosfin)palladium(II) diklorid (1,00 g, 1,40 mmol) ble tilsatt hver 12. time. Blandingen ble avkjølt til 0°C og dietyl eter

15 (300 ml) ble tilsatt fulgt av mettet vandig kalium fluorid (100 ml). Blandingen ble rørt kraftig i 60 minutter og filtrert. Den organiske fasen ble vasket med vann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (MeOH/CH₂Cl₂, 1:99) ga [5-(tert-butyl-dimetyl-silanyloksymetyl)-6-metyl-pyridin-2-yl]-karbamin syre tert-butyl ester (15 g, 47%).

20

b) (5-hydroksymetyl-6-metyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester

Tetrabutylammonium fluorid (19,6 g, 62,4 mmol) ble tilsatt til en løsning av [5-(tert-butyl-dimetyl-silanyloksymetyl)-6-metyl-pyridin-2-yl]-karbaminsyre tert-butyl ester

25 (10,5 g, 31,23 mmol) i THF (100 ml) og rørt ved romtemperatur natten over. Vann ble tilsatt og produktet ekstrahert med kloroform. Den organiske fasen ble tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (MeOH/CH₂Cl₂, 2,5:77,5) ga (5-hydroksymetyl-6-metyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (6,0 g, 81%).

30 c) 5-brommetyl-2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-pyrimidin

Trifenylfosfin (9,83 g, 37,5 mmol) og CBr₄ (17,7 g, 53,5 mmol) ble tilsatt til en løsning av (5-hydroksy-6-metyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (8,50 g, 35,7 mmol) i diklormetan (30 ml) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt i 3 timer ved

35 romtemperatur og ble deretter fortynnet med diklormetan. Den organiske fasen ble vasket med vann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi

(CH₂Cl₂) ga 5-brommetyl-2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-pyrimidin (4,05 g, 38%).

d) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-2-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester

5

En løsning av dietyl malonat (1,21 ml, 7,97 mmol) i DMF (2 ml) ble tilsatt dråpevis til en suspensjon av NaH (348 mg, 7,97 mmol, 55% i mineralolje) i DMF (5 ml) ved 0°C under argon. Reaksjonsblandingen ble rørt i 45 minutter og en løsning av (5-brommetyl-6-metyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (2,0 g, 6,64 mmol) i DMF (5 ml) ble tilsatt dråpevis. Blandingen ble rørt over natten (0°C → 20°C). EtOAc ble tilsatt og løsningen ble vasket med vann og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (heptan/EtOAc, 4:1) ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-2-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (1,87 g, 74%).

15

f) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-2-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester

En løsning av KOH (300 mg, 5,35 mmol) i EtOH (4 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-2-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (1,85 g, 4,86 mmol) i EtOH/metylen klorid (2:1, 21 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt i 40 minutter ved romtemperatur og EtOAc ble tilsatt. Blandingen ble vasket med 0,5 M HCl og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga uren 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-2-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (1,45 g).

25

f) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-2-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester

Dietylamin (359 mg, 4,90 mmol) ble tilsatt dråpevis til en løsning av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-2-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (1,44 g, 4,09 mmol) og formaldehyd (464 mg, 5,72 mmol, 37% i vann) i metylen klorid (35 ml) ved 0°C under argon. Blandingen ble rørt ved romtemperatur over natten. Metylen klorid ble tilsatt og løsningen ble vasket med Na₂CO₃ og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-2-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (1,03 g, 79%).

35

h) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-2-metyl-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester

TEA (0,556 ml, 3,99 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-
 5 2-metyl-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (1,23 g, 3,84 mmol) i tioeddiksyre (10 ml) ved 0°C under argon. Blandingen ble rørt ved romtemperatur i 64 timer. EtOAc ble tilsatt og løsningen ble vasket med Na₂CO₃ og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (toluen/EtOAc, 5:1 → 1:1) ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-2-metyl-pyridin-3-yl)-propionsyre
 10 etyl ester (1,33 g, 87%).

i) 3-(6-amino-2-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre

Konsentrert saltsyre (2 ml) ble tilsatt til 2-acetylsulfonylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-2-metyl-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester (77 mg, 0,19 mmol) under
 15 argon. Reaksjonsblandingen ble varmet til reflux i 110 minutter og ble deretter konsentrert under redusert trykk som ga tittelforbindelsen (39 mg, 76%) som hydrokloridsaltet.

20 ¹H NMR (500 MHz, D₂O): δ 2,49 (s, 3H), 2,73-2,92 (m, 5H), 6,81 (d, 1H), 7,77 (d, 1H). MS (+) 227 (M+1).

Eksempel 19

2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-amino-pyridimidin-5-yl)-propionsyre etyl ester

25

a) 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-brompyrimidin

2-amino-5-brompyrimidin (9,00 g, 51,7 mmol) i THF/tert-butanol (1:1, 100 ml) ble behandlet med di-tert-butyl dikarbonat (34,0 g, 156,0 mmol) og DMAP (3,00 g, 24,5
 30 mmol). Reaksjonsblandingen ble stående ved romtemperatur over natten og konsentrert under redusert trykk. Residuet ble fordelt mellom diklormetan og vann og pH ble justert til 4 med 1M HCl. Løsningen ble ekstrahert med diklormetan, tørket og konsentrert under redusert trykk. Det urene produktet ble suspendert i heksan og filtrert som ga 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-brompyrimidin (15,0 g, 77%).

35

b) 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-(tert-butyl-dimetyl-silanyloksymetyl)-pyrimidin

En løsning av 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-brompyrimidin (16,0 g, 45,0 mmol), tert-butyl-dimetyl-tributylstannanylmetyloxy-silan (20,5 g, 47,1 mmol) og bis(trifenylfosfin)palladium(II) diklorid (1,00 g, 1,40 mmol) i 1,2-dikloretan (50 ml) ble rørt ved reflux natten over. Ytterligere bis(trifenylfosfin)palladium(II) diklorid (1,00 g, 1,40 mmol) ble tilsatt og løsningen ble refluxert i 8 timer. Blandingen ble avkjølt til 0°C og dietyl eter (200 ml) ble tilsatt fulgt av mettet vandig kalium fluorid (50 ml). Blandingen ble rørt kraftig i 60 minutter og filtrert. Den organiske fasen ble vasket med vann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (MeOH/CH₂Cl₂, 1:99) ga 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-(tert-butyl-dimetyl-silanyloksymetyl)-pyrimidin (10,2 g, 55%).

15 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-hydroksymetyl-pyrimidin

Tetrabutylammonium fluorid (15,3 g, 48,6 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-(tert-butyl-dimetyl-silanyloksymetyl)-pyrimidin (10,0 g, 24,3 mmol) i THF (100 ml) og rørt ved romtemperatur over natten. Vann ble tilsatt og produktet ekstrahert med kloroform. Den organiske fasen ble tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (MeOH/CH₂Cl₂, 2,5:77,5) ga 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-hydroksymetyl-pyrimidin (4,20 g, 53%).

c) 5-brommetyl-2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-pyrimidin

25 Trifenylfosfin (2,71 g, 10,73 mmol) og CBr₄ (4,89 g, 14,8 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-5-hydroksymetyl-pyrimidin (3,20 g, 9,83 mmol) i diklormetan (30 ml) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt i 1 time og deretter fortynnet med diklormetan. Den organiske fasen ble vasket med vann og tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (CH₂Cl₂) ga 5-brommetyl-2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-pyrimidin (2,55 g, 67%).

d) 2-(2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-pyrimidin-5-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester

35 En løsning av dietyl malonat (0,704 ml, 4,64 mmol) i DMF (2 ml) ble tilsatt dråpevis til en suspensjon av NaH (200 mg, 4,64 mmol, 55% i mineralolje) i DMF (4 ml) ved 0°C

under argon. Reaksjonsblandingen ble rørt i 30 minutter og en løsning av 5-brommetyl-2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-pyrimidin (1,5 g, 3,86 mmol) i DMF (4 ml) ble tilsatt dråpevis. Blandingen ble rørt ved romtemperatur i 3 timer. EtOAc ble tilsatt og blandingen ble vasket med vann og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk.

- 5 Flash kromatografi (heptan/EtOAc, 3:1) ga 2-(2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-pyrimidin-5-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (0,87 g, 40%).

e) 2-(2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]pyrimidin-5-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester

10

En løsning av KOH (106 mg, 1,88 mmol) i EtOH (2 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-(2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-pyrimidin-5-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (0,80 g, 1,71 mmol) i EtOH/metylen klorid (2:1, 12 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt i 16 timer ved romtemperatur og EtOAc tilsatt. Blandingen ble vasket med 0,5 M HCl og

15

saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 2-(2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]pyrimidin-5-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (0,67 g, 89%).

f) 2-(2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-pyrimidin-5-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester

20

Dietylamin (0,124 ml, 1,69 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-(2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-pyrimidin-5-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (0,62 g, 1,41 mmol) og formaldehyd (160 mg, 2,0 mmol, 37% i vann) i metylen klorid (15 ml) ved 0°C under argon. Blandingen ble rørt ved romtemperatur over natten. EtOAc til tilsatt

25

og løsningen ble vasket med vann, NaHCO₃ og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga uren 2-(2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl) amino]-pyrimidin-5-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (0,54 g, 94%).

g) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-pyrimidin-5-yl)-propionsyre etyl ester

30

TEA (0,189 ml, 1,35 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-(2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]pyrimidin-5-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (0,53 g, 1,30 mmol) i tioeddiksyre (13 ml) ved 0°C under argon. Blandingen ble rørt ved romtemperatur i 40

35

timer. EtOAc ble tilsatt og løsningen ble vasket med Na₂CO₃ og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (heptan/EtOAc, 5:1 → 1:1) ga 2-

acetylsulfanylmetyl-3-(2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-pyrimidin-5-yl)-propionsyre etyl ester (0,56 g, 89%).

h) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-amino-pyrimidin-5-yl)-propionsyre etyl ester

TFA (1,5 ml) ble tilsatt til en løsning 2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-[N,N-bis(tert-butoksykarbonyl)amino]-pyrimidin-5-yl)-propionsyre etyl ester (225 mg, 0,46 mmol) i metylenklorid (1,5 ml). Reaksjonsblandingen ble rørt i 120 minutter og konsentrert under redusert trykk som ga tittelforbindelsen (172 mg, 94%) som TFA saltet.

¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 1,22 (t, 3H), 2,35 (s, 3H), 2,80-3,00 (m, 3H), 3,00-3,22 (m, 2H), 4,13 (q, 2H), 8,43 (s, 2H).
MS (+) 284 (M+1).

Eksempel 20

2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkpto-smørsyre

a) 3-(6-tertbutoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-(dietoksy-fosforyl)-propionsyre etyl ester

Til en suspensjon av NaH (1,17 g, 60% i mineralolje, 39,3 mmol) i DMF (70 ml) ble tilsatt trietyl fosfonoacetat (6,01 g, 26,82 mmol) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt ved 0°C i 0,5 timer. Reaksjonsblandingen ble tilsatt (5-brommetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (7,0 g, 24,38 mmol) ved 0°C og reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur i 16 timer. Reaksjonen ble stoppet med sakte tilsetning av mettet vandig ammonium klorid (70 ml). Blandingen ble ekstrahert med EtOAc, vasket med saltvann og tørket. Det urene produktet ble renset med kolonne kromatografi (CH₂Cl₂/EtOAc, 1:0 → 0:1) som ga 3-(6-tertbutoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-(dietoksy-fosforyl)-propionsyre etyl ester (5,1 g, 50%).

b) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-but-2-enoic syre etyl ester

Til en suspensjon av NaH (278,8 mg, 60% i mineralolje, 6,97 mmol) i THF (25 ml) ved 0°C ble det tilsatt en løsning av 3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-(dietoksy-fosforyl)-propionsyre etyl ester (2,5 g, 5,81 mmol) i THF (30 ml). Reaksjonsblandingen ble rørt ved 0°C i 1 time. Til reaksjonsblandingen ble det tilsatt acetaldehyd (512 mg, 11,6 mmol) dråpevis ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble varmet opp til

romtemperatur og deretter rørt i 16 timer. Acetaldehyd (2,0 g) ble tilsatt til reaksjonskolben og reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur i ytterligere 16 timer. Reaksjonsblandingen ble stoppet med sakte tilsetning av mettet vandig ammoniumklorid (30 ml). Blandingen ble ekstrahert med EtOAc, vasket med saltvann og tørket som ga
 5 det urene produktet. Det urene produktet ble rensset med kolonne kromatografi (EtOAc/heksan, 1:8) som ga etyl 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-but-2-enoic syre etyl ester som en blanding av isomerer (1,1 g, 60%).

c) 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester

10

Til tioleddiksyre (15 ml) ble tilsatt Et₃N (1,5 g, 14,8 mmol) og etyl 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-but-2-enoic syre etyl ester (920 mg, 2,9 mmol) ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble rørt ved 40-45°C i 7 dager (ytterligere
 15 tioleddiksyre (1,5 ml) ble tilsatt til reaksjonsblandingen hver annen dag). Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og deretter fortynnet med EtOAc (50 ml). Det organiske sjiktet ble separert, vasket med mettet NaHCO₃, saltvann og tørket. De kombinerte organiske sjiktene ble konsentrert under redusert trykk. Den urene blandingen ble rensset etterfølgende med tre kromatografiske kolonner (CH₂Cl₂,
 20 EtOAc/heksan, 1:5 og aceton/heksan, 1:8), som ga 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester som en diastereomer blanding (780 mg, 68%). Den diastereomere blandingen ble separert ved anvendelse av preparativ kiral kromatografi ifølge fremgangsmåten beskrevet nedenfor som ga 4 isomerer 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonyl-amino-pyridin-3-ylmetyl)-
 25 smørsyre etyl ester/A, 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/B, 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/C og 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/D.

30 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/D

3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/D ble separert fra en blanding av 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonyl-
 35 amino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/A, 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/B, 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/C og 3-

acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/D på en kiral OJ kolonne eluert med isoheksan:acetonitril:isopropyl alkohol:dietyl amin (99, 0,5; 0,5; 0,1). Det enantiomere overskudd var > 99% som ble målt ved HPLC ved anvendelse av en kiralpak OJ kolonne eluert med isoheksan:etanol:dietyl amin (99; 1; 0,5).

3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/A

3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/A ble separert fra en blanding av 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/A, 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/B og 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/C og på en kiral OJ kolonne eluert med isoheksan:acetonitril:I-propanol: dietyl amin (98; 2; 0,1). Det enantiomere overskudd var > 99% som ble målt med HPLC ved anvendelse av en kiralpak OJ kolonne eluert med isoheksan:etanol:dietyl amin (99; 1; 0,5).

3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/B

3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/B ble separert fra en blanding av 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/B og 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/C på en kiral OJ kolonne eluert med heksan:etanol: dietyl amin (99; 1; 0,5). Det enantiomere overskudd var > 99% som ble målt med HPLC ved anvendelse av en kiralpak OJ kolonne eluert med isoheksan:etanol:dietyl amin (99; 1; 0,5).

3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/C

3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/C ble separert fra en blanding av 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/B og 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/C på en kiral OJ kolonne eluert med heksan:etanol: dietyl amin (99; 1; 0,5). Det enantiomere overskudd var >

87% som ble målt med HPLC ved anvendelse av en kirapak OJ kolonne eluert med isoheksan:etanol:dietyl amin (99; 1; 0,5).

d) 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkpto-smørsyre/A

5

En løsning av 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/A (45 mg, 0,11 mmol) i konsentrert HCl (2 ml) ble refluxert under argon i 1 time. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert under redusert trykk som ga 28,4 mg av tittelforbindelsen som hydroklorid saltet.

10

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 7,89 (d, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,03 (d, 1H), 3,23-3,33 (m, 1H), 3,1-3,2 (m, 1H), 2,75-2,9 (m, 2H), 1,47 (d, 3H).
MS (+) 227 (M+1).

15 e) 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkpto-smørsyre/B

En løsning av 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/B (55 mg, 0,14 mmol) i konsentrert HCl (2 ml) ble refluxert under argon i 1 time. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert under
20 redusert trykk som ga 39,4 mg av tittelforbindelsen som hydroklorid saltet.

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 7,89 (d, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,03 (d, 1H), 3,23-3,33 (m, 1H), 3,1-3,2 (m, 1H), 2,75-2,9 (m, 2H), 1,47 (d, 3H).
MS (+) 227 (M+1).

25

f) 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkpto-smørsyre/C

En løsning av 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/C (9 mg, 0,02 mmol) i konsentrert HCl (0,5 ml) ble refluxert under
30 argon i 1 time. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert under redusert trykk som ga 6,4 mg av tittelforbindelsen som hydroklorid saltet.

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 7,82-7,9 (m, 1H), 7,67 (br s, 1H), 7,0 (d, 1H), 3,16-3,28 (m, 1H), 2,96-3,04 (m, 1H), 2,76-2,86 (m, 2H), 1,47 (d, 3H).
35 MS (+) 227 (M + 1).

g) 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkpto-smørsyre/D

En løsning av 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-smørsyre etyl ester/C (9 mg, 0,02 mmol) i konsentrert HCl (0,5 ml) ble refluksert under argon i 1 time. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert under redusert trykk som ga 36,8 mg av tittelforbindelsen som hydroklorid saltet.

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 7,82-7,9 (m, 1H), 7,67 (br s, 1H), 7,0 (d, 1H), 3,16-3,28 (m, 1H), 2,96-3,04 (m, 1H), 2,76-2,86 (m, 2H), 1,47 (d, 3H).

MS (+) 227 (M+1).

Eksempel 216-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkpto-pentansyrea) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pent-2-enoic syre etyl ester

Til en løsning av NaH (290,5 mg, 60% i mineralolje, 7,5 mmol) i THF (25 ml) ved 0°C ble det tilsatt en løsning av 3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-(dietoksyfosforyl)-propionsyre etyl ester (2,5 g, 5,81 mmol) i THF (30 ml).

Reaksjonsblandingen ble rørt ved 0°C i 1 time. Reaksjonsblandingen ble tilsatt propionaldehyd (725 mg, 12,5 mmol) dråpevis ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur i 16 timer. Propionaldehyd (2,5 g) ble tilsatt og blandingen ble rørt ved romtemperatur i ytterligere 16 timer. Reaksjonen ble stoppet med sakte tilsetning av mettet vandig NH₄Cl (30 ml). Blandingen ble ekstrahert med EtOAc, vasket med saltvann og tørket. Det urene produktet ble rensset med kolonne kromatografi (EtOAc/heksan, 1:8) som ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pent-2-enoic syre etyl ester som en blanding av isomerer (1,2 g, 60%).

b) 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pentansyre etyl ester

Til tioleddiksyre (15 ml) ble det tilsatt Et₃N (1,8 g, 17 mmol) og 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pent-2-enoic syre etyl ester (1,1 g, 3,3 mmol) ved romtemperatur. Reaksjonsblandingen ble rørt ved 65°C i 8 dager (ytterligere tioleddiksyre (1,5 ml) ble tilsatt til reaksjonsblandingen hver annen dag). Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og deretter fortynnet med EtOAc. Det organiske sjiktet ble separert, vasket med mettet NaHCO₃, saltvann og tørket. De

kombinererte organiske sjiktene ble konsentrert under redusert trykk. Residuet ble rensset etterfølgende med to kromatografiske kolonner (CH_2Cl_2 og EtOAc/heksan, 1:5) som ga 350 mg av en blanding av de ønskede produkter og ureagert utgangsmateriale. De urene produkter ble ytterligere rensset med HPLC (EtOH/Heksan, 1:9) og deretter

5 kolonne kromatografi (aceton/heksan, 1:8) som ga tittelforbindelsen som en diastereomer blanding (180 mg, 18%). Den diastereomere blandingen av 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pentansyre etyl ester ble separert ved anvendelse av preparativ kiral kromatografi ifølge fremgangsmåten beskrevet nedenfor som ga fire isomerer 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-

10 butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pentansyre etyl ester/A, 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pentansyre etyl ester/B, 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pentansyre etyl ester/C og 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pentansyre etyl ester/D. Den diastereomere blandingen ble separert på to kiralsel OJ

15 kolonner, som ble forbundet til hverandre og eluert med isoheksan:isopropyl alkohol:metanol (97:1:2). Det enantiomere overskuddet ble målt ved anvendelse av analytisk HPLC ved anvendelse av to kiralsel OJ kolonner som ble bundet til hverandre og eluert med isoheksan:isopropyl alkohol:metanol (97:1:2). For 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pentansyre etyl ester/A til og med C ble

20 det enantiomere overskuddet funnet å være > enn 99%, mens det ble funnet å være 97% for 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pentansyre etyl ester/D.

c) 6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkapto-pentansyre/A

25

En løsning av 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pentansyre etyl ester/A (50,4 mg, 0,12 mmol) i konsentrert HCl (2 ml) ble refluksert under argon i 1,5 timer. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert under redusert trykk som ga 33,9 mg av tittelforbindelsen som hydroklorid-

30 salt.

^1H NMR (500 MHz, D_2O): δ 7,87 (dd, 1H), 7,67 (d, 1H), 3,02-3,16 (m, 2H), 2,79-2,87 (m, 2H), 1,79-1,88 (m, 1H), 1,53-1,64 (m, 1H), 1,07 (t, 3H).

MS (+) 241 (M+1).

35

d) 6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkapto-pentansyre/B

En løsning av 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pentansyre etyl ester/B (51,6 mg; 0,13 mmol) i konsentrert HCl (2 ml) ble refluxert under argon i 1,5 timer. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert under redusert trykk som ga 34,7 mg av tittelforbindelsen som hydroklorid-saltet.

¹H NMR (500 MHz, D₂O): δ 7,87 (dd, 1H), 7,67 (d, 1H), 7,0 (d, 1H), 3,02-3,16 (m, 2H), 2,79-2,87 (m, 2H), 1,79-1,88 (m, 1H), 1,53-1,64 (m, 1H), 1,07 (t, 3H).
MS (+) 241 (M+1)

10

e) 6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkpto-pentansyre/C

En løsning av 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pentansyre etyl ester/C (4,3 mg, 0,01 mmol) i konsentrert HCl (2 ml) ble refluxert under argon i 1,5 timer. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert under redusert trykk som ga 2,9 mg av tittelforbindelsen som hydrokloridsaltet.

¹H NMR (500 MHz, D₂O): δ 7,86 (dd, 1H), 7,66 (br s, 1H), 7,0 (d, 1H), 2,94-3,04 (m, 2H), 2,74-2,9 (m, 2H), 1,88-1,97 (m, 1H), 1,55-1,66 (m, 1H), 1,05 (t, 3H).
MS (+) 241 (M+1).

20

f) 6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkpto-pentansyre/D

En løsning av 3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-pentansyre etyl ester/D (19,2 mg, 0,05 mmol) i konsentrert HCl (2 ml) ble refluxert under argon i 1,5 timer. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert under redusert trykk som ga 12,9 mg av tittelforbindelsen som hydrokloridsaltet.

¹H NMR (500 MHz, D₂O): δ 7,86 (dd, 1H), 7,66 (br s, 1H), 7,0 (d, 1H), 2,94-3,04 (m, 2H), 2,74-2,9 (m, 2H), 1,88-1,97 (m, 1H), 1,55-1,66 (m, 1H), 1,05 (t, 3H).
MS (+) 241 (M+1).

30

Eksempel 22

3-(6-amino-5-klor-pyridin-3-yl)-2-merkptometyl-propionsyre

35

a) 6-amino-5-klor-nikotinsyre etyl ester

N-klor-suksinimid (21,7 g, 0,162) ble tilsatt til en suspensjon av 6-amino-nikotin syre etyl ester (18,0 g, 0,108 mol) i acetonitril (270 ml) og blandingen ble refluksert i 2 timer. Reaksjonsblandingen ble filtrert og konsentrert under redusert trykk. Residuet ble løst i diklormetan, vasket med vann og tørket. Flash kromatografi (2,5% MeOH i CH_2Cl_2) ga rent 6-amino-5-klor-nikotinsyre etyl ester (17,23 g, 79%).

b) 6-bis(tert-butoksykarbonyl)-amino-5-klor-nikotinsyre etyl ester

DMAP (0,11 g, 0,9 mmol) og $(\text{Boc})_2\text{O}$ (21,54 g, 99 mmol) ble tilsatt til en løsning av 6-amino-5-klor-nikotinsyre etyl ester (9,0 g, 45 mmol) i diklormetan (250 ml). Reaksjonsblandingen ble rørt i 24 timer. DMAP (0,02 ekv.) og $(\text{Boc})_2\text{O}$ (3 x 0,5 ekv.) ble tilsatt i løpet av reaksjonstiden. Reaksjonsblandingen ble vasket med vann og tørket. Det urene produktet ble vasket med heksan som ga rent 6-bis(tert-butoksykarbonyl)-amino-5-klor-nikotinsyre etyl ester (11,87 g, 66%).

c) (3-klor-5-hydroksymetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester

LiAlH_4 (2,4 g, 63,2 mmol) ble tilsatt i porsjoner i løpet av 3,5 timer til en løsning av 6-bis(tert-butoksykarbonyl)-amino-5-klor-nikotinsyre etyl ester (11,5 g, 28,6 mmol) i THF (70 ml) ved 0°C . Reaksjonsblandingen ble rørt i romtemperatur over natten, deretter ble NH_4Cl (mettet) tilsatt forsiktig fulgt av vann. Løsningen ble filtrert og tørket og konsentrert under redusert trykk som ga urent (3-klor-5-hydroksymetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (5,86, 79%).

d) (5-brommetyl-3-klor-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester

Trifenylfosfin (2,61 g, 9,7 mmol) fulgt av karbontetrabromid (4,58 g, 13,8 mmol) ble tilsatt til en suspensjon av (3-klor-5-hydroksymetyl-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (2,38 g, 9,2 mmol) i CH_2Cl_2 (60 ml) ved 0°C . Blandingen ble rørt ved romtemperatur i 5 timer og konsentrert under redusert trykk. Acetonitril (40 l) ble tilsatt og blandingen ble holdt ved -20°C over natten. Blandingen ble deretter filtrert og det krystallinske residuet vasket med kald acetonitril. Filtratet ble konsentrert under redusert trykk og en annen mengde bromid ble oppnådd som beskrevet ovenfor. (5-brommetyl-3-klor-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (1,86 g, 63%) ble oppnådd som hvite krystaller.

e) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-klor-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester

Dietyl malonat (1,87 ml, 12,31 mmol) ble tilsatt til en suspensjon av NaH (0,54 g, 12,31 mmol, 55%) i tørr DMF (15 ml) ved -8°C. Denne blandingen ble rørt i 15 minutter før den ble tilsatt dråpevis til en løsning av (5-brommetyl-3-klor-pyridin-2-yl)-karbaminsyre tert-butyl ester (3,30 g, 10,26 mmol) i tørr DMF (50 ml) ved 0°C. Den resulterende løsningen ble rørt i 40 minutter ved 0°C og deretter ble NH₄Cl (5 ml, mettet) tilsatt forsiktig. Røring ved romtemperatur over natten og konsentrering under redusert trykk ga et residu som ble løst i vann/CH₂Cl₂. Det vandige sjiktet ble ekstrahert med CH₂Cl₂ og de kombinerte organiske ekstraktene ble tørket, filtrert og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (1% MeOH i CH₂Cl₂) ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-klor-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (2,45, 60%) som en seig klar olje.

f) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-klor-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester

En løsning av KOH (0,44 g, 6,72 mmol, 85%) i etanol (5 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-klor-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (2,45 g, 6,11 mmol) i etanol (25 ml) og metylen klorid (10 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt i 18 timer ved romtemperatur. Løsemidlet ble fordampet i vakuum og residuet løst i vann. Det vandige sjiktet ble vasket med eter, surgjort til pH 4 med 1M HCl og ekstrahert med metylen klorid og etyl acetat. De kombinerte organiske sjiktene ble vasket med vann og saltvann og tørket. Filtrering og konsentrering under redusert trykk ga det urene produktet som ble renset med flash kromatografi (10% MeOH i CH₂Cl₂) som ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-klor-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (1,41 g, 62%) som et gulhvitt glassaktig skum.

g) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-klor-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester

Dietylamin (3,67 ml, 3,67 mmol) ble tilsatt dråpevis fulgt av vann (2,5 ml) og CH₂Cl₂ (2,5 ml) til en blanding av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-klor-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (1,40 g, 3,64 mmol) og 37% vandig løsning av formaldehyd (0,29 ml, 3,75 mmol) i CH₂Cl₂ (2 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt i 20 timer ved romtemperatur og deretter helt over i isvann og ekstrahert med metylenklorid. Det organiske sjiktet ble vasket med 5% NaHCO₃, tørket og konsentrert under redusert

trykk. Flash kromatografi (1-2,5% metanol i CH_2Cl_2) ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-klor-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester 0,81 g (6%).

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-klor-pyridin-3-ylmetyl)-propionsyre etyl ester

Tioeddiksyre (4 ml) ble tilsatt til en suspensjon av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-klor-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (0,732 g, 2,16 mmol) og trietylamin (0,31 ml, 2,23 mmol) ved 0°C. Blandingen ble rørt ved romtemperatur under argon over natten, helt over i isvann og ekstrahert med CH_2Cl_2 . Den organiske fasen ble vasket med mettet NaHCO_3 til gassutvikling stoppet og deretter tørket. Det urene produktet ble rensert to ganger over flash kromatografi (CH_2Cl_2 , 1-2,5% MeOH i CH_2Cl_2 og heksan/EtOAc, 5:2 → 1:1) som ga rent 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-klor-pyridin-3-ylmetyl)-propionsyre etyl ester (0,79 g, 87%).

h) 3-(6-amino-5-klor-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre

En løsning av 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-klor-pyridin-3-ylmetyl)-propionsyre etyl ester (55 mg, 0,132 mmol) i konsentrert HCl (4 ml) ble refluxert i 90 minutter. Reaksjonen ble avkjølt og konsentrert under redusert trykk som ga tittelforbindelsen som HCl saltet (36 mg, 96,4 %).

^1H NMR (400 MHz, D_2O): δ 2,70-2,97 (m, 5H), 7,73 (s, 1H), 8,09 (s, 1H).

MS (+) 248 (M+1).

Eksempel 23

3-(6-amino-5-hydroksymetyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre

a) 6-bis(tert-butoksykarbonyl)amino-5-vinyl-nikotinsyre etyl ester

En blanding av 5-brom-6-bis(tert-butoksykarbonyl)amino-nikotinsyre etyl ester (4,50 g, 10,1 mmol), vinyltributyltin (3,52 g, 11,1 mmol) og tetrakispladium trifenylfosfin (0,50 g, 0,40 mmol) i THF (15 ml) ble rørt i 24 timer ved reflux. Tetrakispladium trifenylfosfin (0,50 g) ble tilsatt og etter 24 timer med reflux ble reaksjonsblandingen avkjølt og fortynnet med diklormetan (100 ml). Mettet vandig KF (25 ml) ble tilsatt og løsningen rørt i 1 time. Vann ble tilsatt og produktet ekstrahert med diklormetan og den organiske fasen ble tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (1%

MeOH i diklormetan) ga 6-bis(tert-butoksykarbonyl)amino-5-vinyl-nikotinsyre etyl ester 3,20 g (81%).

b) (5-hydroksymetyl-3-vinyl-pyridin-2-yl)karbaminsyre tert-butyl ester

5 DIBAL (25 ml, 1M i heksan) ble tilsatt dråpevis til en løsning av 6-bis(tert-butoksykarbonyl)amino-5-vinyl-nikotinsyre etyl ester (2,00 g, 5,1 mmol) i THF (40 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt ved romtemperatur i 1 time. NH₄Cl (mettet) ble tilsatt forsiktig fulgt av vann og blandingen ble konsentrert under redusert trykk. Residuet ble
10 suspendert i 5% MeOH i diklormetan og filtrert gjennom silika gel. Filtratet ble tørket og konsentrert under redusert trykk som ga (5-hydroksymetyl-3-klor-pyridin-2-yl)karbaminsyre tert-butyl ester (1,00 g, 78%).

c) (5-brommetyl-3-vinyl-pyridin-2-yl)karbaminsyre tert-butyl ester

15 Til en rørt suspensjon av (5-hydroksymetyl-3-vinyl-pyridin-2-yl)karbaminsyre tert-butyl ester (10,0 g, 40,0 mmol) i CH₂Cl₂ (150 ml) og THF (60 ml) ble det tilsatt trifenylfosfin (11,5 g, 44,0 mmol) fulgt av karbontetrabromid (19,9 g, 60,0 mmol) ved 0°C. Blandingen ble rørt ved romtemperatur i 1 time og deretter konsentrert under
20 redusert trykk. Acetonitril (100 ml) ble tilsatt og blandingen ble holdt ved -20°C over natten. Blandingen ble deretter filtrert og det krystallinske residuet vasket med kald acetonitril. Produktet ble renset med flash kromatografi (1% MeOH i diklormetan) som ga (5-brommetyl-3-klor-pyridin-2-yl)karbaminsyre tert-butyl ester (4,5 g, 36%).

25 d) 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-vinyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester

Dietyl malonat (2,30 g, 14,3 mmol) ble tilsatt til en suspensjon av NaH (0,61 g, 14,3 mmol, 55%) i tørr DMF (75 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt i 15 minutter og deretter tilsatt dråpevis til en løsning av (5-brommetyl-3-klor-pyridin-2-yl)karbaminsyre tert-
30 butyl ester (4,50 g, 14,3 mmol) i tørr DMF (100 ml) ved 0°C. Den resulterende løsningen ble rørt i 40 minutter ved 0°C og deretter ble NH₄Cl (30 ml, mettet) tilsatt forsiktig. Konsentrering under redusert trykk ga et residue som ble løst i vann/CH₂Cl₂. Det vandige sjiktet ble ekstrahert med CH₂Cl₂ og de kombinerte ekstraktene ble tørket, filtrert og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (1% MeOH i CH₂Cl₂)
35 ga 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-vinyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (4,30 g, 77%).

e) 2-(6-tert-butoksykarbonyl-5-vinyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester

En løsning av KOH (0,71 g, 12,6 mmol, 85%) i etanol (10 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-vinyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester
 5 (4,30 g, 11,0 mmol) i etanol (25 ml) og diklormetan (10 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt i 6 timer ved romtemperatur. Løsemidlet ble fordampet i vakuum og residuet løst i vann. Det vandige sjiktet ble vasket med eter, surgjort til pH 4 med 1M HCl og ekstrahert med diklormetan. Det organiske sjiktet ble vasket med vann og saltvann og tørket. Filtrering og konsentrering under redusert trykk fulgt av flash kromatografi
 10 (10% MeOH i CH₂Cl₂) ga 2-(6-tert-butoksykarbonyl-5-vinyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (3,05 g, 76%).

f) 2-(6-tert-butoksykarbonyl-5-vinyl-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester

15 Dietylamin (0,85 ml, 8,80 mmol) ble tilsatt dråpevis til en blanding av 2-(6-tert-butoksykarbonyl-5-vinyl-pyridin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (3,05 g, 8,37 mmol) og 37% vandig løsning av formaldehyd (0,71 g, 8,80 mmol) i CH₂Cl₂ (2 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt i 3 timer ved romtemperatur og deretter helt over i isvann og ekstrahert med diklormetan. Det organiske sjiktet ble vasket med 5% NaHCO₃ og
 20 tørket. Flash kromatografi (1% metanol i CH₂Cl₂) ga 2-(6-tert-butoksykarbonyl-5-vinyl-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (1,70 g, 61%).

g) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-vinyl-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester

25 Tioeddiksyre (4 ml) ble tilsatt til en suspensjon av 2-(6-tert-butoksykarbonyl-5-vinyl-pyridin-3-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (0,73 g, 2,16 mmol) i trietylamin (0,31 ml, 2,23 mmol) ved 0°C. Blandingen ble rørt ved romtemperatur under argon over natten, helt over i isvann og ekstrahert med CH₂Cl₂. Den organiske fasen ble vasket med mettet
 30 NaHCO₃ til gassutviklingen stoppet og deretter tørket. Flash kromatografi (1% MeOH i CH₂Cl₂) ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-vinyl-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester (0,51 g, 70%).

3-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-hydroksymetyl-pyridin-3-yl)-merkaptometyl-propionsyre etyl ester

Ozon ble boblet gjennom en løsning av 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-vinyl-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester (0,65 g, 1,60 mmol) i etanol (25 ml) ved -78°C. O₂ ble deretter boblet gjennom blandingen i 5 minutter fulgt av N₂-bobling i 15 minutter. En blanding av NaBH₄ (0,30 g, 8,00 mmol) i vann ble forsiktig tilsatt til blandingen ved -78°C, og reaksjonsblandingens nådde 0°C. Røring fortsatte i 3 timer. Aceton (10 ml) ble tilsatt og reaksjonsblandingens fordampet til en tredjedel av det opprinnelige volumet. 50% NaCl (vandig) ble tilsatt og blandingen ble ekstrahert med diklormetan, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga urent 3-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-hydroksymetyl-pyridin-3-yl)-merkaptometyl-propionsyre etyl ester (0,38 g, 63%).

h) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-hydroksymetyl-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester

En blanding av uren 3-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-hydroksymetyl-pyridin-3-yl)-merkaptometyl-propionsyre etyl ester (0,38 g, 1,0 mmol) og KHCO₃ (0,11 g, 1,1 mmol) i eddiksyre anhydrid (1 ml) ble rørt ved romtemperatur i 5 timer. NH₄Cl (mettet) og vann ble deretter tilsatt. Blandingens ble ekstrahert med diklormetan, tørket og konsentrert under redusert trykk. Flash kromatografi (CH₂Cl₂, 2,5% MeOH i CH₂Cl₂) ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-hydroksymetyl-pyridin-3-yl)-propionsyre etyl ester (0,23 g, 60%).

25

i) 3-(6-amino-5-hydroksymetyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre

En løsning av 3-(6-tert-butoksykarbonylamino-5-hydroksymetyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre etyl ester (50 mg, 135 mmol) i konsentrert HCl (2 ml) ble refluxert i 60 minutter. Reaksjonen ble avkjølt og konsentrert under redusert trykk som ga tittelforbindelsen som HCl-saltet (37 mg, 98,3%).

30

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 2,70-2,95 (m, 5H), 4,65 (s, 2H), 7,68 (s, 1H), 7,88 (s, 1H).

35 MS (+) 244 (M+1)

Eksempel 24**2-merkapto-3-pyrrolidin-3-yl-propionsyre****a) (1-bensyl-pyrrolidin-3-yl)-metanol**

5

Red-A (160 ml av en 3,5 M løsning i toluen, 560 mmol) ble tilsatt til en løsning av 1-bensyl-5-okso-pyrrolidin-3-karboksylysyre (20 g, 91 mmol) i tørr THF (650 ml) under argon. Reaksjonsblandingen ble refluksert i 2,5 timer og deretter helt over i en blanding av knust is og NaOH (20%). Fasene ble separert og den vandige fasen ekstrahert med toluen og de kombinerte fasene ble tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 17,9 g av det urene produktet som en gul olje.

b) 3-hydroksymetyl-pyrrolidin-1-karboksylysyre tert-butyl ester

15

10% Pd-C (6,1 g) og ammoniumformat (10 g, 158 mmol) ble tilsatt til en løsning av (1-bensyl-pyrrolidin-3-yl)-metanol (6,1 g, 32 mmol) i metanol (220 ml) under argon. Etter refluks i 15 minutter ble reaksjonsblandingen filtrert varm gjennom et lag celite, celiten ble ytterligere vasket med metanol og de kombinerte organiske fasene ble konsentrert. Residuet ble løst i THF (35 ml) og vann (35 ml), løsningen ble avkjølt til 0°C og K₂CO₃ (22 g, 159 mmol) og di-tert-butyl dikarbonat (6,95 g, 32 mmol) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur over natten. THF ble fjernet under redusert trykk, vann tilsatt og den vandige fasen ble ekstrahert med EtOAc. De kombinerte organiske fasene ble tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 4.64 g urent produkt. Flash kromatografi (heptan/EtOAc: 1/0 → 68/32) av det urene produktet ga 3-hydroksymetyl-pyrrolidin-1-karboksylysyre tert-butyl ester (3,82 g, 60%) som en fargeløs olje.

20

25

c) 3-trifluormetansulfonyloksymetyl-pyrrolidin-1-karboksylysyre tert-butyl ester

30

Metansulfonyl klorid (0,4 ml, 5,17 mmol) ble tilsatt dråpevis til en løsning av 3-hydroksymetyl-pyrrolidin-1-karboksylysyre tert-butyl ester (1 g, 4,97 mmol) og trietyl amin (1,04 ml, 7,46 mmol) i CH₂Cl₂ (15 ml) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur over natten. Etter filtrering ble CH₂Cl₂ tilsatt og den organiske fasen ble vasket med 1M HCl, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 3-trifluormetansulfonyloksymetyl-pyrrolidin-1-karboksylysyre tert-butyl ester (1,4 g, 97%).

35

d) 3-brommetyl-pyrrolidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester

En blanding av 3-trifluormetansulfonyloksymetyl-pyrrolidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (3,85 g, 13,8 mmol) og LiBr (3,61 g, 42 mmol) i tørr aceton (30 ml) ble refluxert over natten. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur, filtrert og konsentrert. Residuet ble løst i CH_2Cl_2 og vasket med vann, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 6 g av det urene produktet. Rensing ved flash kromatografi (heptan/EtOAc: 1/10 $\rightarrow$ 68/32) ga 3-brommetyl-pyrrolidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (2,84 g, 78%) som en fargeløs olje.

e) 2-(1-tert-butoksykarbonyl-pyrrolidin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester

Dietyl malonat (1,93 ml, 12,7 mol) ble tilsatt dråpevis til en løsning av NaH (60%: 0,51 g, 12,8 mmol) i tørr THF (15 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt ved romtemperatur hvorefter den ble tilsatt til en refluksende blanding av 3-brommetyl-pyrrolidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (2,8 g, 10,6 mmol) i tørr THF (30 ml). Reaksjonsblandingen ble ytterligere refluxert i 19 timer og deretter konsentrert nesten til tørrhet. Vann (1 l) ble tilsatt og produktet ekstrahert med CH_2Cl_2 . De kombinerte organiske fasene ble tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 3,3 g av det urene produktet. Rensing ved flash kromatografi (CH_2Cl_2 /EtOAc: 1/0 $\rightarrow$ 68/32) ga 2-(1-tert-butoksykarbonyl-pyrrolidin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (1,64 g, 45%).

f) 2-(1-tert-butoksykarbonyl-pyrrolidin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester

En løsning av KOH (0,26 g, 4,6 mmol) i etanol (7 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-(1-tert-butoksykarbonyl-pyrrolidin-3-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (1,52 g, 4,4 mmol) i etanol (7 ml) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur over natten, konsentrert under redusert trykk og residuet ble løst i vann (500 ml). Det vandige sjiktet ble vasket med dietyl eter, surgjort til pH 3 med 0,5 M HCl og ekstrahert med dietyl eter. Den organiske fasen ble tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 2-(1-tert-butoksykarbonyl-pyrrolidin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (1,13 g, 81%).

g) 3-(2-etoksykarbonyl-allyl)-pyrrolidin-1-karboksytsyre tert-butyl ester

Dietylamin (0,34 ml, 3,3 mmol) ble tilsatt til en blanding av 2-(1-tert-butoksykarbonyl-pyrrolidin-3-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (0,69 g, 2,19 mmol) i 36% vandig

løsning av formaldehyd (0,27 ml, 3,5 mmol), CH_2Cl_2 (1,6 ml) og vann (1,6 ml) ved 0°C . Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur over natten, helt over i isvann (500 ml) og ekstrahert med CH_2Cl_2 . De kombinerte organiske fasene ble vasket med 5% NaHCO_3 , tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 3-(2-etoksykarbonyl-allyl)-pyrrolidin-1-karboksylyse tert-butyl ester (0,55 g, 87%) som en fargeløs olje.

h) 3-(3-acetylsulfanyl-2-etoksykarbonyl-propyl)-pyrrolidin-1-karboksylyse tert-butyl ester

Tioeddiksyre (5 ml) som var blitt avkjølt til 0°C , ble tilsatt til en blanding av 3-(2-etoksykarbonyl-allyl)-pyrrolidin-1-karboksylyse tert-butyl ester (0,72 g, 2,54 mmol) og trietyl amin (0,37 ml, 2,67 mmol) ved 0°C . Reaksjonsblandingen ble rørt ved 0°C i 30 minutter, ved romtemperatur i 23 minutter og deretter helt over i isvann (400 ml). Det vandig sjiktet ble ekstrahert med CH_2Cl_2 . De kombinerte organiske fasene ble vasket med mettet NaHCO_3 , tørket og konsentrert under redusert trykk. Det urene produktet ble rensset med flash kromatografi ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOAc}$: 1/0 $\rightarrow$ 68/32) som ga 3-(3-acetylsulfanyl-2-etoksykarbonyl-propyl)-pyrrolidin-1-karboksylyse tert-butyl ester (0,72 g, 79%) som en olje.

i) 2-merkpto-3-pyrrolidin-3-yl-propionsyre

En løsning av 3-(3-acetylsulfanyl-2-etoksykarbonyl-propyl)-pyrrolidin-1-karboksylyse tert-butyl ester (0,52 g, 1,45 mmol) i konsentrert HCl (15 ml) ble refluxert under argon i 1 time. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert under redusert trykk som ga en diastereomer blanding av tittelforbindelse som hydroklorid-saltet (0,33 g, 100%).

^1H NMR (500 MHz, D_2O): δ 1,60-1,92 (m, 3H), 2,19-2,32 (m, 1H), 2,32-2,42 (m, 1H), 2,66-2,83 (m, 3H), 2,84-2,96 (m, 1H), 3,23-3,32 (m, 1H), 3,40-3,58 (m, 2H), MS (+) 190 (M+1).

Eksempel 25

3-(Cis-4-amino-syklopent-2-enyl)-2-merkpto-propionsyre

Cis-metansulfonsyre 4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enylmetyl ester

Metansulfonyl klorid (0,76 ml, 9,8 mmol) ble tilsatt til en løsning av cis-(4-hydroksy-metyl-syklopent-2-enyl)-karbaminsyre tert-butyl ester (2 g, 9,4 mmol) og trietyl amin (1,96 ml, 14,1 mmol) i CH₂Cl₂ (30 ml) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur over natten. Etter filtrering ble CH₂Cl₂ tilsatt og den organiske fasen ble vasket med 1M HCl, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga cis-metansulfonsyre-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enylmetyl ester (2,64 g, 96%).

a) Cis-(4-brommetyl-syklopent-2-enyl)-karbaminsyre tert-butyl ester

10

En blanding av cis-metansulfonsyre-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enylmetyl ester (2,51 g, 8,6 mmol) og LiBr (2,24 g, 25,8 mmol) i tørr aceton (20 ml) ble refluxert over natten. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur, filtrert og konsentrert. Residuet ble løst i CH₂Cl₂ og vasket med vann, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga Cis-(4-brommetyl-syklopent-2-enyl)-karbaminsyre tert-butyl ester (2,23 g, 94%).

15

b) 2-(cis-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enylmetyl)-malonsyre dietyl ester

Dietyl malonat (1,29 ml, 8,5 mmol) ble tilsatt til en blanding av NaH (60%, 0,34 g, 8,5 mmol) i DMF (10 ml). Etter røring ved romtemperatur i 15 minutter ble en løsning av cis-(4-brommetyl-syklopent-2-enyl)-karbaminsyre tert-butyl ester (1,95 g, 7,1 mmol) i DMF (12 ml) tilsatt, og reaksjonsblandingen ble rørt ved 60°C i 19 timer. EtOAc ble tilsatt og den organiske fasen ble ekstrahert med vann og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 2,44 g av det urene produktet. Rensing med flash kromatografi (CH₂Cl₂/EtOAc:1/0 → 68/32) ga 2-(cis-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enylmetyl)-malonsyre dietyl ester (1,47 g, 58%).

25

c) 2-(cis-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enylmetyl)-malonsyre monoetyl ester

30

En løsning av KOH (0,19 g, 3,4 mmol) i etanol (6 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-(cis-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enylmetyl)-malonsyre dietyl ester (1,15 g, 3,2 mmol) i etanol (6 ml) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur over natten, konsentrert og isvann (400 ml) ble tilsatt. Den vandige fasen ble vasket med dietyleter (emulsjonen dannet i løpet av ekstraksjonen ble behandlet med saltvann for å få fasene til å separere), surgjort til pH 3 med 0,5 M HCl, og ekstrahert med dietyl

35

eter. Den organiske fasen ble tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 2-(cis-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (0,86 g, 81%) som hvite krystaller.

5 d) 2-(cis-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enylmetyl)-akrylsyre etyl ester

Dietyl amin (0,31 ml, 3,0 mmol) ble tilsatt til en blanding av 2-(cis-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (0,66 g, 2,0 mmol) i 36% vandig løsning av formaldehyd (0,25 ml, 3,2 mmol), CH₂Cl₂ (1,6 ml) og vann (1,6 ml) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur over natten, helt over i isvann (400 ml) og ekstrahert med CH₂Cl₂. I løpet av ekstraksjonen ble fase-separasjonen forbedret ved tilsetning av saltvann. De kombinerte organiske fasene ble vasket med 5% NaHCO₃, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 2-(cis-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enylmetyl)-akrylsyre etyl ester (0,56 g, 94%) som en olje.

e) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(cis-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enyl)-propionsyre etyl ester

20 Tioeddiksyre (4 ml) som var blitt avkjølt til 0°C, ble tilsatt til en blanding av 2-(cis-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enylmetyl)-akrylsyre etyl ester (0,56 g, 1,9 mmol) og trietylamin (0,28 ml, 2,0 mmol) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt ved 0°C i 30 minutter, romtemperatur i 19 timer og deretter helt over i isvann (400 ml). Det vandige sjiktet ble ekstrahert med CH₂Cl₂. Den organiske fasen ble vasket med mettet NaHCO₃, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 1,7 g av det urene produktet. Rensing ved flash kromatografi (CH₂Cl₂/EtOAc: 1/0 → 68/32) ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-(cis-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enyl)-propionsyre etyl ester (0,46 g, 65%).

30 f) 3-(cis-4-amino-syklopent-2-enyl)-2-merkaptometyl-propionsyre

En løsning av 2-acetylsulfanylmetyl-3-(cis-4-tert-butoksykarbonylamino-syklopent-2-enyl)-propionsyre etyl ester (86 mg, 0,23 mmol) i konsentrert HCl (5 ml) ble refluxert under argon i 1 time. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert under redusert trykk som ga en diastereomer blanding av tittelforbindelsen som hydroklorid saltet (65 mg).

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 1,35-1,47 (m, 2H), 1,60-1,72 (m, 1H), 1,74-1,92 (m, 2H), 1,92-2,04 (m, 1H), 2,67-2,92 (m, 10H), 4,34-4,43 (m, 2H), 5,79-5,85 (br s, 2H), 6,12 (d, 1H), 6,18 (d, 1H).

5 **Eksempel 26**

2-merkaptometyl-3-piperasin-1-yl-propionsyre

a) **4-(2-etoksykarbonyl-allyl)-piperasin-1-karboksylysyre tert-butyl ester**

- 10 Til en løsning av 2-brommetyl-akrylsyre etyl ester (1,93 g, 10 mmol) i N,N-dimetylformamid (25 ml) ble det tilsatt piperasin-1-karboksylysyre tert-butyl ester (1,86 g, 10 mmol) og deretter dråpevis etyl-diisopropyl-amin (1,71 ml, 10 mmol). Etter røring i 16 timer ved romtemperatur ble løsemidlet fjernet under redusert trykk og vann (50 ml) og diklormetan (50 ml) ble tilsatt. Etter røring i 2 minutter ble sjiktene separert,
- 15 den organiske fasen ble vasket med vann og saltvann, tørket over magnesiumsulfat. Løsemidlet ble fjernet under redusert trykk som ga urent 4-(2-etoksykarbonyl-allyl)-piperasin-1-karboksylysyre tert-butyl ester (2,456 g, 82%).

b) **4-(3-acetylsulfanyl-2-etoksykarbonyl-propyl)-piperasin-1-karboksylysyre tert-butyl ester**

- 20 **ester**
- Til urent 4-(2-etoksykarbonyl-allyl)-piperasin-1-karboksylysyre tert-butyl ester (2,45 g, 8,2 mmol) ble det tilsatt tioleddiksyre (7,5 ml) under argon. Blandingen ble avkjølt til 0°C og trietylamin (1,14 ml, 8,2 mmol) ble tilsatt dråpevis. Blandingen ble deretter rørt
- 25 ved romtemperatur i 2 dager og tioleddiksyre (2,5 ml) ble tilsatt. Røring fortsatte i 1 dag og deretter ble vandig mettet natrium hydrogenkarbonat løsning tilsatt forsiktig til en klar reaksjon og blandingen ble ekstrahert 3 ganger med diklormetan. De kombinerte organiske sjiktene ble vasket to ganger med vandig mettet natrium hydrogenkarbonat løsning og en gang med saltvann. Etter tørking over magnesium
- 30 sulfat ble løsemidlet fjernet under redusert trykk og residuet ble renset med kolonne kromatografi (silika gel, 1,7% metnol i diklormetan) som ga 4-(3-acetylsulfanyl-2-etoksykarbonyl-propyl)-piperasin-1-karboksylysyre tert-butyl ester (0,29 g, 9,4%).

2-merkaptometyl-3-piperasin-1-yl-propionsyre

Til 4-(3-acetylsulfanyl-2-etoksykarbonyl-propyl)-piperasin-1-karboksytsyre tert-butyl ester (0,095 g, 0,25 mmol) under argon ble mettet saltsyre (3 ml, 37%) tilsatt og
 5 blandingen ble varmet under argon til reflux i 2,5 timer. Løsningen ble konsentrert under redusert trykk som ga tittelforbindelsen som hydrokloridsaltet (0,071 g, kvantitativt).

¹H NMR (300 MHz, D₂O): δ 3,86-3,49 (m, 10H), 3,36-3,28 (m, 1H), 3,01-2,88 (m,
 10 2H).

MS 205 (M+H)

Eksempel 273-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-pentansyre15 a) 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-propyl]-malonsyre dietyl ester

Til en rørt suspensjon av kobber jodid (5,71 g, 30 mmol) i dietyl eter (120 ml) under argon ble det tilsatt etylmagnesium bromid (3M løsning i dietyl eter, 20 ml, 20 mmol)
 20 innen 10 minutter ved 0°C. Etter 5 minutters røring ble reaksjonsblandingen avkjølt til -78°C og en løsning av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetylen)-malonsyre dietyl ester (5,47 g, 15,0 mmol) i tetrahydrofuran (60 ml) ble tilsatt dråpevis i løpet av 0,5 timer. I løpet av denne perioden ble tetrahydrofuran (40 ml) tilsatt. Blandingen ble rørt ved -40°C i 2,5 timer. Deretter ble en løsning av ammoniumklorid (5%) i vandig
 25 ammoniakk løsning (5%) tilsatt ved kraftig røring, fulgt av overskudd luft, og blandingen ble varmet til romtemperatur. Blandingen ble ekstrahert to ganger med etylacetat. De -kombinerte organiske sjiktene ble vasket suksessivt med vandig ammoniakk løsning (5%) og saltvann, tørket over magnesium sulfat. Løsemidlet ble fjernet under redusert trykk og residuet ble rekrystallisert fra en blanding av diisopropyl eter og tetra-
 30 hydrofuran (5:1, vol./vol.) som ga 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-propyl]-malonsyre dietyl ester (3,23 g, 55%).

b) 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-propyl]-malonsyre monoetyl ester

35 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-propyl]-malonsyre dietyl ester (3,23 g, 8,19 mmol) ble løst i en blanding av diklormetan (12 ml) og etanol (24 ml, 99,5%). Til denne løsningen ble det dråpevis tilsatt en løsning av kalium hydroksid (0,528 g, 87%,

8,20 mmol) i etanol (16 ml, 99,5%) ved 0°C i løpet av 0,5 timer. Røring fortsatte i 16 timer mens blandingen ble varmet til romtemperatur. Etter konsentrering under redusert trykk til 5-10 ml, ble vann (50 ml) tilsatt og den resulterende emulsjon ble rørt i 0,5 timer og deretter filtrert. Filtratet ble vasket to ganger med en blanding av etyl acetat og dietyl eter (2:1, vol/vol). Det vandig sjiktet ble surgjort ved tilsetning av en løsning av sitronsyre i vann (10%) for å nå en pH på 4 til 5, og ekstrahert tre ganger med etyl acetat. De kombinerte organiske sjiktene ble vasket med saltvann, tørket over magnesium sulfat og løsemidlet ble fjernet under redusert trykk som ga 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-propyl]-malonsyre monoetyl ester (2,47 g, 82%).

c) 2-[1-(6-tert-butoksykarbonyl-pyridin-3-yl)-propyl]-akrylsyre etyl ester

Til en løsning av 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-propyl]-malonsyre monoetyl ester (2,45 g, 6,69 mmol) i diklormetan (11 ml) ble det tilsatt en vandig løsning av formaldehyd (0,49 ml, 37%) og dietylamin (0,62 ml, 6,4 mmol) ved 0°C. Etter kraftig røring av blandingen i 16 timer ble vann (40 ml) og etyl acetat (40 ml) tilsatt. Etter ytterligere 2 minutters røring ved romtemperatur ble sjiktene separert og det vandige sjiktet ekstrahert to ganger med etyl acetat. De kombinerte organiske sjiktene ble vasket med en mettett vandig løsning av natrium hydrogenkarbonat og saltvann. Etter tørking over natrium sulfat ble løsemidlet fjernet under redusert trykk som ga 2-[1-(6-tert-butoksykarbonyl-pyridin-3-yl)-propyl]-akrylsyre etyl ester (1,21 g, 54%).

d) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-pentansyre etyl ester

2-[1-(6-tert-butoksykarbonyl-pyridin-3-yl)-propyl]-akrylsyre etyl ester (1,20 g, 3,59 mmol) ble løst i tioleddiksyre (4 ml) under argon og trietylamin (0,56 ml, 4,0 mmol) ble tilsatt. Blandingens ble varmet til 60°C. Etter 22 timer ble tioleddiksyre (2 ml) tilsatt. Etter ytterligere 14 timer ble blandingen avkjølt til romtemperatur og en mettett løsning av natrium hydrogenkarbonat ble tilsatt sakte for å oppnå en nøytral løsning. Denne ble ekstrahert tre ganger med etyl acetat. De kombinerte organiske sjiktene ble vasket med vandig mettett natrium hydrogenkarbonatløsning og saltvann, og tørket over magnesium sulfat. Etter konsentrering under redusert trykk ble residuet renset ved kolonne kromatografi (silika gel, 1,7% metanol i diklormetan) som ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-pentansyre etyl ester (1,22 g, 83%).

Blandingen av diastereomerer ble separert i preparativ skala ved kiral kromatografi ved anvendelse av Chiralpak AD kolonne (250* 4,6 mm) som stasjonær fase og heksan (blanding av isomerer/etanol blanding (85:15), som inneholder dietylamin (0,05%) ved en strømningshastighet på 1 ml/min. med en prøvekonsentrasjon på 5 mg/ml.

5

Det enantiomere overskuddet ble bestemt analytisk ved kiral HPLC på samme kolonne med heksan/etanol blanding (85:15) som eluent.

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-pentansyre etyl ester/A:

10

Retensjonstid 10,72 min, ee = 99%.

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-pentansyre etyl ester/B

15

Retensjonstid 14,41 min, ee = 98%.

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-pentansyre etyl ester/C

Retensjonstid 23,0 min, ee = 98%.

20

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-pentansyre etyl ester/D

Retensjonstid 29,83 min, ee = 97%.

25 e) 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-pentansyre

Saltsyre (38%, 4 ml) ble tilsatt til

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-pentansyre etyl ester (0,041 g, 0,1 mmol) under argon og blandinge ble varmet til reflux i 4 timer.

30

Konsentrering under redusert trykk og tørking (45°C, 0,3 mbar) ga tittelforbindelsen som hydrokloridsaltet (0,027 mg, 97%).

3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-pentansyre/A

Denne forbindelsen ble oppnådd fra 3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-pentansyre etyl ester/A ved fremgangsmåten beskrevet ovenfor.

35

^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 7,79 (dd, 1H), 7,69 (d, 1H), 7,05 (d, 1H), 2,81 (m, 2H), 2,51 (m, 2H), 1,66 (m, 2H), 0,72 (t, 3H),
MS + 241 (M+H).

5 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-pentansyre/B

Denne forbindelsen ble oppnådd fra 2-asetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-pentansyre etyl ester/B ved fremgangsmåten beskrevet ovenfor.

10 ^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 7,85 (dd, 1H), 7,64 (d, 1H), 7,01 (d, 1H), 2,98-2,64 (m, 4H), 1,89 (m, 1H), 1,60 (m, 1H), 0,74 (t, 3H).
MS+ 241 (M+H).

3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-pentansyre/C

15 Denne forbindelsen ble oppnådd fra 2-asetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-pentansyre etyl ester/C ved fremgangsmåten beskrevet ovenfor.

20 ^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 7,85 (dd, 1H), 7,64 (d, 1H), 7,01 (d, 1H), 2,98-2,64 (m, 4H), 1,89 (m, 1H), 1,60 (m, 1H), 0,74 (t, 3H).
MS+ 241 (M+H).

3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-pentansyre/D

25 Denne forbindelsen ble oppnådd fra 2-asetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-pentansyre etyl ester/D ved fremgangsmåten beskrevet ovenfor.

30 ^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 7,79 (dd, 1H), 7,69 (d, 1H), 7,05 (d, 1H), 2,81 (m, 2H), 2,51 (m, 2H), 1,66 (m, 2H), 0,72 (t, 3H).
MS+ 241 (M+H).

Eksempel 28**3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-4-metyl-pentansyre**5 **2-[1-(6-tert-butoksykarbonyl-pyridin-3-yl)-2-metyl-propyl]-malonsyre dietyl ester**

Til en rørt løsning av kobber syanid (3,58 g, 40 mmol) i tetrahydrofuran (50 ml) ved -15°C ble en løsning av isopropylmagnesium bromid (40 ml, 2 M, 80 mmol) i tetrahydrofuran tilsatt under argon i løpet av 15 minutter. Etter ytterligere 15 minutters
 10 røring ble en løsning av 2-(6-tert-butoksykarbonyl-pyridin-3-ylmetylen)-malonsyre dietyl ester (3,78 g, 10,4 mmol) i tetrahydrofuran (50 ml) tilsatt dråpevis i løpet av 15 minutter. Etter røring i 16 timer ble blandingen varmet til romtemperatur. Deretter ble en løsning av ammonium klorid (5%) i vandig ammoniakk løsning (5%) tilsatt under kraftig røring med tilgang på overskudd av luft. Blanding ble ekstrahert to ganger
 15 med etyl acetat. De kombinerte organiske sjiktene ble vasket suksessivt med vandig ammoniakk løsning (5%) og saltvann, og tørket over magnesium sulfat. Løsemidlet ble fjernet under redusert trykk og residuet ble rensset med kolonne kromatografi (silika gel, 1,7% metanol i diklormetan) som ga urent 2-[1-(6-tert-butoksykarbonyl-pyridin-3-yl)-2-metyl-propyl]-malonsyre dietyl ester (2,85 g, 25%).

20

a) **2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-metyl-propyl]-malonsyre monoetyl ester**

Til en løsning av 2-[1-(6-tert-butoksykarbonyl-pyridin-3-yl)-2-metyl-propyl]-malonsyre dietyl ester (1,569 g, 3,84 mmol) i en blanding av diklormetan (6 ml) og etanol (12 ml,
 25 95%) ble ved 0°C en løsning av kalium hydroksid (0,272 g, 85%, 4,2 mmol) i etanol (6 ml, 95%) dråpevis tilsatt i løpet av 40 minutter. Etter ytterligere en times røring ble blandingen varmet til romtemperatur og rørt i ytterligere 18 timer. Deretter ble vann (30 ml) og diklormetan (30 ml) tilsatt og etter 3 minutters røring ble sjiktene separert.
 30 Den organiske fasen ble ekstrahert en gang med vann og de kombinerte vandige fasene ble vasket en gang med eter. Deretter ble en vandig løsning av sitronsyre (10%) tilsatt for å justere pH til 4 og løsningen ekstrahert tre ganger med etyl acetat. De kombinerte organiske sjiktene ble vasket med saltvann og tørket over magnesium sulfat. Etter fordampning av løsemidlet ble urent 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-
 35 2-metyl-propyl]-malonsyre monoetyl ester (0,94 g, 64%) oppnådd.

b) 2-[1-(6-tert-butoksykarbonyl-pyridin-3-yl)-2-metyl-propyl]-akrylsyre etyl ester

Til en løsning av 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-metyl-propyl]-malonsyre monoetyl ester (0,94 g, 2,47 mmol) i diklormetan (4 ml) ble det tilsatt en vandig løsning av formaldehyd (0,18 ml, 37%) og dietylamin (0,23 ml, 2,32 mmol) ved 0°C. Etter kraftig røring av blandingen i 16 timer ble vann (30 ml) og etyl acetat (30 ml) tilsatt. Etter ytterligere to timers røring ved romtemperatur ble sjiktene separert og det vandige sjiktet ble ekstrahert to ganger med etyl acetat. De kombinerte organiske sjiktene ble vasket med mettet vandig løsning og natrium hydrogenkarbonat og saltvann. Etter tørking over natrium sulfat ble løsemidlet fjernet under redusert trykk og residuet ble renset med kolonne kromatografi (silika gel, 1,7% metanol i diklormetan) som ga 2-[1-(6-tert-butoksykarbonyl-pyridin-3-yl)-2-metyl-propyl]-akrylsyre etyl ester (0,24 g, 28%).

c) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-4-metyl-pentansyre etyl ester

2-[1-(6-tert-butoksykarbonyl-pyridin-3-yl)-2-metyl-propyl]-akrylsyre etyl ester (0,431 g, 1,24 mmol) ble løst i tioleddiksyre (4 ml) under argon og trietylamin (0,21 ml, 1,5 mmol) ble tilsatt. Blandingen ble varmet til 60°C. Etter 24 timer ble tioleddiksyre (2 ml) tilsatt. Etter ytterligere 20 timer ble blandingen avkjølt til romtemperatur og en mettet løsning av natrium hydrogenkarbonat ble sakte tilsatt for å oppnå en nøytral løsning. Denne ble ekstrahert tre ganger med etyl acetat. De kombinerte organiske sjiktene ble vasket med vandig mettet natrium hydrogenkarbonatløsning og saltvann og tørket over magnesium sulfat. Etter konsentrering under redusert trykk ble residuet renset med kolonne kromatografi (silika gel, 1,7% metanol i diklormetan) som ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-4-metyl-pentansyre etyl ester (0,284 g, 54%) som en blanding av diastereomerer (6:1).

d) 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-4-metyl-pentansyre

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-4-metyl-pentansyre etyl ester (0,085 g, 0,20 mmol) ble løst i argon og tilsatt mettet saltsyre (5 ml, 37%) og varmet til reflux under argon i 5,5 timer. Konsentrasjon under redusert trykk og tørking ved 45°C/0,3 mbar ga tittelforbindelsen som hydrokloridsaltet (0,058 g, 99%) som en blanding diastereomerer (6:1).

¹H NMR (300 MHz, D₂O): δ 7,81 (m, 1H), 7,62 (m, 1H), 6,98 (m, 1H), 3,18-3,06 (m, 1H), 2,93-2,40 (m, 3H), 2,23-1,93 (m, 1H), 0,93-0,74 (m, 6H).
MS 255 (M+H).

5 Eksempel 29

3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-3-fenyl-propionsyre

a) 2-[(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-fenyl-metyl]-malonsyre dietyl ester

10 Til en kraftig rørt suspensjon av kobber(I)syanid (1,71 g, 19,06 mmol) i tørr THF (18 ml) ble det tilsatt en løsning av fenylmagnesiumbromid (12,7 ml 3M i eter, 38,11 mmol) ved 0°C under argon. Blandingen ble varmet til romtemperatur som ga en mørkebrun løsning. Etter 150 minutter ble en løsning av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetylen)-malonsyre dietyl ester (1,74 g, 4,76 mmol) i tørr THF (19 ml) tilsatt ved
15 0°C. Blandingen ble rørt i 3 dager og deretter ble en vandig ammoniumklorid løsning tilsatt. Det vandige sjiktet ble separert og ekstrahert med etyl acetat. De kombinerte organiske sjiktene ble vasket med saltvann og tørket. Fjerning av løsemidlet i vakuum ga et residue som ble suspendert i heksan. Filtrering av krystallene ga 2-[(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-fenyl-metyl]-malonsyre dietyl ester (1,85 g, 88%).

20

b) 2-[(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-fenyl-metyl]-malonsyre monetyl ester

En løsning av KOH (0,266 g, 4,11 mmol) i etanol (14 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-[(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-fenyl-metyl]-malonsyre dietyl ester (1,82
25 g, 4,11 mmol) i etanol (12 ml) og metylen klorid (13 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt over natten ved romtemperatur. Mer KOH (80 mg oppløst i 3 ml etanol) ble tilsatt ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt i ytterligere 18 timer. Blandingen ble konsentrert under redusert trykk og etyl acetat og 0,5 M HCl ble tilsatt til residuet. Det organiske sjiktet ble vasket med saltvann og tørket. Etter filtrering og fordampning i vakuum ble
30 residuet suspendert i heksan. Filtrering av krystallene ga 2-[(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-fenyl-metyl]-malonsyre monetyl ester (1,7 g, 98%).

35

b) 2-[(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-fenyl-metyl]-akrylsyre etyl ester

Dietylamin (0,52 ml, 5,04 mmol) ble tilsatt til en blanding av 2-[(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-fenyl-metyl]-malonsyre monetyl ester (1,7 g, 4,1

mmol) og 37% vandig løsning av formaldehyd (0,42 ml, 5,6 mmol) i metylenklorid (6,5 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt over natten ved romtemperatur og deretter fortynnet med etyl acetat. Det organiske sjiktet ble vasket med vandig mettet natrium bikarbonat og saltvann og tørket. Etter filtrering og fordampning i vakuum ble det urene produktet
 5 rensset med flash kromatografi (CH₂Cl₂) som ga 2-[(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-fenyl-metyl]-akrylsyre etyl ester (0,36 g, 23%).

c) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-3-fenyl-propionsyre etyl ester

10

Trietylamin (0,105 g, 1,04 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-[(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-fenyl-metyl]-akrylsyre etyl ester (0,36 g, 0,94 mmol) i tioeddiksyre (4 ml) ved 0°C under argon. Blandingen ble oppvarmet ved 45°C i 24 timer. Etyl acetat ble tilsatt og den organiske fasen ble vasket med mettet vandig
 15 natrium bikarbonat og saltvann og tørket. Etter filtrering og fordampning i vakuum ble det urene produktet rensset med flash kromatografi (toluen/etyl acetat, 1:0 → 5:1) som ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-3-fenyl-propionsyre etyl ester (0,314 g, 73%).

20 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-3-fenyl-propionsyre

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-3-fenyl-propionsyre etyl ester (58 mg, 0,125 mmol) ble løst i konsentrert HCl (3,0 ml). Løsningen ble varmet til reflux i 130 minutter under argon. Konsentrering under
 25 redusert trykk ga tittelforbindelsen som hydrokloridsaltet (41 mg, 100%).

¹H NMR (500 MHz, D₂O): δ 8,03-7,83 (m, 2H), 7,5-7,3 (m, 5H), 7,05-6,95 (m, 1H), 4,27-4,15 (m, 1H), 3,6-3,45 (m, 1H), 2,84-2,58 (m, 2H).

MS (+), 3,6-3,45 (m, 1H), 2,84-2,58 (m, 2H).

30

Eksempel 30

3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-4-fenyl-smørsyre

35

a) 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-fenyl-etyl]-malonsyre dietyl ester

Til en kraftig rørt suspensjon av kobber(I)syanid (0,66 g, 7,32 mmol) i tørr THF (5 ml) ble det tilsatt en løsning av bensylmagnesium bromid (5 ml, 2,93 M i eter, 14,64 mmol) ved 0°C under argon. Blandingen ble varmet til romtemperatur som ga en mørkebrun løsning. Etter 60 minutter ble en løsning av 2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetylen)-malonsyre dietyl ester (0,67 g, 1,83 mmol) i tørr THF (4 ml) tilsatt ved 0°C. Blandingen ble rørt over natten ved romtemperatur og deretter ble vandig ammoniumklorid tilsatt. Det vandige sjiktet ble separert og ekstrahert med etyl acetat. De kombinerte organiske sjiktene vasket med saltvann og tørket. Fjerning av løsemidlet i vakuum ga et residue som ble rensert med flash kromatografi (CH₂Cl₂/etyl acetat, 1:0 → 100:15) som ga 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-fenyl-etyl]-malonsyre dietyl ester (0,44 g, 53%).

b) 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-fenyl-etyl]-malonsyre monoetyl ester

En løsning av KOH (0,067 g, 1,03 mmol) i etanol (3 ml) ble tilsatt til en løsning av 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-fenyl-etyl]-malonsyre dietyl ester (0,44 g, 0,96 mmol) i etanol (3 ml) og metylen klorid (2 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt i 48 timer ved romtemperatur. Blandingen ble konsentrert under redusert trykk og etyl acetat og 0,5 M HCl ble tilsatt til residuet. Det organiske sjiktet ble vasket med saltvann og tørket. Filtrering og fordampning i vakuum ga 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-fenyl-etyl]-malonsyre monoetyl ester (0,37 g, 90%).

c) 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-fenyl-etyl]-akrylsyre etyl ester

Dietylamin (0,27 ml, 2,59 mmol) ble tilsatt til en blanding av 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-fenyl-etyl]-malonsyre monoetyl ester (0,37 g, 0,86 mmol) og 37% vandig løsning av formaldehyd (0,22 ml, 2,9 mmol) metylen klorid (3,5 ml) ved 0°C. Blandingen ble rørt over natten ved romtemperatur. Mer formaldehyd (0,24 ml) og dietylamin (0,24 ml) ble tilsatt. Røring ved romtemperatur fortsatte i 18 timer og etyl acetat og vann ble deretter tilsatt. Det organiske sjiktet ble vasket med vandig mett natrium bikarbonatløsning og saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk som ga 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-fenyl-etyl]-akrylsyre etyl ester (0,34 g, 99%).

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-4-fenyl-smørsyre etyl ester

Trietylamin (0,096 g, 0,95 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-[1-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-fenyl-etyl]-akrylsyre etyl ester (0,34 g, 0,86 mol) i tioeddiksyre (3,5 ml) ved 0°C under argon. Blandingen ble varmet til 45°C i 24 timer. Etyl acetat ble tilsatt og den organiske fasen ble vasket med vandig mettet natrium bikarbonat løsning og saltvann og tørket. Etter filtrering og fordampning i vakuum ble det urene produktet rensert med flash kromatografi (CH₂Cl₂/etyl acetat, 1:0 → 100:5) som ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-4-fenyl-smørsyre etyl ester (0,264 g, 65%).

d) 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-4-fenyl-smørsyre

2-acetylsulfanylmetyl-3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-4-fenyl-smørsyre etyl ester (0,14 g, 0,3 mmol) ble løst i konsentrert HCl (5,0 ml). Løsningen ble varmet til reflux i 4,5 timer under argon. Konsentrering under redusert trykk ga tittel-forbindelsen som hydrokloridsaltet (100 mg, 98%).

¹H NMR (500 MHz, D₂O): δ 7,90-7,83 (m, 1H), 7,43 (d, 1H), 7,34-7,18 (m, 3H), 7,17-7,06 (m, 2H), 7,01-6,9 (m, 1H), 3,4-2,5 (m, 6H).
MS (+) 303 (M+1)

Eksempel 31

25 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkaptometyl-5-fenyl-pentansyre

a) etyl (E,Z)-2-({6-[(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-pyridinyl}metyl)-5-fenyl-2-pentenoat

Til en suspensjon av NaH (310 mg, 7,12 mmol, 55% i mineralolje) i THF (25 ml) ved 0°C under argon ble det tilsatt en løsning av etyl 3-({6-[(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-pyridinyl}-2-(dioksyfosforyl)propanoat (2,55, 5,95 mmol) i THF (25 ml). Etter 1 time ble en løsning av 3-fenylpropanal (1,59 g, 11,9 mmol) tilsatt dråpevis. Reaksjonen ble rørt i 17 timer ved romtemperatur og deretter stoppet med NH₄Cl (50 ml, mettet, vandig). Blandingen ble ekstrahert med etyl acetat, det organiske sjikt ble vasket med saltvann, tørket (Na₂SO₄), filtrert og konsentrert under redusert trykk. Kolonne

kromatografi (CH₂Cl₂/EtOAc 20:1 → 10.1) ga etyl (E,Z)-2-(6-[(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-pyridinyl)metyl-5-fenyl-2-pentenoat (2,49 g, 100%).

b) etyl 3-(acetylsulfanyl)-2-(6-[(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-pyridinyl)metyl-5-fenylpentenoat

Trietylamin (1,22 ml, 0,617 mmol) ble tilsatt til en løsning av etyl (E,Z)-2-(6-[(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-pyridinyl)metyl-5-fenyl-2-pentenoat (400 mg, 0,597 mmol) i tioeddiksyre (10 ml) ved 40°C. Etter røring i 90 minutter ble blandingen konsentrert under redusert trykk. Kolonne kromatografi (CH₂Cl₂/EtOAc 20:1 → 10,1), deretter (toluen/EtOAc, 10:1) og deretter (heptan/EtOAc 2:1) ga etyl 3-(acetylsulfanyl)-2-(6-[(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-pyridinyl)metyl-5-fenylpentenoat (126 mg, 27%) som en diastereomerisk blanding 1:1.

c) 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkapt-5-fenyl-pentansyre

Etyl 3-(acetylsulfanyl)-2-(6-[(tert-butoksykarbonyl)amino]-3-pyridinyl)metyl-5-fenylpentenoat (9 mg, 18,5 µmol) ble løst i konsentrert HCl (1 ml) under argon.

Løsningen ble varmet til reflux i 4,5 timer. Konsentrering under redusert trykk ga tittelforbindelsen som hydrokloridsaltet (6,4 mg, 98%) som en diastereomer blanding 1:1.

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 1,78-2,20 (m, 2H), 2,70-3,04 (m, 6H), 6,88, 6,92 (2d, 1H), 7,22-7,39 (m, 5H), 7,52, 7,54 (2d, 1H), 7,69, 7,76 (2d, 1H).

MS (+) 317 (M+1).

Eksempel 32

3-[3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-etoksykarbonyl-propyl]disulfanyl-2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-propionsyre etyl ester

a) 3-[3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-etoksykarbonyl-propyl]disulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-propionsyre etyl ester

3-acetylsulfanyl-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-propionsyre etyl ester (150 mg, 0,392 mmol) ble løst i etanol (15 ml) mettet med NH₃ (g). Etter røring i 160 minutter ble blandingen konsentrert under redusert trykk. Residuet ble løst i EtOH

(10 ml) hvoretter en løsning av I_2 i EtOH (0,5 M, 0,784 ml) ble tilsatt. Reaksjonsblandingen ble rørt i 30 minutter ved romtemperatur, deretter fortynnet med CH_2Cl_2 , vasket med mettet vandig $Na_2S_2O_5$ og mettet vandig $NaHCO_3$, tørket, filtrert og konsentrert under redusert trykk som ga 3-[3-(6-tert-butoksykarbonyl-amino-pyridin-3-yl)-2-etoksykarbonyl-propyl-disulfanyl]-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-propionsyre etyl ester (130 mg, 98%).

b) 3-[3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-etoksykarbonyl-propyl-disulfanyl]-2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-propionsyre etyl ester

Etylacetat med HCl (g) (15 ml) ble tilsatt til en løsning av 3-[3-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-yl)-2-etoksykarbonyl-propyl-disulfanyl]-2-(6-tert-butoksykarbonylamino-pyridin-3-ylmetyl)-propionsyre etyl ester (130 mg, 0,191 mmol) i etyl acetat (7ml) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble holdt ved romtemperatur og rørt i 19 timer, og deretter fordampet under redusert trykk. Residuet ble løst i vann, mettet vandig Na_2CO_3 ble tilsatt og den vandige fasen ble ekstrahert med CH_2Cl_2 . Det organiske sjiktet ble tørket og konsentrert under redusert trykk som ga tittelforbindelsen (90 mg, 98%).

^1H NMR (400 MHz, D_2O): δ 1,19 (t, 3H), 1,20 (t, 3H), 2,68-2,86 (m, 6H), 2,90-3,01 (m, 4H), 4,07-4,14 (m, 4H), 6,45 (d, 2H), 7,28 (m, 2H), 7,87 (s, 2H).
MS (+) 479 (M+1).

Eksempel 33

3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-heksansyre

a) N-(5-butyryl-pyridin-2-yl)-2,2-dimetyl-propionamid

En løsning av N-(5-brompyridin-2-yl)-2,2-dimetyl-propionamid (3,582 g, 13,9 mmol) i dietyl eter (36 ml) ble avkjølt til -38°C under argon og n-butyllitium (1,6 M, 19 ml, 30,4 mmol) ble tilsatt dråpevis i løpet av 20 minutter. 5 minutter etter fullstendig tilsetning ble blandingen varmet til 0°C. N-metoksy-N-metyl butyramid (3,65 g, 27,8 mmol) ble tilsatt i løpet av mindre enn 5 minutter og røringen fortsatt i 45 minutter. Den klare løsningen ble surgjort med 2N saltsyre til pH 2. Etter kraftig røring i 15 minutter ble blandingen nøytralisert med natrium hydrogen karbonat og sjiktene ble separert. Det vandige sjiktet ble ekstrahert tre ganger med dietyl eter. De kombinerte organiske sjiktene ble vasket med saltvann, tørket og konsentrert under redusert trykk. Den

resulterende oljen ble tørket i oljepumpevakuum for å fjerne overskuddet reagens. Etter flash kromatografi (diklormetan/metanol 60:1) ble urent N-(5-butyryl-pyridin-2-yl)-2,2-dimetyl-propionamid (2,47 g, 71%) oppnådd som en lys oransje olje som ikke ble ytterligere rensset.

5

b) N-[5-(1-hydroksy-butyl)-pyridin-2-yl]-2,2-dimetyl-propionamid

Til en løsning av N-(5-butyryl-pyridin-2-yl)-2,2-dimetyl-propionamid (2,47 g, 9,95 mmol) i etanol (20 ml) ble natrium borhydrid (185 mg, 5,0 mmol) tilsatt. Etter 40 minutters røring ved romtemperatur ble blandingen surgjort med 1N saltsyre til pH2 og rørt i 10 minutter. Etter nøytralisering med natrium hydrogenkarbonat ble blandingen ekstrahert tre ganger med diklormetan. De kombinerte organiske ekstraktene ble vasket to ganger med natrium hydrogen karbonat løsning og en gang med saltvann. Etter tørking og konsentrering under redusert trykk ble residuet rensset med flash kromatografi (diklormetan/metanol 30:1) som ga N-[5-(1-hydroksy-butyl)-pyridin-2-yl]-2,2-dimetyl-propionamid (1,025 g, 41%).

15

c) 2-{1-[6-(2,2-dimetyl-propionylamino)-pyridin-3-yl]butyl}-malonsyre monoetyl ester

20

Til en løsning av N-[5-(1-hydroksy-butyl)-pyridin-2-yl]-2,2-dimetyl-propionamid (1,025 g, 4,09 mmol) i triklormetan (12 ml), ble tionylklorid (6 ml) tilsatt og blandingen ble varmet til 55°C i 1 time. Deretter ble løsningen konsentrert under redusert trykk som ga urent N-[5-(1-klor-butyl)-pyridin-2-yl]-2,2-dimetyl-propionamid hydroklorid som et fargeløst fast stoff.

25

Til en løsning av dietyl malonat (1,31 g, 8,2 mmol) i dimetylformamid (20 ml) ble natrium hydrid (60% dispersjon i mineral olje, 350 mg, 8,7 mmol) tilsatt og blandingen ble rørt ved romtemperatur i 15 minutter. Etter avkjøling til 0°C ble løsningen av intermediatet N-[5-(1-klor-butyl)-pyridin-2-yl]-2,2-dimetyl-propionamid hydroklorid i dimetylformamid (5 ml) tilsatt. Etter 1 times røring ble løsemidlet konsentrert under redusert trykk og etyl acetat (25 ml) ble tilsatt fulgt av ammonium klorid løsning (halvmettet) for nøytralisering. Sjøktene ble separert, den vandige fasen ble ekstrahert med etyl acetat og de kombinerte organiske sjøktene ble vasket tre ganger med vann og saltvann, og tørket. Etter konsentrering under redusert trykk ble residuet filtrert gjennom silika gel med diklormetan/metanol blanding (30:1) som løsemiddel.

35

Denne urene 2-{1-[6-(2,2-dimetyl-propionylamino)-pyridin-3-yl]butyl}-malonsyre dietyl ester ble løst i en blanding av diklormetan (2,5 ml) og etanol (5 ml) ved 0°C og en løsning av kalium hydroksid (87%, 111 mg, 5,4 mmol) i etanol (4 ml) ble tilsatt.

Blandingen ble varmet opp forsiktig til romtemperatur og røringen fortsatte i 24 timer.

- 5 Deretter ble diklormetan (20 ml), vann (20 ml) og saltvann (3 ml) tilsatt. Blandingen ble rørt kraftig i 2 minutter. Deretter ble sjiktene separert og det vandig sjiktet vasket med diklormetan. De kombinerte vandige sjiktene ble surgjort (pH 5) med sitronsyre, og ekstrahert tre ganger med diklormetan. De kombinerte organiske sjiktene ble vasket med saltvann og tørket. Konsentrering under redusert trykk ga 2-{1-[6-(2,2-dimetyl-propionylamino)-pyridin-3-yl]butyl}-malonsyre monoetyl ester (258 g, 41%),

d) 2{1-[6-(2,2-dimetyl-propionylamino)-pyridin-3-yl]-butyl}-akrylsyre etyl ester

- Til en løsning av 2-{1-[6-(2,2-dimetyl-propionylamino)-pyridin-3-yl]butyl}-malonsyre monoetyl ester (712 mg, 1,95 mmol) i THF (6,5 ml) ved 0°C ble formaldehyd (37% i vann, 0,3 ml) tilsatt i løpet av 5 minutter. Røring fortsatte i 10 minutter og deretter ble piperidin (0,26 ml, 2,63 mmol) tilsatt dråpevis i løpet av 10 minutter. Blandingen ble varmet opp til romtemperatur over natten. Etter 14 timer ble blandingen konsentrert under redusert trykk som ga en tredjedel av volumet og deretter ble eter og vann tilsatt (15 ml hver). Etter 2 minutters kraftig røring ble sjiktene separert, det vandige sjiktet ekstrahert med eter og de kombinerte organiske sjiktene ble vasket med vann, 4% sitronsyre, vann og saltvann. Tørking og konsentrering under redusert trykk ga 2{1-[6-(2,2-dimetyl-propionylamino)-pyridin-3-yl]-butyl}-akrylsyre etyl ester (550 mg, 85%) som et fargeløst fast stoff.

25

e) 2-acetylsulfanylmetyl-3-[6-(2,2-dimetyl-propionylamino)-pyridin-3-yl]-heksansyre etyl ester

- 2{1-[6-(2,2-dimetyl-propionylamino)-pyridin-3-yl]-butyl}-akrylsyre etyl ester (550 mg, 1,65 mmol) ble løst under argon i tioleddiksyre (4 ml), og trietylamin (0,24 ml, 1,7 mmol) ble dråpevis tilsatt. Etter røring i 16 timer ved 50°C ble tioleddiksyre (2 ml) tilsatt og røring fortsatte i 14 timer. Løsningen ble avkjølt til romtemperatur og nøytralisert ved tilsetning av natrium hydrogen karbonat løsning. Blandingen ble ekstrahert tre ganger med etyl acetat, de kombinerte ekstraktene ble vasket med natrium hydrogen karbonat løsning og saltvann. Etter tørking og konsentrering under redusert trykk ble residuet renset med flash kromatografi (diklormetan/metanol, 60:1) som ga 2-

35

acetylsulfanylmetyl-3-[6-(2,2-dimetyl-propionylamino)-pyridin-3-yl]-heksansyre etyl ester (619 mg, 92%) som en viskøs olje.

f) 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-heksansyre

2-acetylsulfanylmetyl-3-[6-(2,2-dimetyl-propionylamino)-pyridin-3-yl]-heksansyre etyl ester (40,4 mg, 99 μ mol) ble løst under argon i vandig saltsyre (37%, 4,2 ml) og varmet til reflux i 2 timer. Konsentrering under redusert trykk (0,3 torr, 40°C) ga tittelforbindelsen som hydrokloridsaltet (28 mg, 97%).

^1H NMR (300 MHz, D_2O): δ 7,86 (d, 1H), 7,65 (d, 1H), 7,02 (t, 1H), 2,98-2,42 (m, 4H), 1,85-1,54 (m, 2H), 1,19-1,00 (m, 2H), 0,87-0,77 (m, 3H).
MS (+) 255 (M+1).

Eksempel 34

3-(2-amino-tiasol-5-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre

a) 2-(2-amino-tiasol-5-ylmetylen)-malonsyre dietylester

Til en løsning av 2-amino-tiasol-5-karbaldehyd (47%, 6 g, 23 mmol) i CH_2Cl_2 (30 ml) og DMF (30 ml) ble det tilsatt 4A molekyl sikt, dietyl malonat (3,5 ml, 23 mmol), piperidin (1,1 ml, 11,5 mmol) og eddiksyre (0,7 ml, 11,5 mmol). Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur i 96 timer. Deretter ble EtOAc tilsatt og reaksjonsblandingen ble filtrert gjennom celite for å fjerne det dannede presipitatet. EtOAc (500 ml) ble tilsatt til filtratet og den organiske fasen ble vasket med NaHCO_3 og saltvann. Den organiske fasen ble tørket og konsentrert som ga 4,9 g av det urene produktet. Tilsetning av petroleum eter til løsningen av det urene produktet i etanol fulgt av filtrering ga 2-(2-amino-tiasol-5-ylmetylen)-malonsyre dietylester (1,13 g, 18%).

b) 2-(2-amino-tiasol-5-ylmetylen)-malonsyre dietylester

NaCNBH_3 (1,88 g, 29,9 mmol) ble tilsatt til en rørt løsning av 2-(2-amino-tiasol-5-ylmetylen)-malonsyre dietylester (1,13 g, 4,2 mmol) i etanol ved 0°C. pH til løsningen ble overvåket ved tilsetning av små mengder Bromocresol Green til løsningen.

Konsentrert HCl ble tilsatt dråpevis til løsningen ble gul. Isbadet ble fjernet og reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur i 5 timer. Vann ble tilsatt og produktet

ble ekstrahert med CH_2Cl_2 . De kombinerte organiske fasene ble tørket og konsentrert som ga 2-(2-amino-tiasol-5-ylmetylen)-malonsyre dietyl ester (1 g, 87,8%).

c) 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-tiasol-5-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester

5 BOC₂O (0,6 g, 27,5 mmol) ble tilsatt til en løsning av trietyl amin (0,4 ml, 30,1 mmol), 4-(dimetylamino)pyridin (0,34 g, 27,8 mmol) og 2-(2-amino-tiasol-5-ylmetylen)-malonsyre dietyl ester (0,75 g, 27,5 mmol) i CH_2Cl_2 (5 ml) ved 0°C. Reaksjonsblanding ble rørt ved romtemperatur over natten. Ytterligere BOC₂O (0,15 g, 0,7 mmol) ble tilsatt ved 0°C og reaksjonsblanding ble rørt ved romtemperatur i 1 time. CH_2Cl_2 ble tilsatt og den organiske fasen ble ekstrahert med 0,3 M KHSO_4 og saltvann. Den organiske fasen ble tørket og konsentrert som ga 0,78 g av det urene produktet. NMR indikerte at ca. 40% av 2-(2-amino-tiasol-5-ylmetylen)-malonsyre dietyl ester var igjen. BOC₂O (0,6 g, 27,5 mmol) ble tilsatt til en løsning av det urene produktet (0,78 g), trietylamin (0,4 ml, 30,1 mmol), 4-(dimetylamino)-pyridin (0,34 g, 27,8 mmol) i CH_2Cl_2 (5 ml) ved 0°C. Reaksjonsblanding ble rørt ved romtemperatur over natten og opparbeidingsprosedyren ble gjentatt. Det urene produktet (1 g) ble rensert med flash kromatografi (heptan/EtOAc, 1:1) og HPLC som ga 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-tiasol-5-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (184 mg, 17,9%).

d) 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-tiasol-5-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester

2-(2-tert-butoksykarbonylamino-tiasol-5-ylmetyl)-malonsyre dietyl ester (158 mg, 0,43 mmol) ble løst i etanol (1 ml) og THF (0,5 ml) og en løsning av KOH (24 mg, 0,43 mmol) i etanol (0,14 ml) ble tilsatt ved 0°C. Reaksjonsblanding ble rørt ved romtemperatur i 96 timer og deretter helt over i isvann. Den vandige fasen ble ekstrahert med dietyl eter, surgjort til pH ved tilsetning av 0,5 M HCl, og ekstrahert med dietyl eter. De kombinerte organiske fasene ble tørket og konsentrert som ga 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-tiasol-5-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (97 mg, 66,4%).

e) 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-tiasol-5-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester

2-(2-tert-butoksykarbonylamino-tiasol-5-ylmetyl)-malonsyre monoetyl ester (94 mg, 0,27 mmol) en 36% vandig løsning av formaldehyd (36 μl , 1,2 mmol), CH_2Cl_2 (0,2 ml) og vann (0,2 ml) ble tilsatt ved 0°C dietyl amin (30 μl , 0,49 mmol). Reaksjonsblanding ble rørt ved romtemperatur over natten, helt over i isvann og ekstrahert med CH_2Cl_2 . De kombinerte organiske fasene ble vasket med 5% NaHCO_3 ,

tørket og konsentrert som ga 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-tiasol-5-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (69 mg, 80,9%),.

f) 2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-tert-butoksykarbonylamino-tiasol-5-yl)-propionsyre etyl ester

Trietyl amin (32 µl, 0,23 mmol) ble tilsatt til en løsning av 2-(2-tert-butoksykarbonylamino-tiasol-5-ylmetyl)-akrylsyre etyl ester (67 mg; 0,21 mmol) i tioeddiksyre (0,4 ml) ved 0°C. Reaksjonsblandingen ble rørt ved romtemperatur i 48 timer og deretter helt over i isvann. Det vandige sjiktet ble ekstrahert med CH₂Cl₂. De kombinerte organiske fasene ble vasket med mettet NaHCO₃, tørket og konsentrert som ga 190 mg av det urene produktet. Det urene produktet ble renset med flash kromatografi (heptan/EtOAc: 1:0 → 68:32) som ga 2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-tert-butoksykarbonylamino-tiasol-5-yl)-propionsyre etyl ester (43 mg, 51,6%).

g) 3-(2-amino-tiasol-5-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre

En løsning av 2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-tert-butoksykarbonylamino-tiasol-5-yl)-propionsyre etyl ester (43 mg, 0,11 mmol) i konsentrert HCl (1,5 ml) ble refluxert under argon 1,5 timer. Reaksjonsblandingen ble avkjølt til romtemperatur og konsentrert under redusert trykk som ga 30 mg av det urene produktet. Det urene produktet ble renset med preparativ HPLC som ga tittelforbindelsen (8 mg, 21%) som hydrokloridsaltet.

¹H NMR (500 MHz, D₂O): δ 2,75-3,1 (m, 5H), 7,0 (br s, 1H).

MS (+) 219 (M+1).

Forkortelser

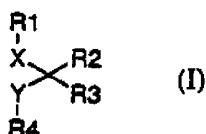
	Ac	= acetat
	aq	= vandig
	AIBN	= α,α' -asoisobutyronitril
5	Bn	= bensyl
	Bu	= butyl
	Bz	= benzoyl
	DCC	= disykloheksylkarbodiimid
	DIAD	= diisopropyl asodikarboksylat
10	DIPEA	= diisopropyletylamin
	DMAP	= N,N-dimetyl amino pyridin
	DME	= 1,2-dimetoksyetan
	DMF	= dimetylformamid
	DMSO	= dimetylsulfoksid
15	EDC	= 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etylkarbodiimid
	ee	= enantiomerisk overskudd
	Et	= etyl
	EtOAc	= etyl acetat
	EtOH	= etanol
20	h	= time
	HOAc	= eddiksye
	HOBt	= 1-hydroksybensotriasol
	HPLC	= høy ytelsesvæske kromatografi
	KHMDS	= kalium bis(trimetylsilyl)amid
25	LDA	= litium diisopropylamid
	MCPBA	= 3-klorperbensosyre
	Me	= metyl
	MeOH	= metanol
	min	= minutter
30	PMB	= 4-metoksybensyl
	Ph	= fenyl
	Pr	= propyl
	PyBOP	= (bensotriasol-1-yloksy)tripyrrolidinofofonium heksafluorofosfat
	TEA	= trietylamin
35	TFA	= trifluoreddiksye
	THF	= tetrahydrofuran
	Tos	= toluen-4-sulfonyl

Patentkrav

1.

Forbindelse, k a r a k t e r i s e r t v e d form (I)

5



10 hvori

 R_1 representerer C_3 - C_7 sykloalkenyl, substituert med amino;

heterosyklisk valgt blant azetidin, pyrrolidin, tiazol, pyridin, pyrimidin eller piperazin;

hvilke heterosyklisk er eventuelt substituert med en eller flere av amino, C_1 - C_6 alkyl,15 halogen eller hydroksy- C_1 - C_6 alkyl; R_2 representerer H, C_1 - C_3 alkyl, amino, halogen, hydroksy; R_3 representerer $COOR_5$, R_4 representerer SH eller S-CO- C_1 - C_6 alkyl; R_5 representerer H eller C_1 - C_6 alkyl;20 X representerer $C(Z)_2$, Y representerer $C(Z)_2$, Z representerer uavhengig H eller C_1 - C_6 alkyl, fenyl eller fenyl- C_1 - C_4 alkyl,

eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller solvat derav, eller et solvat av et slikt salt.

25 2.

Forbindelse ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t v e d at

 R_2 representerer H, F eller C_1 alkyl, R_3 representerer $COOR_5$, R_4 representerer SH eller S-CO- C_1 - C_6 alkyl,30 R_5 representerer H eller C_1 - C_6 alkyl, X representerer $C(Z)_2$, Y representerer $C(Z)_2$, Z representerer uavhengig H eller C_1 - C_6 alkyl;

eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller solvat derav, eller et solvat av et slikt salt.

35

3.

Forbindelse ifølge krav 1 eller 2, k a r a k t e r i s e r t v e d a t

R₁ representerer syklopentyl, pyridyl, pyrimidinyl, piperidinyl eller tiazolyl,

R₂ representerer H, F eller C₁ alkyl,

5 R₃ representerer COOR₅,

R₄ representerer SH,

R₅ representerer H,

X representerer CHZ,

Y representerer CHZ, og

10 Z representerer uavhengig H eller C₁-C₆ alkyl,

eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller solvat derav, eller et solvat av et slikt salt.

4.

Forbindelse ifølge krav 1 eller 2, k a r a k t e r i s e r t v e d a t

15 R₁ representerer en aminopyridylgruppe,

R₂ representerer H, F eller C₁ alkyl,

R₃ representerer COOR₅,

R₄ representerer SH,

R₅ representerer H,

20 X representerer CHZ,

Y representerer CHZ, og

Z representerer uavhengig H eller C₁-C₆ alkyl,

eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller solvat derav, eller et solvat av et slikt salt.

25 5.

Forbindelse, k a r a k t e r i s e r t v e d a t den er:

2-merkaptometyl-3-piperidin-4-yl-propionsyre;

3-(1-acetyl-piperidin-4-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;

3-merkaptometyl-5-metyl-2-piperidin-4-ylmetyl-heksanonsyre;

30 3-merkaptometyl-4-metyl-2-piperidin-4-ylmetyl-smørsyre;

2-(2-amino-pyridin-4-ylmetyl)-3-merkaptometyl-propionsyre;

3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;

3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-2-metyl-propionsyre;

2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-2-merkaptometyl-smørsyre;

35 3-(6-amino-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-2-metyl-propionsyre;

3-(6-amino-5-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;

3-(6-amino-4-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;

- 2-merkaptometyl-3-piperidin-4-yl-smørsyre;
 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-smørsyre;
 3-(6-amino-2-metyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;
 2-acetylsulfanylmetyl-3-(2-amino-pyrimidin-5-yl)-propionsyreetyler;
 5 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkaptometyl-smørsyre;
 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkaptometyl-pentansyre;
 3-(6-amino-5-klor-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;
 3-(6-amino-5-hydroksymetyl-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre;
 2-merkaptometyl-3-pyrrolidin-3-yl-propionsyre;
 10 2-merkaptometyl-3-piperazin-1-yl-propionsyre;
 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-pentansyre;
 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-4-metyl-pentansyre;
 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-4-fenyl-pentansyre;
 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-4-fenyl-smørsyre;
 15 2-(6-amino-pyridin-3-ylmetyl)-3-merkaptometyl-5-fenyl-pentansyre;
 3-[3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-etoksykarbonyl-propyl-disulfany]-2-(6-aminopyridin-3-ylmetyl)-propionsyreetyler;
 3-(6-amino-pyridin-3-yl)-2-merkaptometyl-heksansyre; eller
 3-(2-amino-tiazol-5-yl)-2-merkaptometyl-propionsyre.

20

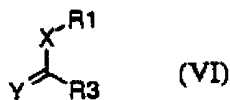
6.

Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene

1-5, hvori R_1 , R_3 , R_4 og Y er som definert i krav 1 og X er $C(Z)_2$ og R_2 er H,

k a r a k t e r i s e r t v e d a t den innbefatter trinnet med å

- 25 omsette en forbindelse med formel VI,



30

hvori R_1 , R_3 og Y er som definert i krav 1 og X er $C(Z)_2$, med en forbindelse med formel IX,

35



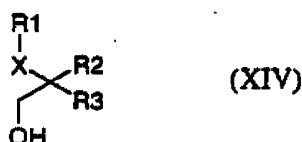
hvor R_5 er en egnet beskyttende gruppe, slik som Ac, Bz, PMB eller Bn, alene eller under nærvær av en passende base, slik som NaOMe, NaH eller trietylamin eller alternativt under nærvær av en fri-radikal initiator, slik som AIBN, under standard betingelser.

7.

Fremgangsmåte for fremstilling av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1-5, hvor R_1 , R_2 , R_3 og R_4 er som definert i krav 1 og Y er CH_2 og X er $C(Z)_2$,

karakterisert ved at den innbefatter trinnet med å

omsette en forbindelse med formel XIV:



hvor R_1 , R_2 og R_3 er som definert i krav 1 og X er $C(Z)_2$ med en forbindelse med generell formel IX.



hvor R_5 er egnet beskyttende gruppe, slik som Ac eller Bz, under nærvær av et passende reagens, slik som PPh_3 /DIAD, under standard betingelser.

8.

Farmasøytisk formulering, karakterisert ved at den inneholder en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5 som aktiv ingrediens i kombinasjon med en farmasøytisk akseptabel adjuvans, fortynningsmiddel eller bærer.

9.

Forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5, karakterisert ved at den anvendes ved behandling.

10.

Anvendelse av en forbindelse ifølge et hvilket som helst av kravene 1 til 5 for fremstilling av et medikament for inhibering av karboksypeptidase U.

11.

Farmasøytisk formulering for anvendelse ved behandling eller profylakse av tilstander hvori inhibering av karboksypeptidase U er påkrevd eller ønsket, k a r a k -
t e r i s e r t v e d at den innbefatter en forbindelse ifølge et hvilket som
5 helst av kravene 1-5 i kombinasjon med en farmasøytisk akseptabel adjuvans,
fortynningsmiddel eller bærer.

12.

Farmasøytisk formulering, k a r a k t e r i s e r t v e d at den
10 innbefatter:

- (i) en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller solvat derav, eller et solvat av et slikt salt, og
- (ii) ett eller flere antitrombotiske midler med en forskjellig virkningsmekanisme,
15 slik som et antiblodplatemiddel, tromboksanreseptorinhibitor, syntetaseinhibitor,
fibrinogenreseptorantagonist, prostasyklinetterligner, fosfodiesteraseinhibitor
eller ADP-reseptor (P_2T) antagonist,

sammenblandet med en farmasøytisk akseptabel adjuvans, fortynningsmiddel eller
20 bærer.

13.

Kit av deler, k a r a k t e r i s e r t v e d at det innbefatter:

- 25 (i) en farmasøytisk formulering som inneholder en forbindelse med formel (I) eller et farmasøytisk akseptabelt salt eller solvat derav, eller et solvat av et slikt salt, sammenblandet med en farmasøytisk akseptabel adjuvans, fortynningsmiddel eller bærer; og
- (ii) en farmasøytisk formulering som inneholder ett eller flere antitrombotiske
30 midler med en forskjellig virkningsmekanisme, slik som et antiblodplatemiddel, tromboksanreseptorinhibitor, syntetaseinhibitor, fibrinogenreseptorantagonist, prostasyklinetterligner, fosfodiesteraseinhibitor eller ADP-reseptor (P_2T) antagonist,

35 sammenblandet med en farmasøytisk akseptabel adjuvans, fortynningsmiddel eller bærer; hvor forbindelse (i) og middel (ii) er hver tilveiebragt i en form som er egnet for administrasjon i forbindelse med hverandre.