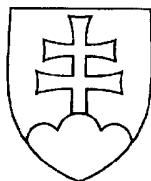


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19) SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ
PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA

- (22) Dátum podania prihlášky: 5. 11. 2001
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 60/253 275
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: 27. 11. 2000
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: US
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: 3. 8. 2004
Vestník ÚPV SR č.: 8/2004
(62) Číslo pôvodnej prihlášky
v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: PCT/IB01/02073
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky
podľa PCT: WO02/42268

(11), (21) Číslo dokumentu:

556-2003

(13) Druh dokumentu: A3

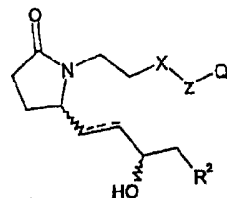
(51) Int. Cl. 7 :

C07D207/20,
C07D405/10,
C07D409/14,
C07D409/06,
C07D403/06,
C07D417/06,
A61K 31/4015

- (71) Prihlasovateľ: Pfizer Products Inc., Groton, CT, US;
(72) Pôvodca: Cameron Kimberly O'Keeffe, Groton, CT, US;
Lefker Bruce Allen, Groton, CT, US;
(74) Zástupca: Bušová Eva, JUDr., Bratislava, SK;

(54) Názov: Selektívne agonisty receptora EP4 pri liečení osteoporózy

- (57) Anotácia:
Agonisty prostaglandínu selektívne voči receptoru EP4 všeobecného vzorca (I), kde všeobecné symboly R^2 , X, Z a Q majú význam uvedený v nárokoch. Farmaceutické kompozície na báze týchto zlúčenín. Spôsoby liečenia stavov, ktoré sa prejavujú nízkou kostnou hmotou, najmä osteoporózy, krehkosti, osteoporotickej fraktúry, kostného defektu, juvenilného idiopatického úbytku kostného tkaniva, úbytku alveolárnej kosti, úbytku mandibulárnej kosti, fraktúry kosti, osteotómie, úbytku kosti spojeného s periodontitis a prerastanie protézy cicavcov, pri ktorých sa podávajú vyššie uvedené zlúčeniny.



(I)

Selektívni agonisti receptora EP4 pri liečení osteoporózy

Oblasť techniky

Vynález sa týka agonistov prostaglandínu selektívnych voči receptoru EP4, kombinácií, spôsobov, kitov a farmaceutických kompozícií na báze takých agonistov prostaglandínu, ktoré sú užitočné pri prevencii úbytku kostnej hmoty alebo jej obnovovaní alebo zvyšovaní a ako podpora hojenia kostí, vrátane liečení stavov, ktoré sa prejavujú nízkou kostnou hmotou a/alebo kostnými defektmi obratlovcov, najmä cicavcov, vrátane človeka.

Doterajší stav techniky

Osteoporóza je systemická choroba kostry, pre ktorú je charakteristická nízka kostná hmota a zhoršovanie kostného tkaniva, v ktorých dôsledku dochádza na zvýšenie krehkosti kostí a náchylnosti na zlomeniny. V USA tento stav postihuje viac ako 25 miliónov ľudí a každý rok je príčinou viac ako 1,3 miliónov zlomenín, z ktorých je 500000 zlomenín chrbtice, 250000 zlomenín bedier 240000 zlomenín zápästia. Najväčšie sú zlomeniny bedier, pretože 5 až 20 % pacientov postihnutých týmito zlomeninami zomiera do jedného roku a viac ako 50 % takých, ktorí prežili zostávajú invalidní.

Najväčšiemu riziku osteoporózy sú vystavení starší ľudia, a predpokladá sa, že tento problém bude významne narastať so starnutím populácie. Odhaduje sa, že vo svetovej mierke dôjde v priebehu nasledujúcich 60 rokov na strojnásobenie počtu zlomenín, a podľa jednej štúdie sa v roku 2050 bude vo svete celkom liečiť až 4,5 miliónov zlomenín bedier.

Ženy sú ohrozené osteoporózou viac ako muži. U žien dochádza k významnému zrýchleniu úbytku kostnej hmoty v priebehu 5 rokov po menopauze. Z iných faktorov zvyšujúcich úbytok kostnej hmoty vedúci k osteoporóze, je možné uviesť fajčenie, abusus alkoholu, sedavý životný štýl a nízky príjem vápnika.

Na liečenie osteoporózy v súčasnej dobe existujú dva hlavné typy farmakoterapie. Pri prvom z nich sa za účelom zníženia resorpcie kostného tkaniva používajú antiresorpčné zlúčeniny.

Prikladom antiresorpčného činidla je estrogén, o ktorom je známe, že redukuje zlomeniny. Okrem toho Black et al. v EP 0 605 193 A1 uvádzajú, že estrogén, najmä keď je podávaný perorálne, znižuje hladinu LDL v plazme a zvyšuje hladinu osožných lipoproteínov s vysokou hustotou (HDL). V prípade kostry postihnutej rozvinutou osteoporózou ale estrogén pri opätovnej výstavbe kostí na úroveň zodpovedajúcu mladému dospelému človeku zlyháva. Okrem toho sa dlhodobá liečba estrogénom dáva do súvislosti s rôznymi poruchami, ako je zvýšené riziko rakoviny maternice, rakoviny endometria a možnosť rakoviny prsníka, čo vedie mnoho žien k tomu, že sa takémuto liečeniu vyhýbajú. Významné nežiadúce účinky spojené s liečením estrogénom podtrhujú nutnosť vyvinúť alternatívne spôsoby liečenia osteoporózy, ktoré by mali žiadúci priaznivý vplyv na hladinu LDL v sére, ale bez nežiadúcich vedľajších účinkov.

Druhým typom farmakoterapie pri liečení osteoporózy je použitie anabolických činidiel za účelom podporenia tvorby kosti a zvýšenia kostnej hmoty. O činidlách z tejto triedy sa

predpokladá, že obnovujú kostné tkanivo kostry postihnutej rozvinutou osteoporózou.

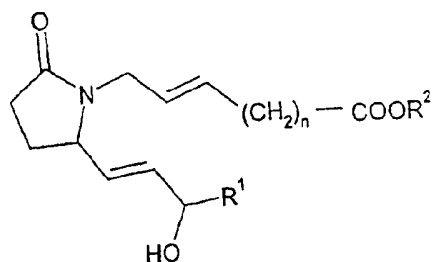
Uvádza sa, že okrem osteoporózy len v Amerike má ročne 20 až 25 miliónov žien a zvyšujúci sa počet mužov problém s detegovateľnými zlomeninami obratlov, ktoré súvisia so zníženou kostnou hmotou a dochádza k ďalším 250 000 zlomeninám bedier. Zlomeniny bedier sú spojené s 12% úmrtnosťou v prvých dvoch rokoch a 30% podielom pacientov, ktorí po zlomenine potrebujú domácu opatrovateľskú službu. Aj keď je to významné už dnes, predpokladá sa ďalšie zvýšenie ekonomických a zdravotných dopadov rekonvalescencie vyvolanej pomalým alebo nedokonalým hojením týchto zlomenín kostí, pretože celá populácia starne.

Ukázalo sa, že estrogény (Bolander et al., 38th Annual Meeting Orthopedic Research Society, 1992) zlepšujú kvalitu hojenia apendikulárnych zlomenín. Zdá sa teda, že estrogénová substitučná terapia by teda mohla byť spôsobom liečenia zlomenín. Kompliancia pacientov s estrogénovou terapiou je ale relatívne nízka, vzhľadom na ich vedľajšie účinky, ako je opätovné zahájenie menštruácie, mastodýnie, zvýšené riziko rakoviny maternice, pocit zvýšeného rizika rakoviny prsníka a súčasné používanie progestínov. Okrem toho je pravdepodobné, že muži budú mať námietky proti liečbe estrogénmi. Je teda zrejmé, že existuje potreba terapie, ktorá by bola osožná pre pacientov, ktorí utrpeli zneschopňujúce zlomeniny kostí alebo ktorí majú nízku kostnú hmotu, a ktorá by zvýšila komplianciu pacientov.

Bolo preukázané, že prostaglandín E₂ (PGE₂) môže nahradiť úbytok kostí ovariectomizovaných (OVX) potkanov, modelu postmenopauzálnnej osteoporózy (Ke, H. Z. et al., Bone, 23: 249 až

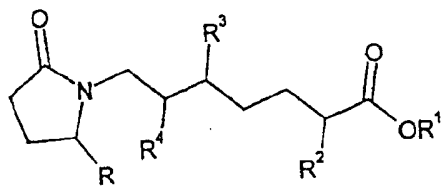
255, 1998). S PGE2 sú ale spojené závažné vedľajšie účinky (Jee. W. S. S. a Ma, Y. F., Bone, 21: 297 až 304, 1997).

V GB 1 553 595 sú opísané zlúčeniny všeobecného vzorca



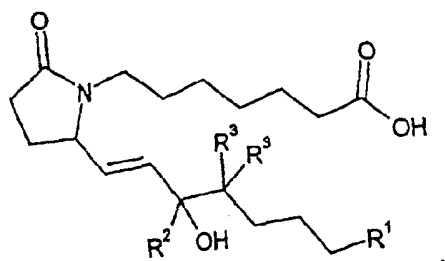
kde dvojné väzby sú v polohe cis alebo trans a všeobecné symboly majú význam uvedený v tomto dokumente. Tieto zlúčeniny sú opísané ako látky vykazujúce spasmogénnu a spasmolytickú účinnosť, napríklad s bronchodilatačnými a antihypertenzívnymi účinkami. Tieto zlúčeniny sú tiež opísané ako látky užitočné pri inhibícii sekrécie žalúdočnej šťavy, a látky s abortívnymi účinkami.

V US patente č. 4 115 401 sú opísané zlúčeniny všeobecného vzorca



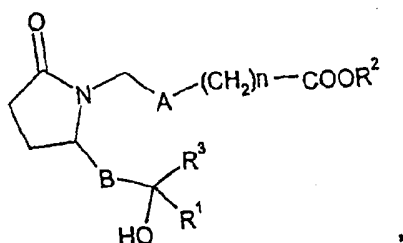
kde všeobecné symboly majú význam uvedený v citovanom dokumente. Tieto zlúčeniny sú opísané ako látky so spasmogénnymi, kardiovaskulárnymi a bronchodilatačnými účinkami.

V US patente č. 4 113 873 sú opísané zlúčeniny všeobecného vzorca



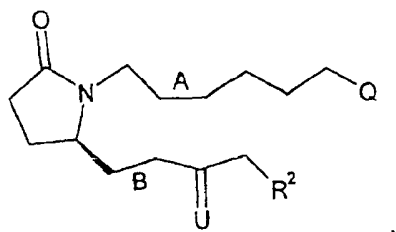
kde všeobecné symboly majú význam uvedený v citovanom dokumente. Tieto zlúčeniny sú opísané ako látky užitočné ako bronchodilatanty, antihypertenzívne činidlá, činidlá zosilňujúce spontánne kontrakcie maternice a látky užitočné pri liečení gastrointestinálnych porúch alebo žalúdočných vredov.

V GB 1 583 163 sú opísané zlúčeniny všeobecného vzorca



kde všeobecné symboly majú význam uvedený v citovanom dokumente. Tieto zlúčeniny sú opísané ako látky so spasmogénnymi, bronchodilatačnými, vasokonstrikčnými, vasodilatačnými a abortívnymi vlastnosťami a tiež ako látky užitočné pri inhibícii sekrécie žalúdočnej kyseliny.

V US patente č. 4 177 346, rovnakého majiteľa, sú opísané zlúčeniny všeobecného vzorca



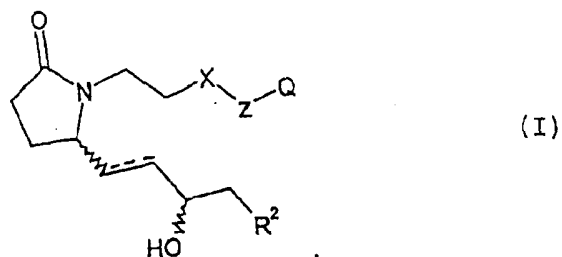
kde premenné majú význam uvedený v citovanom dokumente. Tieto zlúčeniny sú opísané ako látky s vasodilatačnou, anti-hypertenzívnou, bronchodilatačnou, antikoncepčnou a antisekrečnou účinnosťou.

V medzinárodnej patentovej prihláške WO00/21542 sú opísaní agonisti receptora subtypu EP4, užitočné ako stimulátory tvorby kostí.

Napriek tomu, že existujú rôzne spôsoby liečenia osteoporózy, na tomto poli pretrváva potreba vyvinúť alternatívne spôsoby liečenia tejto choroby. Okrem toho existuje potreba vyvinúť spôsoby liečenia zlomenín kostí. Tiež by bolo žiadúce vyvinúť terapiu, ktorá by podporovala opätovnú výstavbu kostí v oblastiach kostry, ktoré sú postihnuté defektami, ako defektami vyvolanými napríklad kostnými nádormi. Potrebnou sa ďalej javí terapia, ktorá by podporovala opätovnú výstavbu kostí v oblastiach kostry, kde boli indikované kostné štepy.

Podstata vynálezu

Predmetom vynálezu sú zlúčeniny všeobecného vzorca I



kde

prerušovaná čiara predstavuje prípadnú väzbu;

X predstavuje skupinu $-\text{CH}_2-$ alebo kyslík;

Z predstavuje skupinu $-(\text{CH}_2)_3-$, tienylskupinu, tiazolylskupinu alebo fenylskupinu, pričom keď X predstavuje kyslík, potom Z predstavuje fenylskupinu;

Q predstavuje karboxyskupinu, (C_1-C_4) alkoxylkarbonylskupinu alebo tetrazolylskupinu;

R^2 predstavuje skupinu $-\text{Ar}$ alebo $-\text{Ar}^1-\text{V}-\text{Ar}^2$;

V predstavuje väzbu alebo skupinu $-\text{O}-$, $-\text{OCH}_2-$ alebo $-\text{CH}_2\text{O}-$;

Ar predstavuje sčasti nasýtený, celkom nasýtený alebo celkom nenasýtený päť- až osemčlenný kruh, ktorý prípadne obsahuje 1 až 4 heteroatómy nezávisle zvolené z kyslíka, síry a dusíka alebo bicyklický kruh pozostávajúci z dvoch

anelovaných nezávisle sčasti nasýtených, celkom nasýtených alebo celkom nenasýtených päť- alebo šesťčlenných kruhov, brané nezávisle, ktoré prípadne obsahujú 1 až 4 heteroatómy nezávisle zvolené z dusíka, síry a kyslíka; pričom uvedený čiastočne alebo celkom nasýtený kruh alebo bicyklický kruh prípadne obsahuje jednu alebo dve oxoskupiny, ako substituenty na uhlíku, alebo jednu alebo dve oxoskupiny, ako substituenty na síre;

Ar¹ a Ar² predstavuje každý nezávisle sčasti nasýtený, celkom nasýtený alebo celkom nenasýtený päť- až osemčlenný kruh, ktorý prípadne obsahuje 1 až 4 heteroatómy nezávisle zvolené z kyslíka, síry a dusíka, pričom čiastočne alebo celkom nasýtený kruh prípadne obsahuje jednu alebo dve oxoskupiny, ako substituenty na uhlíku, alebo jednu alebo dve oxoskupiny, ako substituenty na síre;

pričom uvedený zvyšok Ar je prípadne substituovaný na uhlíku alebo dusíku jedného kruhu, pokiaľ je monocyklický, alebo jedného alebo oboch kruhov, pokiaľ je bicyklický, až tromi substituentami, vzťahované na kruh, z ktorých každý je nezávisle zvolený zo súboru pozostávajúceho z hydroxyskupiny, halogénu, karboxyskupiny, (C₁-C₇)alkoxyskupiny, (C₁-C₄)-alkoxy(C₁-C₄)alkylskupiny, (C₁-C₇)alkylskupiny, (C₂-C₇)-alkenylskupiny, (C₃-C₇)cykloalkylskupiny, (C₃-C₇)cykloalkyl(C₁-C₄)alkylskupiny, (C₃-C₇)cykloalkyl(C₁-C₄)-alkanoylskupiny, formylskupiny, (C₁-C₉)alkanoylskupiny, (C₁-C₆)alkanoyl(C₁-C₆)alkylskupiny, (C₁-C₄)alkanoylamínoskupiny, (C₁-C₄)alkoxykarbonylamínoskupiny, hydroxysulfonylskupiny, aminokarbonylamínoskupiny a mono-N-, di-N,N-, di-N,N'-

alebo tri- N,N,N' -(C_1-C_4)alkylsubstituovanej
 aminosulfonylamínoskupiny, sulfonamidokupiny, (C_1-C_4)-
 alkylsulfonamidokupiny, aminoskupiny, mono- N - a di- N,N -
 -(C_1-C_4)alkylaminoskupiny, karbamoylskupiny, mono- N - a di-
 - N,N -(C_1-C_4)alkylkarbamoylskupiny, kyanoskupiny, tiólu,
 (C_1-C_6)alkyltioskupiny, (C_1-C_6)alkylsulfinylskupiny,
 (C_1-C_4)alkylsulfonylskupiny a mono- N - a di- N,N -(C_1-C_4)-
 alkylaminosulfinylskupiny, pričom alkylové a alkoxylové
 substituenty v definícii Ar sú prípadne substituované na
 uhlíku až 3 atómami fluóru; a

zvyšky Ar^1 a Ar^2 sú nezávisle prípadne substituované na
 uhlíku alebo na dusíku až tromi substituentami, z ktorých
 každý je nezávisle zvolený zo súboru pozostávajúceho z
 hydroxyskupiny, halogénu, karboxyskupiny, (C_1-C_7)alkoxy-
 skupiny, (C_1-C_4)alkoxy(C_1-C_4)alkylskupiny, (C_1-C_7)alkyl-
 skupiny, (C_2-C_7)alkenylskupiny, (C_3-C_7)cykloalkylskupiny,
 (C_3-C_7)cykloalkyl(C_1-C_4)alkylskupiny, (C_3-C_7)cykloalkyl-
 (C_1-C_4)alkanoylskupiny, formylskupiny, (C_1-C_8)alkanoyl-
 skupiny, (C_1-C_6)alkanoyl(C_1-C_6)alkylskupiny, (C_1-C_4)alka-
 noylaminoskupiny, (C_1-C_4)alkoxykarbonylamínoskupiny,
 hydroxysulfonylskupiny, aminosulfonylamínoskupiny a
 mono- N -, di- N,N -, di- N,N' - a tri- N,N,N' -(C_1-C_4)alkylsub-
 stituovanej aminosulfonylamínoskupiny,
 sulfonamidokupiny, (C_1-C_4)-alkylsulfonamidokupiny,
 aminoskupiny, mono- N - a di- N,N -(C_1-C_4)alkylaminoskupiny,
 karbamoylskupiny, mono- N - a di- N,N -(C_1-C_4)alkylkarbamoylskupiny,
 kyanoskupiny, tiólu, (C_1-C_6)alkyltioskupiny, (C_1-C_6)alkylsulfinylskupiny,
 (C_1-C_4)alkylsulfonylskupiny a mono- N - a di- N,N -(C_1-C_4)-
 alkylaminosulfinylskupiny, pričom alkylové a alkoxylové
 substituenty v definícii Ar^1 a Ar^2 sú prípadne substi-
 tuované na uhlíku až 3 atómami fluóru;

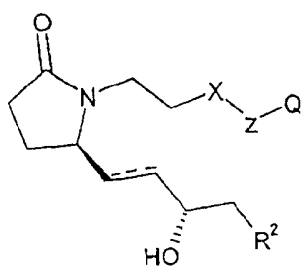
s tou podmienkou, že

(a) keď X predstavuje skupinu $-(CH_2)-$ a Z predstavuje skupinu $-(CH_2)_3-$, potom R^2 nepredstavuje tienylskupinu, fenylskupinu alebo fenylskupinu monosubstituovanú chlóróm, fluórom, fenylskupinou, metoxyskupinou, trifluormetyl skupinou alebo (C_1-C_4) alkylskupinou; a

(b) keď X predstavuje skupinu $-(CH_2)-$, Z predstavuje skupinu $-(CH_2)_3-$, a Q predstavuje karboxyskupinu alebo (C_1-C_4) -alkoxykarbonylskupinu, potom R^2 nepredstavuje (i) (C_5-C_7) cykloalkylskupinu alebo (ii) fenylskupinu, tienylskupinu alebo furylskupinu, z ktorých každá je prípadne monosubstituovaná alebo disubstituovaná jedným alebo dvoma substituentami nezávisle zvolenými zo súboru pozostávajúceho z atómov halogénu, alkylskupín s 1 až 3 atómami uhlíka, ktoré sú prípadne substituované jedným alebo viacerými atómami halogénu, a alkoxy skupín s 1 až 4 atómami uhlíka;

ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

Prednostnú skupinu zlúčenín, označovanú ako skupina A, tvoria zlúčeniny všeobecného vzorca Ia

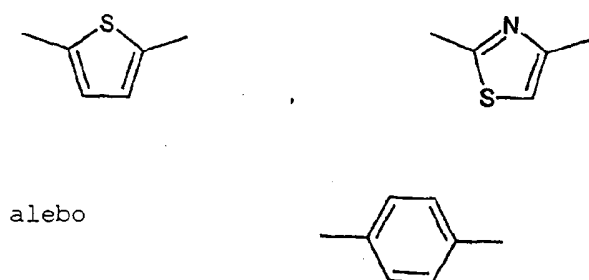


(Ia)

kde

X predstavuje skupinu $-\text{CH}_2-$;

Z predstavuje skupinu $-(\text{CH}_2)_3-$ alebo skupinu vzorca



a

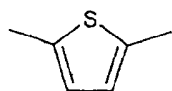
R^2 predstavuje zvyšok $-\text{Ar}$; pričom zvyšok $-\text{Ar}$ je prípadne substituovaný na uhlíku alebo dusíku jedného kruhu, pokiaľ je monocyklický, alebo jedného alebo oboch kruhov, pokiaľ je bicyklický, až tromi substituentami, vzťahované na kruh, z ktorých každý je nezávisle zvolený zo súboru pozostávajúceho z hydroxyskupiny, halogénu, karboxyskupiny, (C_1-C_7) alkoxyskupiny, (C_1-C_4) alkoxy (C_1-C_4) alkylskupiny, (C_1-C_7) alkylskupiny, (C_2-C_7) -alkenylskupiny, (C_3-C_7) cykloalkylskupiny, (C_3-C_7) cykloalkyl (C_1-C_4) alkylskupiny, (C_3-C_7) cykloalkyl (C_1-C_4) alkanoylskupiny, formylskupiny, (C_1-C_8) alkanoylskupiny, (C_1-C_6) alkanoyl (C_1-C_6) alkylskupiny, (C_1-C_4) alkanoylamínoskupiny, (C_1-C_4) alkoxykarbonylamínoskupiny, hydroxysulfonylskupiny, aminokarbonylamínoskupiny a mono-N-, di-N,N-, di-N,N'- a tri-N,N,N'- (C_1-C_4) alkylsubstituovanej aminokarbonylamínoskupiny, sulfonamidoskupiny, (C_1-C_4) alkylsulfonamidoskupiny, amínoskupiny, mono-N- a di-N,N- (C_1-C_4) alkylamínoskupiny, karbamoylskupiny, mono-N-

a di-N,N-(C₁-C₄)alkylkarbamoylskupiny, kyanoskupiny, tiólu, (C₁-C₆)alkyltioskupiny, (C₁-C₆)alkylsulfinylskupiny, (C₁-C₄)alkylsulfonylskupiny a mono-N- a di-N,N-(C₁-C₄)alkylamínosulfinylskupiny, pričom alkylové a alkoxylové substituenty v definícii Ar sú prípadne substituované na uhlíku až 3 atómami fluóru;

ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

Zo skupiny A sa dáva prednosť zlúčeninám, ktoré tvoria skupinu B. Do skupiny B spadajú zlúčeniny, kde Ar predstavuje cyklohexylskupinu, 1,3-benzodioxolylskupinu, tienylskupinu, naftylskupinu alebo fenylskupinu prípadne substituovanú jednou alebo dvoma skupinami zvolenými z (C₁-C₄)alkylskupiny, (C₁-C₄)alkoxyskupiny, (C₁-C₄)alkoxy(C₁-C₄)alkylskupiny, chlóru, fluóru, trifluormetylskupiny a kyanoskupiny, pričom alkylové a alkoxylové substituenty v definícii Ar sú prípadne substituované až 3 atómami fluóru; ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

Zo skupiny B sa dáva prednosť zlúčeninám, ktoré tvoria skupinu C. Do skupiny C spadajú zlúčeniny, kde prerušovaná čiara nepredstavuje väzbu; Q predstavuje karboxyskupinu alebo (C₁-C₄)alkoxykarbonylskupinu; a Z predstavuje skupinu vzorca



;

ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a soli.

Zo skupiny C sa dáva prednosť zlúčeninám, ktoré tvoria skupinu D. Do skupiny D spadajú zlúčeniny, kde Q predstavuje karboxyskupinu a Ar predstavuje fenylskupinu prípadne substituovanú jednou (C₁-C₄)alkylskupinou, (C₁-C₄)alkoxyskupinou, (C₁-C₄)alkoxy(C₁-C₄)alkylskupinou, chlóróm, fluórom, trifluormetylskupinou alebo kyanoskupinou, pričom alkylové a alkoxylové substituenty v definícii Ar sú prípadne substituované až 3 atómami fluóru, ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a soli.

Zo skupiny D sa dáva prednosť zlúčeninám, kde Ar predstavuje m-trifluormetylfenylskupinu, ich preliečivám, farmaceuticky vhodným soliam týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizomérom a diastereomérnym zmesiam týchto zlúčenín, preliečiv a soli.

Zo skupiny D sa ďalej dáva prednosť zlúčeninám, kde Ar predstavuje m-chlorfenylskupinu, ich preliečivám, farmaceuticky vhodným soliam týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizomérom a diastereomérnym zmesiam týchto zlúčenín, preliečiv a soli.

Zo skupiny D sa ďalej dáva prednosť zlúčeninám, kde Ar predstavuje m-trifluormetoxifyenylylskupinu, ich preliečivám, farmaceuticky vhodným soliam týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizomérom a diastereomérnym zmesiam týchto zlúčenín, preliečiv a soli.

Do skupiny zvlášť prednostných zlúčenín podľa tohto vynálezu spadá

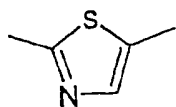
5-(3-(2S-(3R-hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl)-5-oxo-pyrrolidin-1-yl)propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina;

5-(3-(2S-(3R-hydroxy-4-(3-trifluormetoxifyfenyl)butyl)-5-oxo-pyrrolidin-1-yl)propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina; a

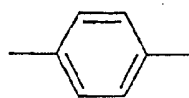
5-(3-(2S-(4-(3-chlorfenyl)-3R-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina.

Zo skupiny A sa ďalej dáva prednosť zlúčeninám, kde X predstavuje skupinu $-\text{CH}_2-$, Z predstavuje skupinu $-(\text{CH}_2)_3-$, Q predstavuje karboxyskupinu alebo (C_1-C_4) alkoxykarbonylskupinu a Ar predstavuje fenylskupinu nezávisle substituovanú jednou až tromi skupinami zvolenými z kyanoskupiny, (C_1-C_7) alkoxyskupiny substituovanej 1 až 3 atómami fluóru a (C_1-C_4) alkoxy (C_1-C_4) alkylskupiny; ich preliečivám, farmaceuticky vhodným soliam týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizomérom a diastereomérnym zmesiam týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

Predmetom vynálezu sú najmä zlúčeniny všeobecného vzorca I definované v predchádzajúcom odstavci, kde prerušovaná čiara nepredstavuje väzbu; Q predstavuje karboxyskupinu alebo (C_1-C_4) -alkoxykarbonylskupinu; a Z predstavuje skupinu vzorca



alebo



;

ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a soli.

Predmetom vynálezu sú ďalej najmä zlúčeniny všeobecného vzorca I definované v predchádzajúcom odstavci, kde Q predstavuje karboxyskupinu a Ar predstavuje fenylskupinu prípadne substituovanú jednou (C₁-C₄)alkylskupinou, (C₁-C₄)alkoxyskupinou, (C₁-C₄)alkoxy(C₁-C₄)alkylskupinou, chlóróm, fluóróm, trifluormetyl skupinou alebo kyanoskupinou, pričom alkylové a alkoxylové substituenty v definícii Ar sú prípadne substituované až 3 atómami fluóru, ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a soli.

Predmetom vynálezu sú tiež spôsoby liečenia stavov, ktoré sa prejavujú nízkou kostnou hmotou cicavcov, ktorých podstata spočíva v tom, že sa takému cicavcovi podáva zlúčenina všeobecného vzorca I selektívna voči receptoru EP4, jej preliečivo alebo farmaceuticky vhodná soľ tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizomér alebo diastereoméerna zmes tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli.

Predmetom vynálezu sú najmä takéto spôsoby liečenia, kde stavom je osteoporóza, krehkosť, osteoporotická fraktúra, kostný defekt, juvenilný idiopatický úbytok kostného tkaniva, úbytok alveolárnej kosti, úbytok mandibulárnej kosti, fraktúra kosti, osteotómia, úbytok kosti spojený s periodontitis a prerastaním protézy. Pri prednostných spôsoboch podľa tohto vynálezu sa selektívny agonista receptora EP4 podáva systemicky. Pri iných prednostných spôsoboch podľa vynálezu sa agonista EP4 podáva lokálne.

Predmetom vynálezu sú najmä takéto spôsoby, kde stavom je metastabilná kostná choroba, kde sa kosť odstraňuje chirurgicky s následným defektom, ktorý je treba vyplniť.

Spôsoby podľa vynálezu sú najmä užitočné v prípade, že stavom je krehkosť.

Spôsoby podľa vynálezu sú najmä užitočné v prípade, že stavom je osteoporóza.

Spôsoby podľa vynálezu sú tiež zvlášť užitočné v prípade, že stavom je fraktúra kosti alebo osteoporotická fraktúra.

Predmetom vynálezu sú tiež farmaceutické kompozície, ktorých podstata spočíva v tom, že obsahujú zlúčeninu všeobecného vzorca I, jej preliečivo, farmaceuticky vhodnú soľ tejto zlúčeniny alebo preliečiva, alebo stereoizomér alebo diastereoméru zmes tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli podľa vynálezu a farmaceuticky vhodný nosič, vehikulum alebo riedidlo. Predmetom vynálezu sú tiež spôsoby liečenia stavov, ktoré sa prejavujú nízkou kostnou hmotou cicavcov, ktorých podstata spočíva v tom, že sa takému cicavcovi podáva farmaceutická kompozícia podľa vynálezu.

Prednostne sa liečia ženy po menopauze a muži vo veku nad 60 rokov a tiež jednotlivci bez ohľadu na vek, ktorí majú významne zníženú kostnú hmotu, to je 1,5 štandardnej odchýlky a viacej pod normálnymi hladinami v mladosti.

Ako stavy, ktoré sa prejavujú nízkou kostnou hmotou, je v súvislosti so spôsobmi podľa tohto vynálezu možné napríklad uviesť osteoporózu, juvenilný idiopatický úbytok kostného

tkaniva, úbytok alveolárnej kosti, úbytok mandibulárnej kosti, fraktúru kosti, osteotómiu, úbytok kostného tkaniva spojený s periodontitis a prerastaním protézy.

Do rozsahu vynálezu tiež spadajú spôsoby liečenia "sekundárnej osteoporózy". Ako sekundárnu osteoporózu je možné uviesť osteoporózu indukovanú glukokortikoidmi, osteoporózu indukovanú hypertyroidizmom, osteoporózu indukovanú imobilizáciou, osteoporózu indukovanú heparínom a osteoporózu indukovanú imunosupresívami u obratlovcov, napríklad cicavcov (ako človeka). Tieto spôsoby sa uskutočňujú tak, že sa obratlovcovi, napríklad cicavcovi, podá selektívny agonista receptora prostaglandínu EP4, všeobecného vzorca I, jeho preliečivo alebo farmaceuticky vhodný agonista alebo jeho preliečivá alebo stereoizomér alebo diastereoména zmes agonistu, preliečiva alebo soli v množstve účinnom pri liečení sekundárnej osteoporózy.

Predmetom vynálezu sú ďalej tiež spôsoby spevňovania kostných štepov, indukovanie vertebrálnej synostózy, podporovanie predlžovania dlhých kostí, podporovanie hojenia kostí po rekonštrukcii tváre, rekonštrukcii hornej a/alebo dolnej čeluste obratlovcov, napríklad cicavcov (vrátane človeka), ktorých podstata spočíva v tom, že sa obratlovcovi, napríklad cicavcovi, ktorý mal transplantáciu kostného štepu, potrebuje indukovať vertebrálnu synostózu alebo podporu predlžovania dlhých kostí, mal rekonštrukciu tváre alebo rekonštrukciu hornej alebo dolnej čeluste, podá selektívny agonista receptora prostaglandínu EP4 všeobecného vzorca I, jeho preliečivo, farmaceuticky vhodní agonisti alebo preliečivá, stereoizomér alebo diastereoména zmes agonistu, preliečiva alebo soli podľa vynálezu v množstve posilňujúcom kosti. Selektívnych agonistov receptora prostaglandínu EP4

podľa tohto vynálezu je možné aplikovať lokálne na miesto rekonštrukcie kosti, alebo systemicky.

Predmetom vynálezu je tiež spôsob liečenia impotencie alebo erektilnej dysfunkcie, ktorého podstata spočíva v tom, že sa pacientovi, ktorý takéto liečenie potrebuje, podáva zlúčenina všeobecného vzorca I, jej preliečivo, farmaceuticky vhodná soľ tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizomér alebo diastereoména zmes tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli v množstve, ktoré je účinné pri liečení impotencie alebo erektilnej dysfunkcie.

Predmetom vynálezu je tiež spôsob liečenia zhoršenej funkcie obličiek, ktorého podstata spočíva v tom, že sa pacientovi, ktorý takéto liečenie potrebuje, podáva zlúčenina všeobecného vzorca I, jej preliečivo, farmaceuticky vhodná soľ tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizomér alebo diastereoména zmes tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli v množstve, ktoré je účinné pri regenerácii obličiek.

Predmetom vynálezu je tiež spôsob podporovania rastu kosti, ktorého podstata spočíva v tom, že sa pacientovi, ktorý takéto liečenie potrebuje, podáva zlúčenina všeobecného vzorca I, jej preliečivo, farmaceuticky vhodná soľ tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizomér alebo diastereoména zmes tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli v terapeuticky účinnom množstve, a inhibítor HMG-CoA reductázy (statín), jeho preliečivo alebo farmaceuticky vhodná soľ tejto zlúčeniny alebo preliečiva v terapeuticky účinnom množstve.

Denná dávka zlúčeniny všeobecného vzorca I, jej preliečiva, farmaceuticky vhodnej soli tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizoméru alebo diastereoménej zmesi

tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli prednostne leží v rozmedzí od asi 0,001 do asi 100 mg/kg, pričom zvláštna prednosť sa dáva denným dávkam v rozmedzí od asi 0,01 do asi 10 mg/kg

Ešte ďalším predmetom vynálezu je farmaceutická kompozícia, ktorej podstata spočíva v tom, že obsahuje zlúčeninu všeobecného vzorca I, jej preliečivo, farmaceuticky vhodnú soľ tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizomér alebo diastereomérnu zmes tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli; a antiresorpčné činidlo, jeho preliečivo alebo farmaceuticky vhodnú soľ tohto činidla alebo preliečiva; a taká kompozícia na liečenie alebo prevenciu stavov, ktoré sa prejavujú nízkou kostnou hmotou, ako je osteoporóza, u obratlovcov, napríklad cicavcov (napríklad ľudí, najmä žien) alebo použitie takejto kompozície na iné zvyšovanie kostnej hmoty.

Kombinácia podľa vynálezu obsahuje terapeuticky účinné množstvo prvej zlúčeniny, ktorou je zlúčenina všeobecného vzorca I, jej preliečivo, farmaceuticky vhodná soľ tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizomér alebo diastereoména zmes tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli, a terapeuticky účinné množstvo druhej zlúčeniny, ktorou je antiresorpčné činidlo, jeho preliečivo alebo farmaceuticky vhodná soľ tohto činidla alebo preliečiva, ako agonista/antagonista estrogénu alebo bisfosfonát.

Podľa ďalšieho aspektu je predmetom vynálezu spôsob liečenia obratlovcov, napríklad cicavcov, ktorí vykazujú nízku kostnú hmotu, pri ktorom sa obratlovcovi, napríklad cicavcovi, ktorý vykazuje nízku kostnú hmotu podáva

a. množstvo prvej zlúčeniny, pričom touto prvou zlúčeninou je zlúčenina všeobecného vzorca I, jej preliečivo, farmaceuticky vhodná soľ tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizomér alebo diastereoména zmes tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli; a

b. množstvo druhej zlúčeniny, pričom touto druhou zlúčeninou je antiresorpčné činidlo, jeho preliečivo alebo farmaceuticky vhodná soľ tohto činidla alebo preliečiva, ako agonista/antagonista estrogénu alebo bisfosfonát.

Takéto kompozície a spôsoby je možné používať tiež na iné zvyšovanie kostnej hmoty.

V prednostnom uskutočnení tohto spôsobu je stavom, ktorý sa prejavuje nízkou kostnou hmotou, osteoporóza.

Podľa iného prednostného uskutočnenia sa pri tomto spôsobe prvá zlúčenina a druhá zlúčenina podávajú v podstate súčasne.

Podľa ďalšieho aspektu je predmetom vynálezu kit, ktorý obsahuje:

a. množstvo zlúčeniny všeobecného vzorca I, jej preliečivá, farmaceuticky vhodné soli tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizoméru alebo diastereoméne zmesi tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli a farmaceuticky vhodný nosič alebo riedidlo v prvej jednotkovej dávkovacej forme;

b. množstvo antiresorpčného činidla, jeho preliečiva alebo farmaceuticky vhodné soli tohto činidla alebo preliečiva, ako agonistu/antagonistu estrogénu, alebo bisfosfonátu, a

farmaceuticky vhodný nosič alebo riedidlo v druhej jednotkovej dávkovacej forme; a

c. obalový prostriedok.

Ešte ďalším predmetom vynálezu je farmaceutická kompozícia, ktorej podstata spočíva v tom, že obsahuje zlúčeninu všeobecného vzorca I, jej preliečivo, farmaceuticky vhodnú soľ tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizomér alebo diastereoméru zmes tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli a iné kostné anabolické činidlo (druhým kostným anabolickým činidlom ale môže byť odlišná zlúčenina všeobecného vzorca I), jeho preliečivo alebo farmaceuticky vhodná soľ tohto činidla alebo preliečiva, a použitie takejto kompozície na liečenie stavov, ktoré sa prejavujú nízkou kostnou hmotou, ako je osteoporóza, u obratlovcov, napríklad cicavcov (napríklad ľudí, najmä žien) alebo použitie tiež kompozície na iné zvyšovanie kostnej hmoty. Taká kombinácia obsahuje terapeuticky účinné množstvo prvej zlúčeniny, ktorou je zlúčenina všeobecného vzorca I, jej preliečivo, farmaceuticky vhodná soľ tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizomér alebo diastereoméru zmes tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli, a terapeuticky účinné množstvo druhej zlúčeniny, ktorou je iné kostné anabolické činidlo, jeho preliečivo alebo farmaceuticky vhodná soľ tohto činidla alebo preliečiva.

Podľa ďalšieho aspektu je predmetom vynálezu spôsob liečenia obratlovcov, napríklad cicavcov, ktorí vykazujú nízku kostnú hmotu, pri ktorom sa obratlovcovi, napríklad cicavcovi, ktorý vykazuje nízku kostnú hmotu podáva

a. množstvo prvej zlúčeniny, pričom touto prvou zlúčeninou je zlúčenina všeobecného vzorca I, jej preliečivo, farmaceuticky vhodná soľ tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizomér alebo diastereoména zmes tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli; a

b. množstvo druhej zlúčeniny, pričom touto druhou zlúčeninou je iné kostné anabolické činidlo, jeho preliečivo alebo farmaceuticky vhodná soľ tohto činidla alebo preliečiva.

Takéto kompozície a spôsoby je možné používať tiež na iné zvyšovanie kostnej hmoty.

V prednostnom uskutočnení tohto spôsobu je stavom, ktorý sa prejavuje nízkou kostnou hmotou, osteoporóza.

Podľa ďalšieho aspektu je predmetom vynálezu kit, ktorý obsahuje:

a. množstvo zlúčeniny všeobecného vzorca I, jej preliečiva, farmaceuticky vhodné soli tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizoméru alebo diastereoméne zmesi tejto zlúčeniny, preliečiva alebo soli a farmaceuticky vhodný nosič alebo riedidlo v prvej jednotkovej dávkovacej forme;

b. množstvo druhej zlúčeniny, pričom touto druhou zlúčeninou je iné kostné anabolické činidlo, jeho preliečivo alebo farmaceuticky vhodná soľ tohto činidla alebo preliečiva, v druhej jednotkovej dávkovacej forme; a

c. obalový prostriedok.

Pri akejkoľvek z vyššie uvedených spôsobov alebo v kitoch alebo kompozíciách sa dáva prednosť alebo zvláštna prednosť určitým kostným anabolickým činidlám, agonistom/antagonistom estrogénu a bisfosfonátom.

Ako prednostné kostné anabolické činidlá je možné uviesť IGF-1, prostaglandíny, agonisti/antagonisti prostaglandínu, fluorid sodný, paratyroidný hormón (PTH), aktívne fragmenty paratyroidného hormónu, peptidy príbuzné paratyroidnému hormónu, aktívne fragmenty a analógy peptidov príbuzných paratyroidnému hormónu, rastové hormóny alebo sekretagógy rastového hormónu a ich farmaceuticky vhodné soli.

Ako prednostné agonisty/antagonisty estrogénu je možné uviesť droloxifén; raloxifén; tamoxifén; 4-hydroxytamoxifén; toremifén; centchroman; levormeloxifén; idoxifén;

6-(4-hydroxyfenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yletoxy)benzyl]-
naftalen-2-ol;

4-[2-(2-azabicyklo[2,2,1]hept-2-yl)etoxy]fenyl}-[6-hydroxy-2-
-(4-hydroxyfenyl)benzo[b]tiofen-3-yl]metanón;

3-(4-(1,2-difenylbut-1-enyl)fenyl)akrylovú kyselinu;

2-(4-metoxyfenyl)-3-[4-(2-piperidin-1-yletoxy)fenoxy]-
benzo[b]tiofén-6-ol;

cis-6-(4-fluorfenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yletoxy)fenyl]-
-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol;

(-)-cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yletoxy)fenyl]-5,6,7,8-
-tetrahydronaftalen-2-ol;

cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yletoxy)fenyl]-5,6,7,8-
-tetrahydronaftalen-2-ol;

cis-1-[6'-pyrrolidinoetoxy-3'-pyridyl]-2-fenyl-6-hydroxy-
-1,2,3,4-tetrahydronaftalén;

1-(4'-pyrrolidinoetoxyfenyl)-2-(4"-fluorfenyl)-6-hydroxy-
-1,2,3,4-tetrahydroizochinolín;

cis-6-(4-hydroxyfenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yletoxy)fenyl]-
-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol a

1-(4'-pyrrolidinoetoxyfenyl)-2-fenyl-6-hydroxy-1,2,3,4-
-tetrahydroizochinolín.

Ako zvlášť prednostné agonisty/antagonisty estrogénu je
možné uviesť

3-(4-(1,2-difenylbut-1-enyl)fenyl)akrylovú kyselinu;

2-(4-metoxyfenyl)-3-[4-(2-piperidin-1-yletoxy)fenoxyl]-
benzo[b]tiofén-6-ol;

cis-6-(4-fluorfenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yletoxy)fenyl]-
-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol;

(-)-cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yletoxy)fenyl]-5,6,7,8-
-tetrahydronaftalen-2-ol (lasofoxifén);

cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yloxy)fenyl]-5,6,7,8-
-tetrahydronaftalen-2-ol;

cis-1-[6'-pyrrolidinoetoxy-3'-pyridyl]-2-fenyl-6-hydroxy-
-1,2,3,4-tetrahydronaftalén;

1-(4'-pyrrolidinoetoxyfenyl)-2-(4"-fluorfenyl)-6-hydroxy-
-1,2,3,4-tetrahydroizochinolín;

cis-6-(4-hydroxyfenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yloxy)fenyl]-
-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ol a

1-(4'-pyrrolidinoetoxyfenyl)-2-fenyl-6-hydroxy-1,2,3,4-
-tetrahydroizochinolín.

Ako prednostné bisfosfonáty je možné uviesť tiludrónovú kyselinu, alendrónovú kyselinu, zoledrónovú kyselinu, ibandrónovú kyselinu, risedrónovú kyselinu, etidrónovú kyselinu, kłodrónovú kyselinu, pamidrónovú kyselinu a ich farmaceuticky vhodné soli.

Je zrejmé, že zo zlúčenín, ktoré sa v kombináciách podľa vynálezu používajú ako druhé zlúčeniny, môžu vzniknúť farmaceuticky vhodné soli a preliečivá. Všetky takto vzniknuté preliečivá a farmaceuticky vhodné soli spadajú do rozsahu tohto vynálezu. Ako príklady zvlášť prednostných solných foriem je možné uviesť hydrochlorid raloxifénu, citrát tamoxifénu a citrát toremifénu.

Pod pojmom "stav, ktorý sa prejavuje nízkou kostnou hmotou" sa rozumie stav, pri ktorom je úroveň kostnej hmoty pod normálnou hladinou špecifickou pre vek, ako je definovaná v štandardoch Svetovej zdravotníckej organizácie "Assesment of

Fracture Risk and its Application to Screening for Postmenopausal Osteoporosis (1994), Report of a World Health Organization Study Group. World Health Organization Technical Series 843". Takým stavom sa rozumie napríklad primárna a sekundárna osteoporóza uvedená vyššie. Spadajú sem tiež periodontálna choroba, úbytok alveolárnej kosti, stavy po osteotómii a juvenilný idiopatický úbytok kostnej hmoty. Stavom, ktorý sa prejavuje nízkou kostnou hmotou sa tiež rozumejú dlhodobé komplikácie osteoporózy, ako je zakrivenie chrbtice, strata výšky a voperovanie protézy.

Pojem "stav, ktorý sa prejavuje nízkou kostnou hmotou" sa vzťahuje tiež na obratlovce, napríklad cicavce, u ktorých je pravdepodobnosť vývoja niektoré z vyššie uvedených chorôb, ako je osteoporóza, vyššia ako priemerná (napríklad ženy po prechode, muži nad 50 let). Ako príklady zvyšovania alebo posilňovania kostnej hmoty je možné uviesť rekonštrukciu kostí, urýchľovanie hojenia zlomenín, všetky operácie s nahradzovaním kostnými štepami, urýchľovanie prijatia kostných štepov, urýchľovanie hojenia kostí po rekonštrukcii tváre alebo rekonštrukcii hornej alebo dolnej čeluste, prerastanie protézy, vertebrálnu synostózu a predlžovanie dlhých kostí.

Spôsoby podľa vynálezu je tiež možné používať spolu s ortopedickým aparátom, ako sú košíčky na fúziu chrbtice (spinal fusion cages), kovový aparát na fúziu chrbtice, zariadenie na vnútornú a vonkajšiu fixáciu kosti, skrutky a klince.

Odborníkom v tomto odbore bude zrejmé, že sa pod pojmom "kostná hmota" v skutočnosti rozumie hmotnosť kosti na jednotku plochy, ktorá je niekedy (aj keď nie celkom presne) označovaná ako minerálna hustota kosti.

Pojem "liečenie" alebo "liečba", ako sa ho používa v tomto texte, zahŕňa preventívnu (napríklad profylaktickú) a paliatívnu a kuratívnu liečbu.

Prívlastok "farmaceuticky vhodný" sa používa na označenie nosičov, vehikúl, riedidiel, excipientov a/alebo solí, ktoré musia byť kompatibilné s ostatnými zložkami formulácie a nepoškodzujú recipienta.

Pod pojmom "preliečivá" sa rozumejú zlúčeniny, ktoré sú prekursori liečiv, ktoré po podaní pôsobením určitého chemického alebo fyziologického mechanizmu uvoľňujú liečivo in vivo (napríklad sa preliečivo vystaví fyziologickému pH alebo sa na požadovanú formu liečiva prevedie enzymatickým pôsobením). Typické preliečivá po štiepení uvoľňujú zodpovedajúcu liečivú látku.

Pod pojmom "farmaceuticky vhodné soli" sa rozumejú soli obsahujúce netoxické anióny. Ako neobmedzujúce príklady takých solí je možné uviesť chloridové, bromidové, jodidové, sulfátové, hydrogénsulfátové, fosfátové, acetátové, maleátové, fumarátové, oxalátové, laktátové, tartrátové, citrátové, glukonátové, metánsulfonátové a 4-toluénsulfonátové soli. Do rozsahu pojmu "farmaceuticky vhodné soli" tiež spadajú soli s netoxickými kationmi. Ako neobmedzujúce príklady takých solí je možné uviesť soli, ktoré obsahujú kationy sodíka, draslíka, vápnika, horčíka, amónia alebo protonovaného benzatínu (N,N'-dibenzyletyléndiamínu), cholínu, etanolamínu, dietanolamínu, etyléndiamínu, meglamínu (N-metyl-glukamínu), benetamínu (N-benzylfenyletylamínu), piperazínu alebo trometamínu (2-amino-2-hydroxymetyl-1,3-propandiolu).

Odborníkovi v odbore chémie bude zrejmé, že niektoré zlúčeniny všeobecného vzorca I podľa tohto vynálezu môžu existovať v tautomérnej forme, to znamená že existuje rovnováha medzi dvoma izomérmi, pri ktorej jednotlivé izoméry môžu vzájomne rýchlo prechádzať jeden do druhého. Obvyklým príkladom tautomérie je tautoméria keto-enol, to je



Ako príklady zlúčenín, ktoré sa môžu vyskytovať ako tautoméry, je možné uviesť hydroxypyridíny, hydroxypyrimidíny a hydroxychinolíny. Odborník ale bude schopný uviesť ďalšie príklady. Do rozsahu vynálezu spadajú všetky takéto tautoméry a ich zmesi.

Do rozsahu vynálezu tiež spadajú zlúčeniny označené izotopmi, ktoré sú identické so zlúčeninami všeobecného vzorca I až na to, že v nich je jeden atóm alebo viacej atómov nahradené atómom s atómovou hmotnosťou alebo hmotnostným číslom odlišným od atómovej hmotnosti alebo hmotnostného čísla s akým sa obvykle nachádzajú v prírode. Ako príklady izotopov, ktoré je možné začleniť do zlúčenín podľa tohto vynálezu je možné uviesť izotopy vodíka, uhlíka, dusíka, kyslíka, fosforu, síry, fluóru a chlóru, ako je ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F a ^{36}Cl . Zlúčeniny všeobecného vzorca I podľa vynálezu, ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereooméne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí, ktoré obsahujú vyššie uvedené izotopy a/alebo iné izotopy iných atómov tiež spadajú

do rozsahu tohto vynálezu. Určité izotopovo označené zlúčeniny podľa vynálezu, napríklad zlúčeniny označené rádioaktívnymi izotopmi, ako ^3H alebo ^{14}C , sú užitočné pri skúškach distribúcie liečiva a/alebo substrátu v tkanivách. Zvláštna prednosť sa dáva tritiovaným izotopom, to je ^3H , a ^{14}C izotopom, pretože je ich možné jednoducho pripravovať a detegovať. Nahradením ťažšími izotopmi, ako deutériom, to je ^2H , je možné dosiahnuť určité terapeutické výhody vyplývajúce z vyššej metabolickej stability, napríklad predĺženie polčasu in vivo alebo zníženie potrebných dávok, čomu sa za určitých okolností dáva prednosť. Izotopovo označené zlúčeniny všeobecného vzorca I podľa tohto vynálezu a ich preliečivá je možné obvykle pripravovať uskutočňovaním spôsobov znázornených v schémach a/alebo opísaných v príkladoch uskutočnenia alebo prípravných postupoch, pri ktorých sa reakčné činidlo neoznačené izotopom nahradí jednoducho dostupným činidlom označeným izotopom.

Zlúčeniny všeobecného vzorca I podľa vynálezu obsahujú asymetrické atómy uhlíka, a preto sa vyskytujú vo forme enantiomérov alebo diastereomérov. Diastereomérne zmesi je možné deliť na individuálne diastereoméry na základe ich fyzikálno chemických odlišností o sebe známymi metódami, napríklad chromatografiou a/alebo frakčnou kryštalizáciou. Enantioméry je možné deliť tak, že sa enantioména zmes prevedie na diastereoméru zmes reakciou s vhodnou opticky aktívnou zlúčeninou (napríklad alkoholom), potom sa oddelia diastereoméry a jednotlivé diastereoméry sa prevedú (napríklad hydrolýzou) na zodpovedajúce čisté enantioméry. Enantioméry a diastereoméry podľa tohto vynálezu je tiež možné pripravovať za použitia vhodných enantiomérne obohatených východných látok alebo asymetrickými alebo diastereoselektívnymi reakciami, ktorými sa zavádzajú asymetrické atómy uhlíka so správnou

stereochemiou. Do rozsahu vynálezu spadajú všetky takéto izoméry, vrátane diastereomérov a enantiomérov, ako aj ich zmesi. Niektoré zlúčeniny podľa vynálezu sú kyslé a môžu tvoriť soli s farmaceuticky vhodnými kationmi. Všetky takéto soli spadajú do rozsahu tohto vynálezu a je možné ich pripravovať konvenčnými metódami. Tak napríklad je ich možné pripraviť jednoducho tak, že sa kyslé a zásadité zložky zmiešajú, obvykle v stechiometrickom pomere, vo vodnom, nevodnom alebo sčasti vodnom prostredí, podľa toho, ako je to vhodné. Soli sa izolujú buď filtráciou alebo vyzrážaním nerozpúšťadlom s nasledujúcou filtráciou, alebo odparením rozpúšťadla alebo, v prípade vodných roztokov, tiež lyofilizáciou, podľa toho, ako je to vhodné.

Spôsoby podľa tohto vynálezu vedú na tvorbu kosti, ktorej výsledkom je znížený počet zlomenín. Tento vynález predstavuje významný príspevok v tomto odbore, pretože poskytuje spôsoby, ktoré zvyšujú a zachovávajú kostnú hmotu, čo sa prejavuje prevenciou, retardáciou a/alebo regresiou osteoporózy a príbuzných kostných porúch.

Ďalšie znaky a výhody budú zrejmé z opisu tohto vynálezu a pripojených patentových nárokov.

Nasleduje podrobnejší opis vynálezu.

Zlúčeniny všeobecného vzorca I podľa tohto vynálezu (ktoré sú ďalej uvádzané pod súhrnným označením "zlúčeniny podľa tohto vynálezu") sa obvykle pripravujú spôsobmi, ktoré zahŕňajú spôsoby analogické spôsobom známym. Niektoré spôsoby môžu vyžadovať chránenie vzdialených funkčných skupín (napríklad primárny amín, sekundárny amín, sekundárny alkohol, primárny alkohol a karboxyskupina v prekurzoroch zlúčenín

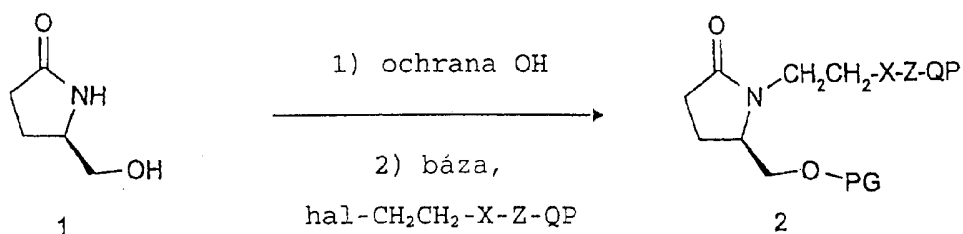
všeobecného vzorca I). Potreba takého chránenia sa bude meniť v závislosti na druhu vzdialenej funkčnej skupiny a podmienkach použitých pri príprave. Potrebu takého chránenia odborník v tomto odbore jednoducho rozozná. Používanie metód zavádzania/odštiepovania chrániacich skupín leží v rozsahu skúseností bežného odborníka. Pod pojmom "chrániaca skupina" sa rozumie zvyšok, ktorý je možné jednoducho pripojiť k funkčnej skupine substrátu a nasledovne ho jednoducho odštiepiť a ktorý zabraňuje odštiepeniu, zmene alebo inému poškodeniu chránenej funkčnej skupiny. Všeobecný opis chrániacich skupín a ich používanie je možné nájsť v publikácii Greene, T. W.; Wuts, P. G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2. vydanie; John Wiley and Sons, New York, USA, 1991. Východzie látky a reakčné činidlá na výrobu vyššie opísaných zlúčenín sú tiež jednoducho dostupné alebo je ich odborník v tomto odbore schopný syntetizovať za použitia obvyklých spôsobov syntézy organických zlúčenín.

Zlúčeniny všeobecného vzorca I sa obvykle pripravujú zavedením ochrany na hydroxyskupinu racemického alebo (R)-hydroxy-metyl-2-pyrrolidinónu a následnou alkyláciou amidového dusíka alkylhalogenidom, ktorý obsahuje vhodne chránený prekursor alebo izoster kyseliny (schéma A). Pod pojmom "izoster" sa v tomto texte rozumie funkčná skupina, ktorá keď je použitá namiesto inej funkčnej skupiny, sa svojou reaktivitou blíži reaktivite funkčnej skupiny, ktorú nahradzuje. Zavedenie vhodne chráneného prekursora alebo izosteru kyseliny (schéma B1) v niektorých prípadoch vyžaduje ďalšie spracovanie alkylhalogenidu. Chrániaca skupina hydroxyskupiny sa odstráni a alkohol sa oxiduje na aldehyd, ktorý sa potom nechá reagovať s aniónom vhodného ketofosfonátu (schéma C). Vzniknutý enón vzorca 8 zo schémy E sa potom podrobí redukcii ako dvojnej väzby, tak aj ketónu, za vzniku

požadovaných alkoholov vzorca 9 zo schémy E. V prípade potreby je možné uskutočniť diastereoselektívnu redukciu enónu za vzniku napríklad prevažne 15-(R) izoméru alebo 15-(S) izoméru. Ester karboxylovej kyseliny alebo izoster kyseliny (napríklad nitril) je možné potom previesť na vhodnú kyslú skupinu (karboxylovú kyselinu, tetrazol atď.).

Prednostným spôsobom, ktorým sa nitril prevádza na požadovaný tetrazol, je reakcia nitrilu s dibutylcínoxidom a trimetyl-silylazidom v refluxujúcom toluéne (S. J. Wittenberger a B. G. Donner, J. Org. Chem. 1993, 58, 4139-4141, 1993). Prehľad alternatívnych spôsobov prípravy tetrazolov pozri R. N. Butler, Tetrazoles, Comprehensive Heterocyclic Chemistry; Potts, K. T. ed.; Pergamon Press: Oxford, 1984, sv. 5, str. 791-838.

S c h é m a A



Konkrétnejšie sa zlúčeniny všeobecného vzorca I pripravujú spôsobmi opísanými ďalej. Pri postupe podľa prvej všeobecnej sekvencie, ktorá začína schémou A, sa hydroxyskupina 5-(R)-hydroxymetyl-2-pyrrolidinónu (od Aldrich Chemical alebo pripraveného spôsobom opísaným v Bruckner et al., Acta. Chim. Hung. Tomus, 21, 106 (1959)) vhodne chráni (Pg predstavuje vhodnú chrániacu skupinu) tak, že sa zlúčenina vzorca 1 nechá reagovať vo vhodnom rozpúšťadle inertnom voči reakcii. Pod pojmom "rozpúšťadlo inertné voči reakcii" a "inertné

rozpúšťadlo" sa rozumie rozpúšťadlo alebo zmes rozpúšťadiel neinteragujúca s východzími látkami, reakčnými činidlami, medziproduktami alebo produktami spôsobom, ktorý by negatívne ovplyvňoval výťažok požadovaného produktu. V niektorých prípadoch je uvedený zoznam prednostných rozpúšťadiel inertných voči reakcii. Pri konkrétnej reakcii je ale možné použiť akékoľvek rozpúšťadlo, ktoré splňuje definíciu rozpúšťadla inertného voči reakcii uvedenú vyššie vzhľadom k tejto reakcii. Všetky reakcie sa uskutočňujú v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, pokiaľ nie je konkrétne uvedené inak. Je možné použiť akékoľvek štandardné chrániace skupiny alkoholu. Ako príklady takých chrániacich skupín je možné uviesť tetrahydropyranylskupinu, trimetylsilylskupinu, terc-butyldimetylskupinu alebo benzylskupinu. Prednostnou chrániacou skupinou je terc-butyldimetylsilylskupina (TBS), ktorú je možné zavádzať štandardnými spôsobmi, ako spôsobmi opísanými v publikácii Greene, T. W.; Wuts, P. G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2. vydanie.; John Wiley and Sons Inc.: New York, 1991. V prednostnom uskutočnení sa reakcia 5-(R)-hydroxymetyl-2-pyrrolidinónu uskutočňuje v metylénchloride pri 0°C za použitia 0,1 ekv. 4-dimetylamínopyridínu, 1,1 ekv. terc-butyldimetyl-silylchloridu a 2 ekv. imidazolu (pozri napríklad *Tetrahedron Asymmetry*, 7, 2113, (1996)). Amidový dusík sa alkyluje za použitia jedného z radu alkylačných činidiel ($\text{hal-CH}_2\text{CH}_2\text{-X-Z-QP}$, kde hal predstavuje odstupujúcu skupinu, ako bromid alebo jodid, X a Z majú vyššie uvedený význam, QP predstavuje nitril, ester karboxylovej kyseliny alebo iný prekursor karboxylovej kyseliny alebo izoster kyseliny), čím sa zavedie bočný reťazec. Amidový dusík sa najprv deprotonuje vhodnou bázou. Ako prednostné bázy je možné uviesť hexametyldisilazid sodný (ktorý je tiež uvádzaný ako NaHMDS alebo $\text{NaN}(\text{SiMe}_3)_2$) alebo hydrid sodný, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, ako je N,N-

dimetylformamid (DMF), tetrahydrofurán (THF), 1,2-dimetoxyetán alebo 1,4-dioxán. Prednostne sa používa N,N-dimetylformamid. Vhodná teplota na tvorbu aniónu leží v rozmedzí od -78°C do teploty spätného toku použitého rozpúšťadla. Táto reakcia sa prednostne uskutočňuje pri teplote asi 0°C . Po vytvorení aniónu sa pridá alkylačné činidlo ($\text{hal-CH}_2\text{CH}_2\text{-X-Z-QP}$) a výsledný roztok sa mieša pri vhodnej teplote. Vhodná teplota na alkyláciu leží v rozmedzí od -20°C do teploty spätného toku použitého rozpúšťadla, prednostne v rozmedzí od 0 do 100°C . Ako typické alkylačné činidlá je možné uviesť primárne, sekundárne, benzylové, propargylové halogenidy a primárne, sekundárne, benzylové alebo propargylové sulfonáty. Prednostnými alkylačnými činidlami sú alkylbromidy alebo alkyljodidy.

Rad užitočných alkylačných činidiel všeobecného vzorca $\text{hal-CH}_2\text{CH}_2\text{-X-Z-QP}$ je dostupný na trhu. Napríklad etyl-7-bromheptanoát a 7-bromheptanonitril je možné získať od firmy Aldrich Chemical, P.O. Box 355, Milwaukee, Wis. 53201, USA. Tieto a iné požadované alkylačné činidlá, ktoré sa používajú pri spôsobe podľa vyššie uvedenej schémy, je možné pripravovať radom spôsobov, ktoré sú odborníkom v tomto odbore známe (pozri napríklad "The Chemistry of the Carbon-Halogen Bond," Ed. S. Patai, J. Wiley, New York, 1973 a/alebo "The Chemistry of Halides, Pseudo-Halides, and Azides," Eds. S. Patai a Z. Rappaport, J. Wiley, New York, 1983).

Alkylhalogenidy je tiež možné pripravovať halogenáciou alkoholu alebo derivátu alkoholu. Alkylchloridy sa z alkoholov typicky pripravujú za použitia činidiel, ako je chlorovodík, tionylchlorid, chlorid fosforečný, oxychlorid fosforitý alebo trifenylfosfín/tetrachlormetán, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii. Pri príprave alkylbromidov sa alkohol obvykle nechá

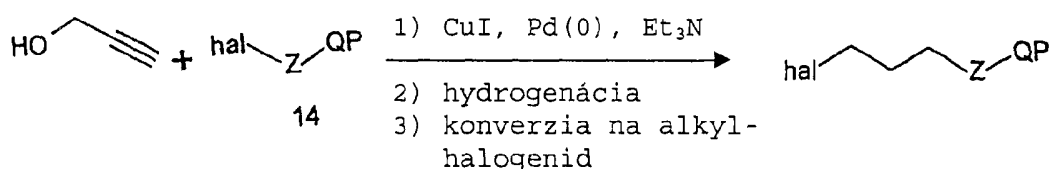
reagovať s činidlom, ako bromovodíkom, bromidom fosforitým, trifenylfosfínom/bromom alebo karbonyldiimidazolom/allylbromidom, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii. Pri príprave alkyljodidov sa alkohol typicky nechá reagovať s činidlom, ako trifenylfosfínom/jódom/imidazolom alebo jodovodíkom, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii. Alkylchloridy je možné previesť na reaktívnejšie alkylbromidy alebo alkyljodidy reakciou s anorganickou soľou, ako bromidom sodným, bromidom litným alebo jodidom draselným, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, ako acetóne alebo metyletylketóne. Alkylsulfonáty sa tiež používajú ako elektrofilý alebo sa prevádzajú na alkylhalogenidy. Sulfonáty sa z alkoholu pripravujú za použitia slabšej bázy, ako trietylaminu alebo pyridínu, a sulfonylchloridu v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, ako metylénchloride alebo dietyléteri. Konverzia na halogenid sa uskutočňuje tak, že sa alkylsulfonát nechá reagovať s anorganickým halogenidom (jodidom sodným, bromidom sodným, jodidom draselným, chloridom litným, bromidom litným atď.) alebo tetrabutylamóniumhalogenidom za prítomnosti rozpúšťadla inertného voči reakcii.

Alkylhalogenidy všeobecného vzorca $\text{hal-CH}_2\text{CH}_2\text{-X-Z-QP}$, kde Y predstavuje skupinu CH_2 a Z predstavuje fenylskupinu, tienylskupinu alebo tiazolylskupinu, je tiež možné pripravovať spôsobom znázorneným v schéme B1. Napríklad sa propargylalkohol nechá reagovať so zlúčeninou vzorca 14 (pozri schému 1) obsahujúcou vhodne chránený izoster kyseliny (hal-Z-QP), kde skupina "hal-Z" predstavuje arylbromid, jodid alebo trifluor-metánsulfonát, za prítomnosti jodidu meďného; katalyzátora obsahujúceho palládium, ako chloridu palladnatého, chloridu bis(trifenylfosfín)palladnatého alebo tetrakis(trifenylfosfín)-palládia(0); a aminu, ako trietylaminu, diizopropylaminu alebo butylaminu, v rozpúšťadle

inertnom voči reakcii, prednostne v aprotickom rozpúšťadle, ako acetonitrile, pri teplote od asi 0 do asi 100°C. Ďalšie odkazy pozri Tetrahedron, 40, 1433 (1984) a Org. Lett. 2, 12, 1729 (2000). Výsledné alkyny sa potom prevádzajú za zodpovedajúce alkány hydrogenáciou za prítomnosti katalyzátora obsahujúceho palládium alebo platinu, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, ako metanole, etanole a/alebo etylacetáte, pri teplote od asi 0 do asi 50°C. Alkoholická časť molekuly sa nahradí vhodnou odstupujúcou skupinou, ako bromidom alebo jodidom. Pri príprave alkylbromidov sa alkohol obvykle nechá reagovať s činidlom, ako bromovodíkom, bromidom fosforitým, trifenyľfosfínom/brómom alebo karbonyldiimidazolom/allylbromidom. Prednosť sa dáva použitiu karbonyldiimidazolu/allylbromidu. Alkyljodidy sa typicky pripravujú tak, že sa alkohol nechá reagovať s činidlom, ako trifenyľfosfínom/jód/om/imidazolom alebo jodovodíkom, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii. Alkylchloridy sa prevádzajú na reaktívnejšie alkylbromidy alebo alkyljodidy reakciou s anorganickou soľou, ako bromidom sodným, bromidom litným, jodidom sodným alebo jodidom draselným, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, ako acetóne alebo metyletylketóne. Alkylsulfonáty je možné použiť ako elektrofilý alebo je možné ich previesť na alkylhalogenidy. Alkylsulfonáty sa pripravujú zo zodpovedajúceho alkoholu za použitia slabšej bázy, ako trietylamínu alebo pyridínu a sulfonylchloridu v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, ako metylénchloride alebo dietyléteri. Konverzia na halogenid sa uskutočňuje tak, že sa alkylsulfonát nechá reagovať s anorganickým halogenidom, ako napríklad jodidom sodným, bromidom sodným, jodidom draselným, bromidom draselným, chloridom litným alebo bromidom litným, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii. Konverziu na halogenid je možné tiež uskutočňovať tak, že sa alkylsulfonát nechá reagovať s organickým amóniumhalogenidom, ako

tetrabutylamóniumhalogenidom, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii. Alkylchloridy sa typicky pripravujú z alkoholu za použitia reakčných činidiel, ako chlorovodíka, tionylchloridu, chloridu fosforečného, oxychloridu fosforitého alebo trifenyfosfínu/tetrachlormetánu.

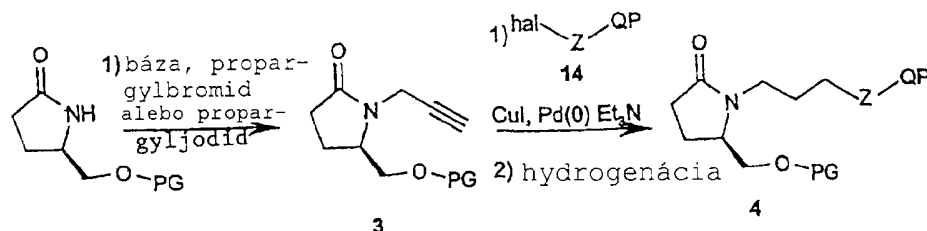
S c h é m a B 1



V niektorých prípadoch, ako je to znázornené v schéme B2, sa prednostne najprv uskutoční alkylácia propargylbromidom alebo jodidom a potom sa ďalším spracovaním zavedie vhodne chránený prekursor alebo izoster kyseliny. Napríklad keď je alkylačným činidlom propargylbromid alebo jodid, zlúčenina vzorca 3 (pozri schéma B2) sa nechá reagovať so zlúčeninou vzorca 14 (pozri schéma B2), ktorá obsahuje vhodne chránený prekursor alebo izoster kyseliny (Hal-Z-QP), kde skupina "hal-Z" predstavuje arylbromid, jodid alebo trifluormetán-sulfonát, za prítomnosti jodidu meďného; katalyzátora obsahujúceho palládium, ako chloridu palladnatého, chloridu bis(trifenyfosfín)palladnatého alebo tetrakis(trifenyfosfín)-palládia(0); a amínu, ako trietylaminu, diizopropylaminu alebo butylaminu, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, prednostne v aprotickom rozpúšťadle, ako acetonitrile, pri teplote od asi 0 do asi 100°C. Ďalšie odkazy pozri Tetrahedron, 40, 1433 (1984) a Org. Lett. 2, 12, 1729 (2000). Výsledné alkýny sa potom prevádzajú na zodpovedajúce alkány hydrogenáciou za prítomnosti katalyzátora

obsahujúceho palládium alebo platinu, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, ako metanole, etanole a/alebo etylacetáte, pri teplote od asi 0 do asi 50°C.

S c h é m a B 2



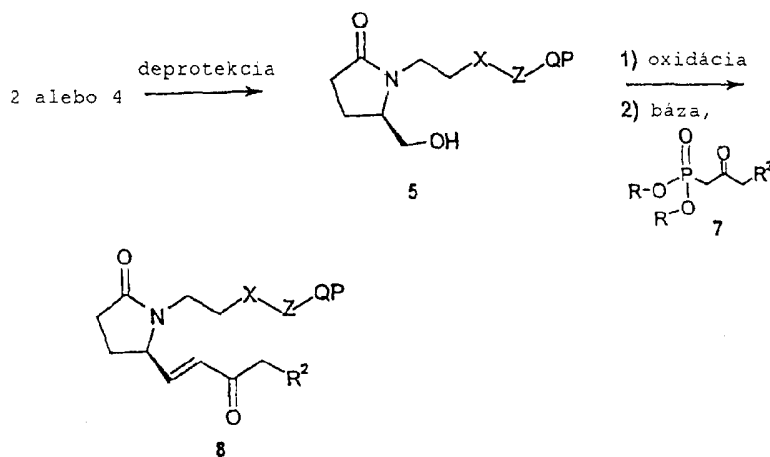
Halogénarylestery a halogénarylnitrily vzorca 14 (pozri schéma B2) sa pripravujú spôsobmi, ktoré sú v tomto odbore známe. Napríklad 2-bróm-4-(etoxykarbonyl)thiazol sa pripravuje spôsobom opísaným v J. Org. Chem. 61, 14, 4623, (1996); a 2-bróm-5-(etoxykarbonyl)thiazol sa pripravuje podľa spôsobu opísaného v Helv. Chim. Acta, 25, 1073, (1942). Iné halogénarylestery a halogénarylnitrily vzorca 14 zo schémy B2, ktoré môžu byť užitočné pri spôsoboch podľa tohto vynálezu, ako sú okrem iného etyl-4-brombenzoát a 4-brombenzonitril, sú dostupné na trhu. Etyl-2-bromtiofén-5-karboxylát sa pripravujú esterifikáciou 2-bromtiofénkarboxylovej kyseliny, ktorá je dostupná na trhu.

Potom sa odstránia chrániace skupiny alkoholu v zlúčeninách vzorca 2 zo schémy A alebo vzorca 4 zo schémy B2. Všeobecný opis deprotektie chránených alkoholov pozri Greene, T. W.; Wuts, P. G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, 2. vydanie; John Wiley and Sons Inc.: New York, 1991. *tert*-Butyldimetylsilylskupina sa zo zlúčenín vzorca 2 a 4 zo schémy B2 odstraňuje prednostne tak, že sa zlúčenina nechá reagovať s tetrabutylamóniumfluoridom alebo trifluoroctovou kyselinou v

rozpúšťadla inertnom voči reakcii, prednostne vhodnom protickom rozpúšťadla, pri teplote od asi -30°C do teploty okolia. Pod pojmom "teplota okolia" sa rozumie teplota bezprostredného nezmeneného okolia reakčnej zmesi. Teplota okolia je obvykle v rozmedzí 20 až 25°C . Zvlášť prednostným rozpúšťadlom je metylénchlorid. Teplota prednostne leží v rozmedzí od 0°C do teploty okolia. Iným prednostným spôsobom odstraňovania skupiny TBS je reakcia silyléteru s vodným roztokom minerálnej kyseliny v protickom rozpúšťadla. V tomto prípade sa silyléter prednostne nechá reagovať s 1M vodným roztokom kyseliny chlorovodíkovej v metanole pri teplote okolia. Po deprotekcii sa alkoholy oxidujú na aldehydy za použitia modifikovanej Pfitzner-Moffattovej oxidácie [K. E. Pfitzner a M. E. Moffatt, J. Am. Chem. Soc., 87, 5661 (1965)], ktorou sa minimalizuje racemizácia, pretože nedochádza na kontakt s vodou. Alkohol sa na aldehyd napríklad oxiduje tak, že sa alkohol mieša v rozpúšťadla inertnom voči reakcii, prednostne uhľovodíkovom rozpúšťadla, ako toluéne, xyléne alebo, prednostne benzéne, s dimetylsulfoxidom, slabou kyselinou, ako kyselinou octovou alebo, prednostne, pyridiniumtrifluoracetátom, a diimidom, ako dietylkarbodiimidom alebo, prednostne, dimetylamínopropyletylkarbodiimidom, alebo v prípade potreby hydrochloridom dimetylamínopropyletylkarbodiimidu, pri teplote od asi 0°C približne do teploty okolia počas asi 1 hodiny až asi 4 hodín. Alternatívne spôsoby oxidácie pri minimalizácii racemizácie asymetrického centra priliehajúceho k výslednému aldehydu sú podrobne diskutované v Tetrahedron Letters, 41, 1359, (2000) a zahŕňajú obvyklú Pfitzner-Moffattovu reakciu, oxidáciu komplexom oxid chromový-pyridín [J. Org. Chem., 35, 4000 (1970)], oxidáciu Dess-Martinovým činidlom [J. Org. Chem. 48, 4155, (1983)] alebo oxidáciu za použitia TEMPO-bielidlo [Tetrahedron Letters 33, 5029, (1992)].

Výsledný aldehyd sa prednostne bez prečistenia podrobí Horner-Wittigovej reakcii so sodnou alebo litnou soľou fosfonátu vzorca 7 zo schémy C (R predstavuje nižšiu alkylskupinu, halogénalkylskupinu alebo arylskupinu). Sodné alebo litné soli sa pripravujú napred predbežnou reakciou fosfonátu s vhodnou bázou, ako hydridom sodným alebo $\text{NaN}(\text{SiMe}_3)_2$ vo vhodnom rozpúšťadle inertnom voči reakcii, prednostne aprotickom éterovom rozpúšťadle, pri teplote od asi 0 do asi 50°C . Prednostným rozpúšťadlom je tetrahydrofurán a prednostnou teplotou teplota okolia. Roztok aldehydu sa potom pridá k soli fosfonátu v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, prednostne aprotickom rozpúšťadle, pri teplote od asi 0 do asi 50°C za vzniku enónu vzorca 8 zo schémy C. Rozpúšťadlom je prednostne tetrahydrofurán. Prednostnou teplotou je teplota okolia.

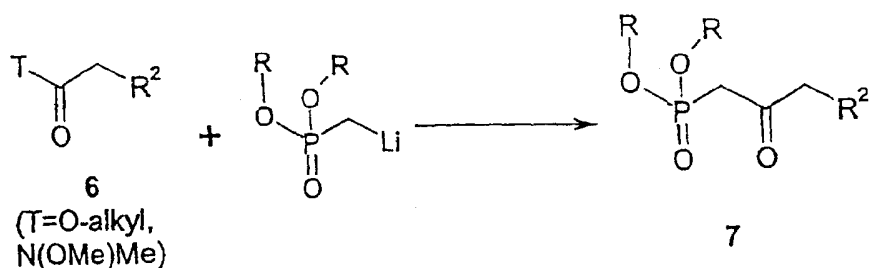
S c h é m a C



Spôsoby prípravy fosfonátov vzorca 7 zo schémy C1 je možné nájsť v US patente č. 3 932 389, US patente 4 177 346, Tetrahedron Lett., 30, 36, 4787-4790, (1989); a Angew.Chem., 108, 3, 366-369, (1996). Fosfonáty vzorca 7 sa všeobecne, ako

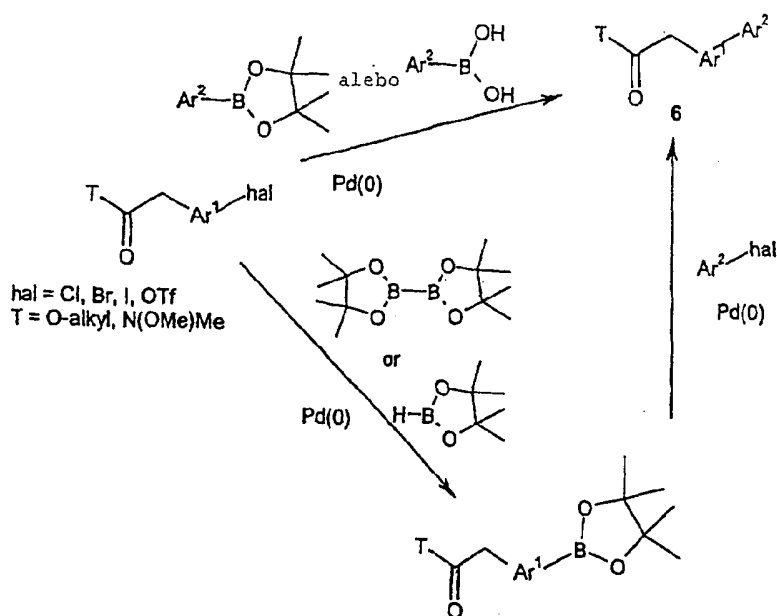
je znázornené v schéme C1, pripravujú reakciou vhodne substituovaného esteru aryloctovej kyseliny alebo metoxymetylamiidu aryloctovej kyseliny s činidlom obsahujúcim lítium odvodeným od dialkylmetylfosfonátu. Tieto spôsoby sú tiež aplikovateľné na estery metoxymetylamiidmi cykloalkyloctových kyselín, ako etylcyklohexylacetát a etylcyklopentylacetát. Estery aryl- a cykloalkyloctových kyselín je možné pripravovať esterifikáciou zodpovedajúcej octovej kyseliny za použitia spôsobov, ktoré sú odborníkom v tomto odbore známe. Metoxymetylamiidy sa pripravujú štandardnou reakciou, pri ktorej vzniká amidová väzba, zodpovedajúcej octovej kyseliny s metoxymetylamiínom. Prednostne sa kopulácia amínu s karboxylovou kyselinou uskutočňuje v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, ako dichlormetáne alebo dimetylformamide, za použitia kopulačného činidla, ako hydrochloridu 1-(3-dimetylaminopropyl-3-etylkarbodiimidu (EDC) alebo 1,3-dicyklohexylkarbodiimidu (DCC) za prítomnosti činidla aktivujúceho kyselinu, ako hydrátu 1-hydroxybenzotriazolu (HOBt), za vzniku metoxymetylamiidu. Pokiaľ je amín prítomný vo forme hydrochloridovej soli, do reakčnej zmesi sa prednostne pridáva jeden ekvivalent vhodnej bázy, ako trietylamiínu. Alternatívne sa kopulácia amínu s karboxylovou kyselinou uskutočňuje za prítomnosti kopulačného činidla, ako benzotriazol-1-ylxytris(di-metylamiño)fosfoniumhexafluorfosfátu (BOP), v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, ako metanole. Takéto kopulačné reakcie sa obvykle uskutočňujú pri teplotách od asi -30 do asi 80°C, prednostne od asi 0 do asi 25°C. Iné podmienky, ktoré je možné použiť pre amidové kopulácie sú diskutované v publikácii HeubenWeyl, sv. XV, časť 11, E. Wunsch, ed., George Theime Verlag, 1974, Stuttgart.

S c h é m a C 1



Potrebné aryloctové kyseliny a estery vzorca 6 zo schémy C1 sú dostupné na trhu alebo je možno ich pripravovať spôsobmi, ktoré sú odborníkom v tomto odbore dobre známe. Ako je znázornené v schéme C2, rad aryl- a heteroarylsubstituovaných aryloctových kyselín sa pripravuje Suzukiho kopuláciou vhodných arylboronových kyselín alebo arylboronátových esterov s požadovanými arylhalogenidmi (prehľad Suzukiho kopulačných reakcií pozri A. R. Martin a Y. Yang, *Acta Chem. Scand.* 1993, 47, 221 or *J. Am. Chem. Soc.*, 2000, 122, 17, 4020). Napríklad 3-pinakolboronátový ester etyl-3-bromfenylacetátu sa pripravuje spôsobom opísaným v Masuda et al., *J. Org. Chem.*, 65, 164 (2000). 3-Pinakolboronátový ester etyl-3-bromfenylacetátu sa potom kopuluje s požadovaným arylhalogenidom za vzniku požadovanej 3-arylfenylacetovej kyseliny (pozri *Synlett.*, 6, 829 (2000)). Hydroxysubstituované estery aryloctových kyselín sa alkylujú za použitia alkylhalogenidov a benzylových halogenidov spôsobmi, ktoré sú odborníkom v tomto odbore dobre známe.

S c h é m a C 2



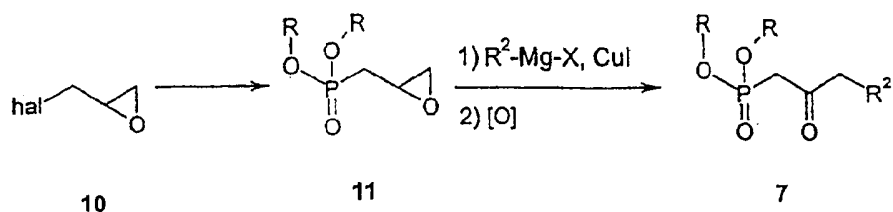
Prehľad spôsobov prípravy diaryléterov je možné nájsť v publikácii Angew. Chem., Int. Ed., 38, 16, 2345, (1999). Aryloctové kyseliny substituované alkyléterovým zoskupením je možné pripravovať za použitia Mitsunobuho podmienok (prehľad pozri Synthesis, 1, (1981)). Kopulácia medzi fenolickou zložkou a benzylovým alkoholom sa typicky dosiahne prídavkom trifenylfosfinu a dietylazodikarboxylátu alebo diizopropylazodikarboxylátu v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, ako metylénchloride alebo tetrahydrofuráne.

Alternatívne sa fosfonáty vzorca 7 zo schémy D pripravujú spôsobom znázorneným v schéme D. Obvykle sa trietyl- fosfit pomaly pridá k epibromhydrínu alebo epichlorhydrínu vzorca 10 pri teplote asi 135°C. Keď sa pridá trietylfosfit, teplota sa zníži na asi 105°C. Reakčná zmes sa cez noc zahrieva k spätnému toku a produkt, zlúčenina vzorca 11, sa izoluje vákuovou destiláciou (pozri Phosphorus, Sulfur Silicon Relat.

Elem., 165, 71 (1992) alebo U.S. patent č. 2 627 521). Potrebne Grignardove roztoky sa pripravujú z vhodných arylhalogenidov spôsobmi, ktoré sú odborníkom v tomto odbore dobre známe, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, prednostne éterovom rozpúšťadle, ako tetrahydrofuráne, a ochladia sa na asi -30°C . Po prídavku epoxidu vzorca 11 [Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem., 105, 45 (1995)] sa pridá katalytický jodid meďný. Potrebne arylhalogenidy (napríklad 3-brombifenyl) sú dostupné na trhu alebo sa pripravujú spôsobmi, ktoré sú odborníkom v tomto odbore dobre známe.

Výsledné alkoholy sa potom oxidujú, prednostne Swernovou oxidáciou [Synthesis, str. 165-185, (1981)] alebo Dess-Martinovým činidlom [J. Org. Chem. 48, 4155, (1983)]. Alternatívne je ich možné oxidovať Pfitzner-Moffattovou reakciou, za použitia komplexu oxid chrómový-pyridín [R. Ratcliffe, et al., J. Org. Chem., 35, 4000 (1970)], TEMPO-bielidlo [Tet. Lett. 33, 5029, (1992)], Jonesovou oxidáciou, oxidom manganičitým, pyrinídiunchlorchromátom alebo pyridíniumdichromátom za vzniku ketofosfonátov vzorca 7 zo schémy D.

S c h é m a D



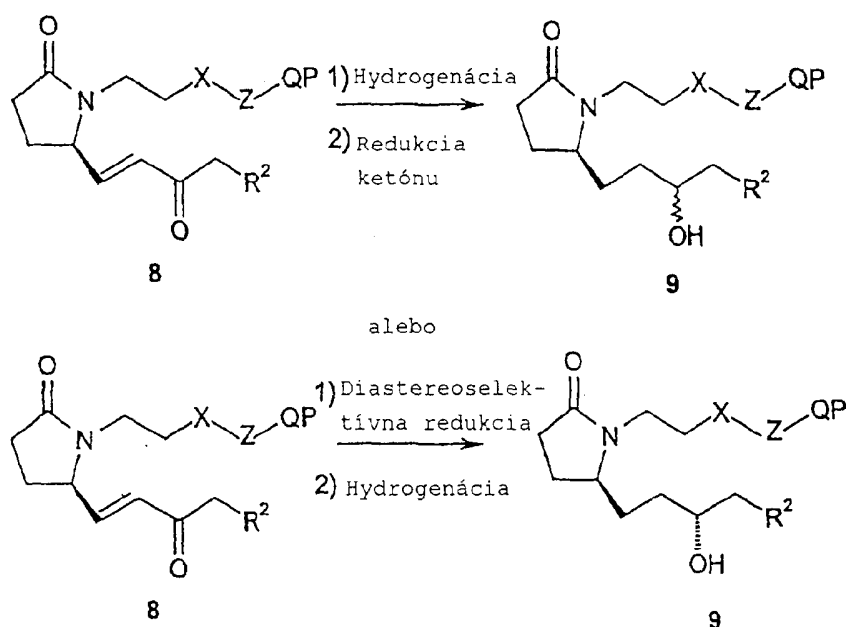
Enón vzorca 8 zo schémy E (ktorý je tiež možné pripraviť spôsobom znázorneným v schéme C) sa redukuje na zmes dia- stereomérických alkoholov vzorca 9 zo schémy E spôsobmi, ktoré

sú odborníkom v tomto odbore dobre známe. Obvykle sa postupuje tak, že sa dvojná väzba enónu najprv redukuje katalytickou hydrogenáciou. V prednostnom uskutočnení sa dvojná väzba redukuje hydrogenáciou za prítomnosti katalyzátora obsahujúceho vzácny kov, ako palládia na uhlíku alebo oxidu platiny, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, ako etylacetáte, metanole alebo etanole, pri teplote miestnosti až približne teplote spätného toku použitého rozpúšťadla za tlaku vodíka 0,1 až 0,4 MPa. Výsledný ketón sa potom nechá reagovať s redukčným činidlom, prednostne tetrahydroboritanom sodným, v protickom rozpúšťadle, prednostne etanole alebo metanole, za vzniku alkoholu vzorca 9 zo schémy E. Rovnako jednoducho je možné použiť iné známe selektívne redukčné činidlá, ktoré budú redukovať ketón, ale nie iné skupiny, ako je napríklad tetrahydroboritan zinočnatý alebo lítiumbórhydrid. Teplota sa volí na základe aktivity redukčného činidla a prednostne leží v rozmedzí od asi 0°C do teploty okolia. V prípade potreby je zmes alkoholov vzorca 9 možné rozdeliť preparatívnou chromatografiou alebo HPLC, čím sa získa požadovaný 15-(R) diastereomér.

Pri alternatívnej sekvencii, ktorá je znázornená v schéme E, sa enón vzorca 8 zo schémy E najprv nechá reagovať s hydridovým redukčným činidlom za prítomnosti chirálneho katalyzátora. Pod pojmom "hydridové redukčné činidlo" sa rozumejú zlúčeniny, ktoré sú schopné redukovať zlúčeninu vo vyššom oxidačnom stave tak, že jej odovzdajú vodík. Ako prednostné hydridové redukčné činidlá je možné uviesť katecholborany. Prednostným chirálnym katalyzátorom na enantioselektívne uskutočňovanie takých reakcií je (R)-2-metyl-CBS-oxazaborolidínové činidlo (Aldrich Chemical Co.) (pozri spôsob opísaný v Eur. J. Org. Chem., 2655 (1999)). Redukcia sa uskutočňuje v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, prednostne

aprotickom rozpúšťadle, ako metylénchloride, pri teplote od asi -100°C do teploty okolia, prednostne pri asi -40°C . Alternatívne spôsoby a katalyzátory, ktoré je možné využiť pri stereoselektívnej redukcii enónového karbonylu sú opísané v J. Am. Chem. Soc., 117, 2675, (1995); J. Am. Chem. Soc., 101, 5843, (1979); Tett. Lett., 31, 611, (1990); US patente č. 6 037 505; a Angew. Chem. Int. Ed., 37, 1986, (1998). Potom sa redukuje dvojná väzba allylického alkoholu. V prednostnom uskutočnení sa dvojná väzba redukuje hydrogenáciou za prítomnosti katalyzátora obsahujúceho vzácny kov, ako palládia na uhlíku alebo oxidu platiny, v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, ako etylacetáte, metanole alebo etanole, pri teplote okolia až teplote spätného toku použitého rozpúšťadla za tlaku vodíka 0,1 až 0,4 MPa.

S c h é m a E

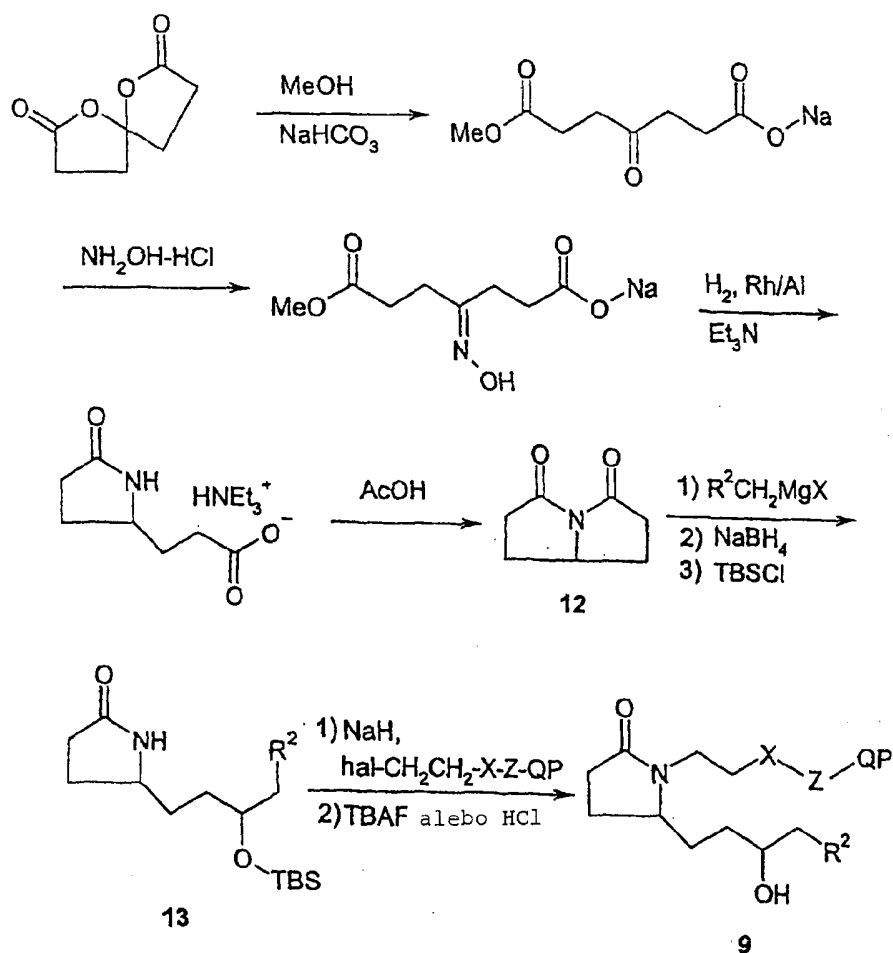


Alternatívny spôsob prípravy zlúčenín vzorca 9 zo schémy F je znázornený v schéme F. Tetrahydropyrrolizín-3,5-dión

(zlúčenina vzorca 12 zo schémy F) sa pripraví spôsobom opísaným v US patente č. 4 663 464 alebo J. Med. Chem. 30; 3; 498-503; (1987). Zlúčenina vzorca 12 zo schémy F sa potom pri vhodnej teplote rozpustí v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, prednostne aprotickom rozpúšťadle. V prednostnom uskutočnení sa táto zlúčenina rozpustí v metylénchloride pri asi 0°C. Vzniknutá zmes sa zmieša s vhodným Grignardovým činidlom (ďalšie odkazy na prídavok Grignardových činidiel k zlúčenine vzorca 12 zo schémy F pozri Synth. Commun., 18, 1, 37-44, (1988); Helv. Chim. Acta, 70, 2003-2010, (1987)). Úplný priebeh reakcie je možné zjednodušiť tak, že sa reakčná zmes zahreje na teplotu okolia. Vzniknutý ketón sa potom nechá reagovať s redukčným činidlom, prednostne tetrahydroboritanom sodným, v protickom rozpúšťadle, prednostne etanole alebo metanole. Rovnako jednoducho je možné použiť iné známe selektívne redukčné činidlá, ktoré budú redukovať ketón, ale nie iné skupiny, ako je napríklad tetrahydroboritan zinočnatý alebo lítiumbórhydrid. Teplota sa volí na základe aktivity redukčného činidla a prednostne leží v rozmedzí od asi 0°C do teploty okolia. Potom sa vhodne chráni vzniknutá hydroxyskupina. Je možné použiť štandardné chrániace skupiny alkoholu, ako je tetrahydropyranylskupina, trimetylsilylskupina, terc-butyldimetylsilylskupina alebo benzylskupina. Prednostne sa používa terc-butyldimetylsilylskupina, ktorá sa zavádza štandardnými spôsobmi, opísanými v publikácii Greene, T. W.; Wuts, P. G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, 2. vydanie; John Wiley and Sons Inc.: New York, USA, 1991. Za prednostných podmienok sa táto reakcia uskutočňuje tak, že sa alkohol nechá reagovať v dimetylformamide pri teplote okolia s 0,1 ekv. 4-dimetylamino-pyridínu, 1,1 ekv. terc-butyldimetylsilylchloridu a 2 ekv. imidazolu.

Výsledná zlúčenina vzorca 13 zo schémy F sa potom alkyluje na dusíku jedným z radu alkylačných činidiel vzorca $\text{hal-CH}_2\text{CH}_2\text{-X-QP}$, čím sa zavedie požadovaný bočný retazec. Amidový dusík sa najprv deprotónuje vhodnou bázou v rozpúšťadle inertnom voči reakcii. Ako prednostné bázy je možné uviesť $\text{NaN}(\text{SiMe}_3)_2$ alebo hydrid sodný v rozpúšťadle inertnom voči reakcii, ako je DMF, tetrahydrofurán, dimetoxyetán alebo dioxán. Prednostne sa používa N,N-dimetylformamid. Vhodná teplota na tvorbu aniónu leží v rozmedzí od -78°C približne do teploty spätného toku použitého rozpúšťadla. Táto reakcia sa prednostne uskutočňuje pri teplote okolia. Po vytvorení aniónu sa pridá alkylačné činidlo vzorca $\text{hal-CH}_2\text{CH}_2\text{-X-Z-QP}$ a výsledný roztok sa mieša pri teplote v rozmedzí od -20°C približne do teploty spätného toku použitého rozpúšťadla, prednostne v rozmedzí od teploty okolia do 100°C . Ako typické alkylačné činidlá je možné uviesť primárne halogenidy a primárne sulfonáty. Prednostne sa používa alkylbromid alebo alkyljodid. Chrániacu skupinu alkoholu je potom možné odstrániť za použitia spôsobov, ktoré sú odborníkom v tomto odbore dobre známe (pozri Greene, T. W.; Wuts, P. G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2. vydanie.; John Wiley and Sons Inc.: New York, USA, 1991) za vzniku zlúčenín vzorca 9.

S c h é m a F



Zlúčeniny vzorca 9 zo schémy F sa prevádzajú na zlúčeniny všeobecného vzorca I spôsobmi, ktoré sú odborníkom v tomto odbore dobre známe. V prípade, že skupina QP predstavuje ester karboxylovej kyseliny, je možné použiť podmienky kyslej alebo bázickej vodnej hydrolýzy. Nižšie alkylestery sa typicky hydrolyzujú bázicky katalyzovanou hydrolýzou v rozpúšťadle inertnom voči reakcii pri teplote okolia až približne teplote spätného toku použitého rozpúšťadla. V prednostnom uskutočnení sa nižší alkylester hydrolyzuje vodným 1M hydroxidom sodným v metanole pri vhodnej teplote, prednostne pri teplote okolia.

Keď QP predstavuje benzylester alebo *terc*-butylester, je možné použiť štandardné metódy deproteckcie, ako spôsoby opísané v publikácii Greene, T. W.; Wuts, P. G. M., *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2. vydanie; John Wiley and Sons Inc.: New York, 1991. Keď QP predstavuje nitril a nie chránenú karboxylovú kyselinu, tetrazol sa prednostne pripravuje tak, že sa nitril nechá reagovať s dibutylcínoxidom a trimetylsilylziadom v refluxujúcom toluéne (S. J. Wittenberger a B. G. Donner, *J. Org. Chem.* 1993, 58, 4139-4141, 1993). Prehľad alternatívnych spôsobov prípravy tetrazolov pozri R. N. Butler, *Tetrazoles*, *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*; Potts, K. T. Ed.; Pergamon Press: Oxford, 1984, sv. 5, str. 791-838.

Všetky selektívni agonisti receptora EP4, ktorí sa používajú pri spôsoboch podľa vynálezu, sú prispôsobené na terapeutické použitie vo forme činidiel, ktoré stimulujú tvorbu kosti a zvyšujú kostnú hmotu obratlovcov, napríklad cicavcov, a najmä ľudí. Pretože tvorba kosti úzko súvisí s rozvojom osteoporózy a kostných porúch, užitočnosť agonistov, ktoré sa používajú pri spôsoboch podľa vynálezu, spočíva v tom, že svojim účinkom na kosti zabraňujú osteoporóze, zastavujú a/alebo regredujú osteoporózu.

Užitočnosť selektívnych agonistov EP4, ktoré sa používajú pri spôsoboch podľa vynálezu ako liečivá na liečenie stavov, ktoré sa prejavujú nízkou kostnou hmotou (napríklad osteoporózy) obratlovcov, napríklad cicavcov (zvlášť ľudí, najmä žien), je možné demonštrovať pomocou účinnosti agonistov pri konvenčných skúškach, ako je skúška s väzbou na receptor, skúška s cyklickým AMP, *in vivo* stanovenie a skúška hojenia zlomeniny (všetky tieto skúšky sú opísané ďalej). Také skúšky je tiež možné použiť ako prostriedky na porovnanie účinnosti

selektívnych agonistov EP4 medzi sebou a s účinnosťou iných známych zlúčenín a kompozícií. Výsledky týchto porovnávacích skúšok sú užitočné na určenie úrovni dávkovania u obratlovcov, napríklad u cicavcov, vrátane človeka, pri liečení takých chorôb.

Skúška in vivo

Účinnosť činidiel s anabolickým účinkom na kosti pri stimulácii tvorby kosti a zvyšovaní kostnej hmoty je možné skúšať na intaktných samcoch alebo samiciach potkana alebo na samcoch alebo samiciach potkana s deficienciou pohlavných hormónov (po orchidektómii alebo ovariektómii).

Na štúdiu je možné použiť samce alebo samice potkana rôzne staré (ako 3 mesiace). Buď intaktným alebo kastrovaným (ovariektomizovaným alebo orchidektomizovaným) potkanom sa 30 dní subkutánnymi injekciami alebo žalúdočnou sondou podávajú agonisti prostaglandínu v rôznych dávkach (ako 1, 3 alebo 10 mg/kg/deň). V prípade kastrovaných potkanov sa ošetrovanie zahájí nasledujúci deň po chirurgickom výkone (za účelom prevencie straty kostného tkaniva) alebo v dobe, keď už na stratu kostného tkaniva došlo (za účelom jeho znovuoobnovenia). Všetkým zvieratám sa počas skúšky nechá voľný prístup k vode a peletizovanej potrave dostupnej na trhu (Teklad Rodent Diet #8064, Harlan Teklad, Madison, WI, USA) obsahujúcej 1,46 % vápnika, 0,99 % fosforu a 4,96 IU/g vitamínu D₃. 12 dní a 2 dni pred usmrtením sa všetkým potkanom subkutánnymi injekciami podá 10 mg/kg kalceínu. Potkani sa usmrtia a uskutočnia sa nasledujúce merania:

Stanovenie minerálov vo femure

Pri pitve sa každému potkanovi vyberie pravý femur a podrobí skenovaniu za použitia zariadenia pre röntgenovú absorpciometriu pri dvoch energetických úrovniach (duálna fotónová röntgenová technika, DXA, QDR 1000/W, Hologic Inc., Waltham, MA, USA) vybaveného softwarom "Regional High Resolution Scan" (Hologic Inc., Waltham, MA, USA), pričom veľkosť snímaného poľa je 5,08 x 1,902 cm, rozlíšenie 0,0254 x 0,0127 cm a rýchlosť snímania 7,25 mm/s. Analyzujú sa skenové obrazce femuru a stanoví sa kostná plocha, minerálny obsah kosti (BMC) a minerálna hustota kosti (BMD) celého femuru (WF), distálne femorálne metafýzy (DFM), drieku femuru (FS) a proximálneho femuru (PF).

Histomorfometrická analýza tibiae

Pri pitve sa vyberie pravá píštalová kosť, svaly sa odpreparujú a kosť sa nareže na tri časti. Proximálne tibiae a driek tibiae sa fixujú v 70% etanole, dehydrujú etanolom s odstupňovanou koncentráciou, v acetóne zbavia tuku a potom uložia do metylmetakrylátu (Eastman Organic Chemicals, Rochester, NY, USA).

Predné časti proximálnej metafýzy tibiae sa za použitia zariadenia pre mikrotómy Reichert-Jung Polycut S narežú na hrúbku 4 a 10 μm . Rezy s hrúbkou 4 μm sa zafarbia modifikovaným Massonovým farvivom Trichrome, zatiaľ čo 10 μm rezy sa nechajú nezafarbené. Pre histomorfometriu spongiózneho kosti sa použije jeden 4 μm a jeden 10 μm rez od každého potkana.

Za použitia mikrotómu Reichert-Jung Polycut S sa pripraví priečne rezy drieku tibiae s hrúbkou 10 μm . Tieto

rezy sa použijú na histomorfometrickú analýzu kortikálnej kosti.

Histomorfometria spongiózneho kosti

Na šstatické a dynamické histomorfometrické merania sekundárnej spongiózy proximálnej metafýzy tibia medzi 1,2 a 3,6 mm dištálne k junkcii rastovej chrupky a epifýzy sa použije histomorfometrický systém Bioquant OS/2 (R&M Biometrics, Inc., Nashville, TN, USA). Prvých 1,2 mm metafýzovej oblasti tibia je treba vynechať, aby sa meranie obmedzilo na sekundárnu spongiózu. Na stanovenie ukazovateľov objemu kosti, štruktúry kosti a resorpcie kosti sa použijú 4µm rezy, zatiaľ čo na stanovenie ukazovateľov tvorby kostného tkaniva a obratu kosti sa použijú 10µm rezy.

I. Meranie a výpočty objemu a štruktúry hubovitej kosti:

1. Celková plocha metafýzy (TV, mm²); plocha metafýzy medzi 1,2 a 3,6 mm dištálne k junkcii rastovej chrupky a epifýzy.

2. Plocha hubovitej kosti (BV, mm²): celková plocha hubovitej kosti v TV.

3. Obvod hubovitej kosti (BS, mm): dĺžka celkového obvodu hubovitej kosti.

4. Objem hubovitej kosti (BV/TV, %): $BV/TV \times 100$.

5. Trabekulárne kostné číslo (TBN, #/mm): $1,199/2 \times BS/TV$.

6. Hrúbka hubovitej kosti (TBT, μm): $(2000/1,199) \times x$ (BV/BS).

7. Trabekulárna kostná separácia (TBS, μm): $(2000 \times 1,199) \times x \times (TV-BV)$.

II. Meranie a výpočty týkajúce sa resorpcie kosti

1. Počet osteoklastov (OCN, #): celkový počet osteoklastov v celej oblasti metafýzy.

2. Obvod osteoklastov (OCP, mm): dĺžka obvodu hubovitej kosti pokrytej osteoklastmi.

3. Počet osteoklastov na milimeter (OCN/mm, #/mm): OCN/BS.

4. Percentá obvodu osteoklastov (%OCP, %): $OCP/BS \times 100$.

III. Meranie a výpočty týkajúce sa tvorby kostného tkaniva a obratu kosti

1. Obvod raz označený kalceínom (SLS, mm): celková dĺžka obvodu hubovitej kosti s jednou kalceínovou značkou.

2. Obvod dvakrát označený kalceínom (DLS, mm): celková dĺžka obvodu hubovitej kosti s dvoma kalceínovými značkami.

3. Vzďialenosť medzi značkami (ILW, μm): priemerná vzdialenosť medzi dvoma kalceínovými značkami.

4. Percento mineralizovaného obvodu (PMS, %): $(SLS/2 + DLS)/BS \times 100$.

5. Rýchlosť minerálnej apozície (MAR, $\mu\text{m}/\text{deň}$):
ILW/značkový interval.

6. Rýchlosť tvorby kosti/povrch ref. (BFR/BS, $\mu\text{m}^2/\text{deň}/\mu\text{m}$):
(SLS/2+DLS)xMAR/BS.

7. Rýchlosť obratu kosti (BTR, $\%/rok$): (SLS/2+DLS) x
x MAR/BV x 100.

Histomorfometria kortikálnej kosti

Na štatické a dynamické histomorfometrické merania kortikálneho tkaniva drieku tíbie sa použije histomorfometrický systém Bioquant OS/2 (R&M Biometrics, Inc., Nashville, TN, USA). Vypočíta sa celková plocha tkaniva, plocha medulárnej dutiny, obvod periostu, obvod endokortexu, raz označený obvod, dvakrát označený obvod a vzdialenosť medzi značkami ako na povrchu okostice, tak na endokortexe a ďalej plocha kortexu kosti (celková plocha tkaniva - plocha medulárnej dutiny), percentický podiel plochy kortexu kosti (plocha kortexu/celková plocha tkaniva x 100), percentický podiel medulárnej dutiny (plocha medulárnej dutiny/celková plocha tkaniva x 100), percentický označený obvod periostu a endokortexu [(raz označený obvod/2 + dvakrát označený obvod)/celkový obvod x 100], rýchlosť minerálnej apozície (vzdialenosť medzi značkami/intervalmi) a rýchlosť tvorby kosti [rýchlosť minerálnej apozície x x [(raz označený obvod/2 + dvakrát označený obvod)/celkový obvod]].

Štatistické metódy

Štatistické údaje sa vypočítajú za použitia balíčku StatView 4,0 (Abacus Concepts, Inc., Berkeley, CA, USA). Na porovnanie rozdielov medzi skupinami sa použije analýza variancie (ANOVA) a potom Fisherovej PLSD (Stat View, Abacus Concepts Inc., 1918 Bonita Ave Berkeley, CA, 94704-1014).

Kódujúce sekvencie pre receptor EP1 s plnou dĺžkou sa pripravujú spôsobom opísaným vo Funk et al., Journal of Biological Chemistry, 1993, 268, 26767 až 26772. Kódujúce sekvencie pre receptor EP2 s plnou dĺžkou sa pripravujú spôsobom opísaným v Regan et al., Molecular Pharmacology, 1994, 46, 213 až 220. Kódujúce sekvencie pre receptor EP3 s plnou dĺžkou sa pripravujú spôsobom opísaným v Regan et al., British Journal of Pharmacology, 1994, 112, 377 až 385. Kódujúce sekvencie pre receptor EP4 s plnou dĺžkou sa pripravujú spôsobom opísaným v Bastien, Journal of Biological Chemistry, 1994, 269, 11873 až 11877. Tieto receptory s plnou dĺžkou sa použijú na prípravu buniek 293S, ktoré exprimujú receptory EP1, EP2, EP3 a EP4.

Bunky 293S, ktoré exprimujú receptor ľudského prostaglandínu E₂ EP1, EP2, EP3 alebo EP4 sa pripravujú postupmi dobre známymi odborníkom v tomto odbore. Obvykle sa postupmi dobre známymi odborníkom v tomto odbore pripravujú PCR priméry zodpovedajúce 5' a 3' koncom publikovaného receptora s plnou dĺžkou a použijú sa pri RT-PCR reakcii za použitia celej RNA z ľudských obličiek (pre EP1), ľudských pľúc (EP2), ľudských pľúc (EP3) alebo ľudských lymfocytov (EP4), ako zdroja. PCR produkty sa klonujú postupom s TA presahom do pCR2,1 (Invitrogen, Carlsbad, CA) a totožnosť klonovaného receptora sa potvrdí sekvencovaním DNA.

Do buniek 293S (Mayo, Dept. of Biochemistry, Northwestern Univ.) sa elektroporáciou transfekuje klonovaný receptor v pcDNA3. Po selekcii transfekovaných buniek pomocou G418 sa získajú stabilné bunkové línie exprimujúce receptor.

Po väzbovej skúške za použitia $^3\text{H-PGE}_2$, pri ktorej je kompetitorom neoznačený PGE_2 , sa zvolia klonované bunkové línie exprimujúce maximálny počet receptorov.

Skúška účinnosti na hojenie zlomenín

Skúška účinnosti na hojenie zlomenín po systemickom podávaní

Vyvolanie zlomeniny

Potkani Sprague-Dawley starí 3 mesiace sa anestetizujú ketamínom. Proximálnou časťou pravej tibiie alebo femuru sa vedie 1cm anteromediálny rez. Nasledujúci opis sa týka chirurgického postupu na tibií. Uskutoční sa rez ku kosti a 4 mm proximálne k dištálnej polohe tibiálnej drsnatiny a 2 mm od stredovej čiary k prednému valu sa vyvrtá 1mm otvor. Nitro-dreňové zaklincovanie sa uskutoční za použitia 0,8mm rúročky z nehrdzavejúcej oceli (maximálna záťaž 36,3 N, maximálna tuhosť 61,8 N/mm, pri skúške za rovnakých podmienok ako kosti). Neuskutočňuje sa žiadne rozširovanie medulárneho kanálu. 2 mm nad tibiiofibulárnou junkciou sa spôsobí štandardizovaná uzavrená zlomenina trojbodovým ohnutím za použitia špeciálne skonštruovaných nastaviteľných klieští s tupými čelustmi. Za účelom minimalizácie poškodenia mäkkých tkanív, sa pracuje opatrne, aby nedošlo na dislokáciu zlomeniny. Koža sa uzavrie šitím nylónovým monofilamentom. Operácia sa uskutočňuje za sterilných podmienok. Bezprostredne po zaklincovaní sa

fraktúry zröntgenujú. Zvieratá so zlomeninami mimo danú oblasť diafýzy alebo s dislokovanými klincami sa vylúčia. Za účelom skúšania hojenia zlomenín sa zostávajúce zvieratá náhodne rozdelia do ďalej opísaných skupín, pričom každá podskupina má 10 až 12 zvierat. Prvej skupine sa denne žalúdočnou sondou podáva vehikulum (zmes vody a 100% etanolu v pomere 95 : 5, 1 ml/potkan), zatiaľ čo zostávajúcim sa denne žalúdočnou sondou podáva skúšaná zlúčenina v dennej dávke 0,01 až 100 mg/kg (1 ml/potkan), počas 10, 20, 40 a 80 dní.

10., 20., 40. a 80. deň sa 10 až 12 potkanov z každej skupiny anestetizuje ketamínom a usmrť exsanguináciou. Obidve tibiofibulárne kosti sa vyrežú a zbavia všetkých mäkkých tkanív. Kosti 5 až 6 potkanov z každej skupiny sa na účely histologickej analýzy uchovávajú v 70% etanole a kosti ďalších 5 až 6 potkanov z každej skupiny sa na účely rádiografie a biomechanického skúšania uchovávajú v pufrovanom Ringerovom roztoku (+4°C, pH 7,4).

Histologická analýza

Spôsoby histologickej analýzy zlomenín kostí boli publikované v Mosekilde a Bak (The Effects of Growth Hormone on Fracture Healing in Rats: A Histological Description. Bone, 14: 19 až 27, 1993). Tieto postupy je možné jednoducho opísať takto: Zlomená kosť sa odreže vo vzdialenosti 8 mm na obidve strany od línie lomu a nedekalcifikovaná uloží do metylmetakrylátu. Za použitia mikrotómu Reichert-Jung Polycut sa pripravia čelné rezy s hrúbkou 8 µm. Na vizualizáciu bunkovej a tkanivovej odpovedi na hojenie zlomeniny s ošetrením a bez ošetrenia sa použijú stredné čelné rezy (ako kosti pištálovej, tak kosti lýtkovej) barvených Masson-Trichrome. Rezy zafarbené červeňou Sirius sa použijú na

demonštráciu štrukturálnych charakteristík kalusu a na rozlíšenie medzi vláknitou kosťou a lamelárnou kosťou v mieste fraktúry. Uskutočnia sa nasledujúce merania: (1) rozstup zlomeniny - meria sa ako najkratšia vzdialenosť medzi koncami kortikálnej kosti v zlomenine, (2) dĺžka kalusu a priemer kalusu, (3) celkový objem oblasti kalusu v kosti, (4) kostné tkanivo na oblasť tkaniva vo vnútri oblasti kalusu, (5) vláknité tkanivo v kaluse, (6) chrupkovitá oblasť v kaluse.

Biomechanická analýza

Biomechanické analytické postupy sú opísané v Bak a Andreassen (The Effects of Aging on Fracture Healing in Rats. Calcif. Tissue Int. 45: 292 až 297, 1989). Tento postup je jednoducho možné opísať takto: Pred biomechanickou skúškou sa opatria rádiografické snímky všetkých zlomenín. Mechanické vlastnosti fraktúr, ktoré sa hoja sa analyzujú deštruktívnym postupom ohýbania v troch alebo štyroch bodoch. Stanoví sa maximálna záťaž, tuhosť, energia pri maximálnej záťaži, ohyb pri maximálnej záťaži a maximálne napätie.

Skúška účinnosti na hojenie zlomenín po miestnom podávaní

Vyvolanie zlomeniny

Na skúšku sa použijú anestetizované samice alebo samci psa bigla starí asi 2 roky. Príčinná zlomenina vretenovej kosti sa vyvolá pomalým zvyšujúcim sa zaťažovaním pri tojbodovom ohýbaní, ako je to opísané v Lenehan et al. (Lenehan, T. M., Balligand, M., Nunamaker, D. M., Wood, F. E., Effects of EHDP on Fracture Healing in Dogs, J. Ortop. Res. 3, 499 až 507, 1985). Zlomenina sa pretiahne drôtom, aby sa zaistilo úplné anatomické prerušenie kosti. Následná miestna

dodávka agonistov prostaglandínu na miesto fraktúry sa uskutočňuje pomalým uvoľňovaním zlúčeniny z peliet s pomalým uvoľňovaním alebo sa zlúčeniny podávajú vo vhodnej formulácii, ako sú roztoky alebo suspenzie gélových pást počas 10, 15 alebo 20 týždňov.

Histologická analýza

Spôsoby histologickej analýzy zlomenín kostí boli publikované v Peter et al. (Peter, C. P., Cook, W. O., Nunamaker, D. M., Provost, M. T., Seedor, J. G., Rodan, G. A., Effects of alendronate on fracture healing and bone remodeling in dogs, J. Ortop. Res. 14, 74 až 70, 1996) a Mosekilde a Bak (The Effects of Growth Hormone on Fracture Healing in Rats: A Histological Description. Bone, 14: 19 až 27, 1993). Tieto postupy je možné jednoducho opísať takto: Zlomená kosť sa odreže vo vzdialenosti 3 cm na obidve strany od línie lomu a nedekalcifikovaná uloží do metylmetakrylátu. Za použitia mikrotómu Reichert-Jung Polycut sa pripravia čelné rezy s hrúbkou 8 µm. Na vizualizáciu bunkovej a tkanivovej odpovedi na hojenie zlomeniny s ošetrovaním a bez ošetrovania sa použijú stredné čelné rezy (ako kosti pišťalovej, tak kosti lýtkovej) farebných Masson-Trichrome. Rezy zafarbené červeňou Sirius sa použijú na demonštráciu štrukturálnych charakteristík kalusu a na rozlíšenie medzi vláknitou kosťou a lamelárnou kosťou v mieste fraktúry. Uskutočnia sa nasledujúce merania: (1) rozostup zlomeniny - meria sa ako najkratšia vzdialenosť medzi koncami kortikálnej kosti v zlomenine, (2) dĺžka kalusu a priemer kalusu, (3) celkový objem oblasti kalusu v kosti, (4) kostné tkanivo na oblasť tkaniva vo vnútri oblasti kalusu, (5) vláknité tkanivo v kaluse, (6) chrupavková oblasť v kaluse.

Biomechanická analýza

Biomechanické analytické postupy sú opísané v Bak a Andreassen (The Effects of Aging on Fracture Healing in Rats. *Calcif. Tissue Int.* 45: 292 až 297, 1989) a Peter et al. (Peter, C. P., Cook, W. O., Nunamaker, D. M., Provost, M. T., Seedor, J. G., Rodan, G. A., Effects of alendronate on fracture healing and bone remodeling in dogs, *J. Ortop. Res.* 14, 74 až 70, 1996). Tento postup je jednoducho možné opísať takto: Pred biomechanickou skúškou sa opatria rádiografické snímky všetkých zlomenín. Mechanické vlastnosti fraktúr, ktoré sa hoja sa analyzujú deštruktívnym postupom ohýbania v troch alebo štyroch bodoch. Stanoví sa maximálna záťaž, pevnosť, energia pri maximálnej záťaži, ohyb pri maximálnej záťaži a maximálne napätie.

Použitie agonistov receptora prostaglandínu pri regenerácii obličiek

Úloha agonistov prostaglandínu pri regenerácii obličiek sa skúma pomocou schopnosti PGE_2 alebo agonistu prostaglandínu indukovať expresiu kostného morfogenetického proteínu 7 (BMP-7) v bunkách divokého typu 293S a bunkách 293S transfekovaných receptorom EP_2 .

Postupy:

Bunky 293S a EP_2 293S sa pestujú v Dulbeccom modifikovanom Eaglovom médiu (DMEM, Gibco, BRL, Gaithersburg, MD, USA). Jeden deň pred ošetrením PGE_2 alebo agonistom prostaglandínu sa bunky navzorkujú pri hustote $1,5 \times 10^6$ buniek/10cm miska. Nasledujúci deň sa bunkové monovrstvy umyjú raz OptiMEM

(Gibco, BRL) a do každej misky sa potom pridá 10 ml OptiMEM za prítomnosti alebo za neprítomnosti vehikula (DMSO), PGE₂ (10⁻⁶M) alebo agonistu prostaglandínu (10⁻⁶M). Bunky sa zoberú a v dobe 8, 16 a 24 hodín sa extrahuje RNA. Celková analýza severným prenosom (20 mg/pásik) sa uskutočňuje skúšaním blotov ³²P-označeným BMP-7, ako sondou. Bloty sa normalizujú na vnášanie RNA hybridizáciou s ³²P-označenou 18s ribosomálnou RNA sondou. Bolo zistené, že ako PGE₂, tak aj agonista prostaglandínu v priamej úmere k času indukujú expresiu BMP-7 v bunkách EP₂293S, nie ale v rodičovskej bunkovej línii. S ohľadom na to, že úloha BMP-7 pri regenerácii obličiek a schopnosť agonistu prostaglandínu indukovať expresiu BMP-7 v bunkách obličiek 293S špecificky vzhľadom k času a receptora je známa, zdá sa, že agonista prostaglandínu sa podieľa na regenerácii obličiek.

Odborníkovi v tomto odbore bude zrejmé, že spolu so zlúčeninami podľa vynálezu je možné používať antiresorpčné činidlá (napríklad progestíny, polyfosfonáty, bisfosfonát(y), agonistov/antagonistov estrogénu, kombinácie estrogénu a progestínu, Premarin®, estrón, estriol alebo 17α- alebo 17β-etinyloestradiól).

Ako príklady progestínov dostupných na trhu je možné uviesť algestonacetofenid, altrenogest, amadinón acetát, anagestón acetát, chlormadinón acetát, cingestol, klogestón acetát, klomegestón acetát, delmadinón acetát, desogestrel, dimetisterón, dydrogesterón, etynerón, etynodiól diacetát, etonogestrel, flurogestón acetát, gestaklón, gestodén, gestonorón kaproát, gestrinón, haloprogesterón, hydroxyprogesterón kaproát, levonorgestrel, lynestrenol, medrogestón, medroxyprogesterón acetát, melengestrol acetát, metynodiól

diacetát, noretindrón, noretindrón acetát, noretynodrel, norgestimát, norgestomet, norgestrel, oxogestonfén propionát, progesterón, chingestanol acetát, chingestrón a tigestol.

Ako prednostné progestíny je možné uviesť medroxy-progestrón, noretindrón a noretynodrel.

Ako príklady polyfosfonátov inhibujúcich rezorpciu kosti je možné uviesť polyfosfonáty typu zlúčenín opísaných v US patente č. 3 683 080, ktorý je tu citovaný náhradou za prenesenie celého jeho obsahu do tohto textu. Prednostnými polyfosfonátmi sú geminálne difosfonáty (označované ako bisfosfonáty). Prednostným polyfosfonátom je dvojsodná soľ tiludronátu. Ďalej je prednostným polyfosfonátom ibandrónová kyselina a zvláštna prednosť sa ako polyfosfonátu tiež dáva alendronátu a zoledrónovej kyseline. Ako ďalšie prednostné polyfosfonáty je možné uviesť 6-amino-1-hydroxyhexylidén-bisfosfónovú kyselinu a 1-hydroxy-3-(metylpentylamino)propylidénbisfosfónovú kyselinu. Polyfosfonáty je možné podávať vo forme kyseliny alebo vo forme rozpustnej soli alkalického kovu alebo kovu alkalických zemín. Ďalej je tiež možné uviesť hydrolyzovateľné estery polyfosfonátov. Ako konkrétne príklady je možné uviesť etán-1-hydroxy-1,1-difosfónovú kyselinu, metándifosfónovú kyselinu, pentán-1-hydroxy-1,1-difosfónovú kyselinu, metándichlordifosfónovú kyselinu, metanhydroxydifosfónovú kyselinu, etán-1-amino-1,1-difosfónovú kyselinu, etán-2-amino-1,1-difosfónovú kyselinu, propán-3-amino-1-hydroxy-1,1-difosfónovú kyselinu, propán-N,N-dimetyl-3-amino-1-hydroxy-1,1-difosfónovú kyselinu, propán-3,3-dimetyl-3-amino-1-hydroxy-1,1-difosfónovú kyselinu, fenylamínometándifosfónovú kyselinu, N,N-dimetylaminometándifosfónovú kyselinu, N-(2-hydroxyetyl)aminometándifosfónovú kyselinu, bután-4-amino-1-

hydroxy-1,1-difosfónovú kyselinu, pentán-5-amino-1-hydroxy-1,1-difosfónovú kyselinu, hexán-6-amino-1-hydroxy-1,1-difosfónovú kyselinu a ich farmaceuticky vhodné estery a soli.

Zlúčeniny podľa vynálezu je najmä možné kombinovať s agonistami/antagonistami cicavčieho estrogénu. Ako druhú zlúčeninu podľa vynálezu je možné použiť ktoréhokolvek agonistu/antagonistu estrogénu. Pod pojmom "agonista/antagonista estrogénu" sa rozumejú zlúčeniny, ktoré sú schopné viazať sa na receptor estrogénu, inhibovať obrat v kostiach (turnover) a zabráňovať strate kostného tkaniva. Pod pojmom "agonista estrogénu" sa rozumie zlúčenina, ktorá je schopná viazať sa na receptorové miesta estrogénu v cicavčom tkanive a napodobňovať účinky estrogénu v jednom alebo vo viacerých tkanivách. Pod pojmom "antagonisti estrogénu" sa rozumejú chemické zlúčeniny, ktoré sú schopné v cicavčom tkanive viazať sa na receptorové miesta estrogénu a blokujú účinky estrogénu v jednom alebo vo viacerých tkanivách. Takéto účinky si odborník v tomto odbore jednoducho stanoví za použitia štandardných skúšobných postupov, ako sú skúšky väzby na receptor estrogénu a štandardných histomorfometrických a denzitometrických metód (pozri Eriksen E. F. et al., Bone Histomorphometry, Raven Press, New York, 1994, str. 1 až 74; Grier S. J. et al., The Use of Dual-Energy X-Ray Absorptiometry In Animals, Inv. Radiol., 1996, 31(1): 50 až 62; Wahner H. W. a Fogelman I., The Evaluation of Osteoporosis: Dual Energy X-Ray Absorptiometry in Clinical Practice, Martin Dunitz Ltd., London, 1994, str. 1 až 296). Ďalej sú opísané rôzne takéto zlúčeniny s príslušnými odkazmi.

Prednostným agonistom/antagonistom estrogénu je droloxifén ((E)-3-[1-[4-[2-(dimetylamino)etoxy]fenyl]-2-fenyl-1-butenyl]fenol) a príbuzné zlúčeniny, ktoré sú opísané v US

patente 5 047 431 (tento patent je tu citovaný náhradou za prenesenie celého jeho obsahu do tohto textu).

Ďalším prednostným agonistom/antagonistom estrogénu je 3-(4-(1,2-difenylobut-1-enyl)fenyl)akrylová kyselina, ktorá je opísaná vo Willson et al., Endocrinology, 1997, 138, 3901-3911.

Ďalším prednostným agonistom/antagonistom estrogénu je tamoxifén (2-hydroxy-1,2,3-propantrikarboxylát (Z)-2-[4-(1,2-difenylobut-1-enyl)fenoxy]-N,N-dimetyl]etanamínu (1:1)) a príbuzné zlúčeniny, ktoré sú opísané v US patente 4 536 516.

Ďalšou príbuznou zlúčeninou je 4-hydroxytamoxifén, ktorý je opísaný v US patente č. 4 623 660. (Obidva tieto patenty sú tu citované náhradou za prenesenie ich celého obsahu do tohto textu).

Ďalším prednostným agonistom/antagonistom estrogénu je raloxifén (hydrochlorid [6-hydroxy-2-(4-hydroxyfenyl)benzo[b]tien-3-yl]-[4-[2-(1-piperidinyloxy)fenyl]metanónu a príbuzné zlúčeniny, ktoré sú opísané v US patente 4 418 068 (tento patent je tu citovaný náhradou za prenesenie celého jeho obsahu do tohto textu).

Ďalším prednostným agonistom/antagonistom estrogénu je toremifén (2-hydroxy-1,2,3-propantrikarboxylát (Z)-2-[4-(4-chlór-1,2-difenylobut-1-enyl)fenoxy]-N,N-dimetyletanamínu (1 : 1)) a príbuzné zlúčeniny, ktoré sú opísané v US patente 4 996 225 (tento patent je tu citovaný náhradou za prenesenie celého jeho obsahu do tohto textu).

Ďalším prednostným agonistom/antagonistom estrogénu je centchróman (1-[2-[[4-(3,4-dihydro-7-metoxy-2,2-dimetyl-3-fenyl-2H-1-benzopyran-4-yl)fenoxyl]etyl]pyrrolidín) a príbuzné zlúčeniny, ktoré sú opísané v US patente 3 822 287 (tento patent je tu citovaný náhradou za prenesenie celého jeho obsahu do tohto textu).

Ďalším prednostným agonistom/antagonistom estrogénu je idoxifén (1-[4-[[1-(4-jodfenyl)-2-fenyl-1-butenyl]fenoxyl]-etyl]pyrrolidín) a príbuzné zlúčeniny, ktoré sú opísané v US patente 4 839 155 (tento patent je tu citovaný náhradou za prenesenie celého jeho obsahu do tohto textu).

Ďalším prednostným agonistom/antagonistom estrogénu je 2-(4-metoxyfenyl)-3-[4-(2-piperidin-1-yletoxy)fenoxyl]-benzo[b]tiofen-6-ol, ktorý je opísaný v US patente 5 488 058 (tento patent je tu citovaný náhradou za prenesenie celého jeho obsahu do tohto textu).

Ďalším prednostným agonistom/antagonistom estrogénu je 6-(4-hydroxyfenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yletoxy)benzyl]naftalen-2-ol, ktorý je opísaný v US patente č. 5 484 795 (tento patent je tu citovaný náhradou za prenesenie celého jeho obsahu do tohto textu).

Ďalším prednostným agonistom/antagonistom estrogénu je 4-[2-(2-azabicyklo[2,2,1]hept-2-yl)etoxy]fenyl}-[6-hydroxy-2-(4-hydroxyfenyl)benzo[b]tiofen-3-yl]metanón, ktorý je spolu so spôsobmi výroby opísaný v PCT publikácii č. WO 95/10513. Táto prihláška bola prevedená na firmu Pfizer Inc.

Ako príklady ďalších prednostných agonistov/antagonistov estrogénu je možné uviesť zlúčeniny opísané v US patente č. 5

552 412, ktorý je tu citovaný náhradou za prenesenie celého jeho obsahu do tohto textu). Z týchto zlúčenín sa zvláštna prednosť dáva

cis-6-(4-fluorfenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yloxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ólu;

(-)-cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yloxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ólu;

cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yloxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ólu;

cis-1-[6'-pyrrolidinoetoxy-3'-pyridyl]-2-fenyl-6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydronaftalénu;

1-(4'-pyrrolidinoetoxyfenyl)-2-(4"-fluorfenyl)-6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroizochinolínu;

cis-6-(4-hydroxyfenyl)-5-[4-(2-piperidin-1-yloxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftalen-2-ólu a

1-(4'-pyrrolidinoetoxyfenyl)-2-fenyl-6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroizochinolínu.

Ďalší agonisti/antagonisti estrogénu sú opísaní v US patente č. 4 133 814, ktorý je tu citovaný náhradou za prenesenie celého jeho opisu do tohto textu. V US patente č. 4 133 814 sú opísané deriváty 2-fenyl-3-aroylebenzotiofénu a 2-fenyl-3-aroylebenzotiofén-1-oxidu.

Odborníkovi v tomto odbore bude zrejmé, že spolu so zlúčeninami podľa tohto vynálezu je možné používať ďalšie kostné anabolické činidlá (čínidlá zvyšujúce kostnú hmotu).

Čínidlom zvyšujúcim kostnú hmotu je zlúčenina, ktorá zvyšuje kostnú hmotu na úroveň, ktorá je nad prahom kostnej fraktúry (čo je podrobne opísané vo World Health Organization Study World Health Organization, "Assessment of Fracture Risk and its Application to Screening for Postmenopausal Osteoporosis (1994). Report of a WHO Study Group. World Health Organization Technical Series 843").

Ako druhú zlúčeninu podľa vynálezu je možné použiť akýkoľvek prostaglandín alebo agonistu/antagonistu prostaglandínu napríklad je možné použiť dve rôzne zlúčeniny všeobecného vzorca I podľa vynálezu. Odborníkom v tomto odbore bude zrejmé, že je tiež možné použiť IGF-1, fluorid sodný, paratyroidný hormón (PTH), aktívne fragmenty paratyroidného hormónu, rastový hormón alebo sekretagógy rastového hormónu. V nasledujúcich odstavcoch sú podrobnejšie opísané príklady druhej zlúčeniny.

Ako druhú zlúčeninu podľa vynálezu je možné použiť akýkoľvek prostaglandín. Pod pojmom "prostaglandín" sa rozumejú zlúčeniny, ktoré sú analógmi prírodných prostaglandínov PGD₁, PGD₂, PGE₂, PGE₁ a PGF₂, ktoré sú užitočné pri liečbe osteoporózy. Tieto zlúčeniny sa viažu na receptory prostaglandínu. Túto väzbu môže odborník v tomto odbore jednoducho stanoviť za použitia štandardných skúšobných postupov (napríklad An S. et al., Cloning and Expression of the EP₂ Subtype of Human Receptors for Prostaglandin E₂,

Biochemical and Biophysical Research Communications, 1993, 197(1): 263 až 270).

Prostaglandíny sú alicyklické zlúčeniny odvodené od základnej zlúčeniny, kyseliny prostanovej. Atómy uhlíka základného prostaglandínu sa počítajú od karboxylového uhlíka cez cyklopentylový kruh k terminálnemu uhlíku na susednom bočnom reťazci. Normálne majú susedné vedľajšie reťazce orientáciu trans. Prítomnosť oxoskupiny na uhlíku C9 cyklopentylového zvyšku je charakteristická pre prostaglandíny z triedy E, zatiaľ čo PGE₂ obsahuje trans nenasýtenú dvojnú väzbu medzi uhlíkmi v polohách C₁₃-C₁₄ a cis dvojnú väzbu medzi uhlíkmi v polohách C₅-C₆.

V nasledujúcom texte sú opísané rôzne prostaglandíny s príslušnými odkazmi. Odborníkom v tomto odbore ale budú známe ešte ďalšie prostaglandíny. Prieklady prostaglandínov sú uvedené v US patentoch 4 171 331 a 3 927 197 (ktoré sú tu citované náhradou za prenesenie celého ich textu do tohto opisu).

Norrdin et al., The Role of Prostaglandins in Bone In Vivo, Prostaglandins Leukotriene Essential Fatty Acids 41, 139 až 150, 1990 podávajú prehľad o prostaglandínoch s anabolickým účinkom na kosti.

Ako druhé zlúčeniny podľa vynálezu je možné použiť ktorýchkoľvek agonistov/antagonistov prostaglandínu. Pod pojmom "agonista/antagonista prostaglandínu" sa rozumejú zlúčeniny, ktoré sa viažu na receptory prostaglandínu (napríklad An S. et al., Cloning and Expression of the EP₂ Subtype of Human Receptors for Prostaglandin E₂, Biochemical

and Biophysical Research Communications, 1993, 197(1): 263 až 270) a napodobňujú účinok prostaglandínu in vivo (napríklad stimulujú tvorbu kosti a zvyšujú hmotu kostí). Takéto účinky odborník v tomto odbore jednoducho stanoví za použitia štandardných skúšobných postupov, (Eriksen E. F. et al., Bone Histomorphometry, Raven Press, New York, 1994, str. 1 až 74; Grier S. J. et al., The Use of Dual-Energy X-Ray Absorptiometry In Animals, Inv. Radiol., 1996, 31(1): 50 až 62; Wahner H. W. a Fogelman I., The Evaluation of Osteoporosis: Dual Energy X-Ray Absorptiometry in Clinical Practice, Martin Dunitz Ltd., London, 1994, str. 1 až 296). Ďalej sú uvedené rôzne takéto zlúčeniny. Odborníkom v tomto odbore je ale zrejmé, že existujú aj ďalší agonisti/antagonisti prostaglandínu. Ako príklady konkrétnych agonistov/antagonistov prostaglandínu je možné napríklad uviesť nasledujúce zlúčeniny.

V US patente č. 3 932 389 sú opísané 2-doskarboxy-2-(tetrazol-5-yl)-11-desoxy-15-substituované-omega-pentáno-prostaglandíny, ktoré sú užitočné na tvorbu kostného tkaniva.

V US patente č. 4 018 892 sú opísané p-bifenylestery 16-aryl-13,14-dihydro-PGE₂, ktoré sú užitočné na tvorbu kostného tkaniva.

V US patente č. 4 219 483 sú opísané 2,3,6-substituované-4-pyróny, ktoré sú užitočné na tvorbu kostného tkaniva.

V US patente č. 4 132 847 sú opísané 2,3,6-substituované-4-pyróny, ktoré sú užitočné na tvorbu kostného tkaniva.

V US patente č. 4 000 309 sú opísané p-bifenylestery 16-aryl-13,14-dihydro-PGE₂, ktoré sú užitočné na tvorbu kostného tkaniva.

V US patente č. 3 982 016 sú opísané p-bifenylestery 16-aryl-13,14-dihydro-PGE₂, ktoré sú užitočné na tvorbu kostného tkaniva.

V US patente č. 4 621 100 sú opísané substituované cyklopentány, ktoré sú užitočné na tvorbu kostného tkaniva.

V US patente č. 5 216 183 sú opísané cyklopentanóny, ktoré sú užitočné na tvorbu kostného tkaniva.

Ako druhú zlúčeninu podľa vynálezu je tiež možné použiť fluorid sodný. Pod pojmom "fluorid sodný" sa rozumejú všetky jeho formy (napríklad fluorid sodný s pomalým uvoľňovaním, fluorid sodný s pretrvávajúcim uvoľňovaním). Fluorid sodný s pretrvávajúcim uvoľňovaním je opísaný v US patente 4 904 478 (ktorý je tu citovaný náhradou za prenesenie celého jeho textu do tohto opisu). Odborník v tomto odbore jednoducho stanoví účinnosť fluoridu sodného za použitia štandardných biologických protokolov (pozri napríklad Eriksen E. F. et al., Bone Histomorphometry, Raven Press, New York, 1994, str. 1 až 74; Grier S. J. et al., The Use of Dual-Energy X-Ray Absorptiometry In Animals, Inv. Radiol., 1996, 31(1): 50 až 62; Wahner H. W. a Fogelman I., The Evaluation of Osteoporosis: Dual Energy X-Ray Absorptiometry in Clinical Practice, Martin Dunitz Ltd., London, 1994, str. 1 až 296).

Ako druhú zlúčeninu podľa vynálezu je možné použiť kostný morfogénny proteín (napríklad pozri Ono et al., Promotion of

the Osteogenetic Activivy of Recombinant Human Bone Morphogenetic Protein by Prostaglandin E1, Bone, 1996, 19(6), 581 až 588).

Ako druhú zlúčeninu podľa vynálezu je možné použiť akýkoľvek paratyroidný hormón (PTH). Pod pojmom "paratyroidný hormón" sa rozumie paratyroidný hormón, jeho fragmenty a metabolity a ich štruktúrne analógy, ktoré môžu stimulovať tvorbu kostného tkaniva a zvyšovať kostnú hmotu. Do rozsahu tohto pojmu tiež spadajú príbuzné peptidy a aktívne fragmenty a analógy peptidov príbuzných paratyroidnému hormónu (pozri WO 94/01460). Funkčnú účinnosť týchto zlúčenín odborník v tomto odbore jednoducho stanoví za použitia štandardných skúšobných postupov (pozri napríklad Eriksen E. F. et al., Histomorphometry, Raven Press, New York, 1994, str. 1 až 74; Grier S. J. et al., The Use of Dual-Energy X-Ray Absorptiometry In Animals, Inv. Radiol., 1996, 31(1): 50 až 62; Wahner H. W. a Fogelman I., The Evaluation of Osteoporosis: Dual Energy X-Ray Absorptiometry in Clinical Practice, Martin Dunitz Ltd., London, 1994, str. 1 až 296). Ďalej sú uvedené a opísané rôzne takéto zlúčeniny, aj keď odborníkom v tomto odbore budú známe ešte iné paratyroidné hormóny. Príklady paratyroidných hormónov sú zmienené v ďalej uvedených citáciách: "Human Parathyroid Peptide Treatment of Vertebral Osteoporosis", Osteoporosis Int., 3, (doplnok 1): 199 až 203; "PTH 1-34 Treatment of Osteoporosis with Added Hormone Replacement Therapy: Biochemical, Kinetic and Histological Responses", Osteoporosis Int. 1: 162 až 170.

Ako druhú zlúčeninu podľa vynálezu je možné použiť akýkoľvek rastový hormón alebo sekretagóg rastového hormónu. Pod pojmom "sekretagóg rastového hormónu" sa rozumejú zlúčeniny, ktoré stimulujú uvoľňovanie rastového hormónu alebo

napodobňujú jeho účinok (napríklad zvyšujú tvorbu kostného tkaniva vedúcu na zvýšenie kostnej hmoty). Túto účinnosť odborník v tomto odbore jednoducho stanoví za použitia štandardných skúšobných postupov. Rôzne tieto zlúčeniny sú napríklad opísané v nasledujúcich PCT patentových publikáciách: WO 95/14666, WO 95/13069, WO 94/19367, WO 94/13696 a WO 95/34311. Odborníkom v tomto odbore ale budú známe ešte iné sekretagógy rastového hormónu.

Ako sekretagógovi rastového hormónu sa zvláštna prednosť dáva N-[1(R)-[1,2-dihydro-1-metansulfonylspiro[3H-indol-3,4'-piperidin]-1'-yl)karbonyl]-2-(fenylmetyloxy)etyl]-2-amino-2-metylpropánamidu: MK-677.

Ako iné prednostné sekretagógy rastového hormónu je možné uviesť:

2-amino-N-[2-(3a-(R)-benzyl-2-metyl-3-oxo-2,3,3a,4,6,7-hexahydropyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-1-(R)-benzyloxymetyl-2-oxoetyl]izobutyramid a jeho L-tartrátovú soľ;

2-amino-N-{1-(R)-benzyloxymetyl-2-[3a-(R)-(4-fluorbenzyl)-2-metyl-3-oxo-2,3,3a,4,6,7-hexahydropyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl]-2-oxoetyl}izobutyramid;

2-amino-N-[2-(3a-(R)-benzyl-3-oxo-2,3,3a,4,6,7-hexahydropyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl)-1-(R)-benzyloxymetyl-2-oxoetyl]izobutyramid; a

2-amino-N-{1-(2,4-difluorbenzyloxymetyl)-2-oxo-2-[3-oxo-3a-pyridin-2-ylmetyl-2-(2,2,2-trifluoretyl)-2,3,3a,4,6,7-hexahydropyrazolo[4,3-c]pyridin-5-yl]etyl}-2-metylpropiónamid.

Pod pojmom "inhibitor HMG-CoA reduktázy" sa rozumejú zlúčeniny, ktoré inhibujú enzým 3-hydroxy-3-metylglutaryl koenzým A (HMG-CoA) reduktázu. Ako druhú zlúčeninu podľa tohto vynálezu je možné použiť ktorýkoľvek inhibitor HMG-CoA reduktázy, ako mevastatín, lovastatín, pravastatín, velostatín, simvastatín, fluvastatín, cerivastatín, mevastatín, dalvastatín, fluindostatín a atorvastatín, ich preliečivá a farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv.

Statíny zvyšujú produkciu osteoblastov, buniek, ktoré produkujú nové kostné tkanivo. O kostnom rastovom faktore kostnom morfogenetickom proteíne (BMP) je známe, že podporuje diferenciáciu osteoblastov. S. E. Harris, et al., Mol. Cell. Differ. 3, 137 (1995). O statínoch sa teda zistilo, že zvyšujú produkciu BMP. G. Mundy, et al., Stimulation of Bone Formation in Vitro and in Rodents by Statins, Science, 286, 1946 (1999). Mundy, et al. zistili, že statíny zvyšujú tvorbu nového kostného tkaniva a tiež počet osteoblastov vo všetkých štádiách diferenciácie.

Ako statín sa prednostne používa mevastatín, lovastatín, pravastatín, velostatín, simvastatín, fluvastatín, cerivastatín, mevastatín, dalvastatín, fluindostatín alebo atorvastatín alebo ich preliečiv alebo farmaceuticky vhodných soli týchto zlúčenín a preliečiv.

Statínom je prednostne zvlášť atorvastatín, najvýhodnejšie atorvastatín kalcium.

Inhibitory HMG-CoA reduktázy je možné jednoducho pripravovať za použitia známych spôsobov. Mevastatín, lovastatín, pravastatín, velostatín, simvastatín, fluvastatín,

cerivastatín a mevastatín, dalvastatín a fluindostatín je možné pripravovať spôsobmi, ktoré sú opísané v US patentoch č. 3 983 140, 4 231 938, 4 346 227, 4 448 784, 4 450 171, 4 739 073, 5 177 080, 5 177 080, európskej patentovej prihláške č. 738 510 A2 a európskej patentovej prihláške č. 363 934 A1. Tieto dokumenty sú citované náhradou za prenesenie ich obsahu do tohto textu.

Atorvastatín je možné jednoducho pripravovať spôsobom opísaným v US patente č. 4 681 893, ktorý je citovaný náhradou za prenesenie jeho obsahu do tohto textu. Hemivápenatú soľ atorvastatínu, ktorá je v súčasnej dobe na trhu ako Lipitor®, je možné jednoducho pripravovať spôsobom opísaným v US patente č. 5 273 995, ktorý je citovaný náhradou za prenesenie jeho obsahu do tohto textu. Iné soli atorvastatínu s farmaceuticky vhodnými kationmi je možné jednoducho pripraviť tak, že sa atorvastatín vo forme voľnej kyseliny nechá reagovať s vhodnou bázou, obvykle 1 ekvivalentom, v korozpúšťadle.

Selektívnych agonistov EP4 je pri spôsoboch podľa vynálezu možné podávať akýmkoľvek spôsobom pre systemickú a/alebo miestnu dodávku (napríklad na miesto zlomeniny kosti, osteotómie alebo na miesto chirurgického ortopedického výkonu). Ako tieto spôsoby je možné uviesť perorálne podávanie, parenterálne podávanie, intraduodenálne podávanie atď. Zlúčeniny sa podľa vynálezu obvykle podávajú perorálne. Parenterálne podávanie (intravenózne, intramuskulárne, subkutánne alebo intramedulárne) je ale možné využiť napríklad v prípadoch, keď je perorálne podávanie nevhodné s ohľadom na zvolený cieľ alebo keď je pacient neschopný požiť liečivo.

Spôsoby podľa vynálezu sa používajú na liečenie a zlepšovanie hojenia zlomenín kostí a osteotómií tak, že sa

miestne (napríklad na miesta zlomenín kostí alebo osteotómií) podávajú selektívni agonisti receptora EP4. Selektívni agonisti sa podávajú na miesto zlomeniny alebo osteotómie napríklad injekciou zlúčeniny vo vhodnom rozpúšťadle (napríklad olejovom rozpúšťadle, ako arašidovom oleji) k rastovej chrupke alebo, v prípade otvoreného chirurgického zákroku, sa taká zlúčenina vo vhodnom nosiči alebo riedidle, ako sú kostný vosk, demineralizovaný kostný prášok, polymérne kostné cementy, kostné tesnivé atď., aplikuje na miesto zákroku. Alternatívne je lokálnu aplikáciu možné uskutočňovať tak, že sa roztok alebo disperzia zlúčeniny vo vhodnom nosiči alebo riedidle naniesie na povrch alebo sa začlení do tuhých alebo polotuhých implantátov, aké sa obvykle používajú v ortopedickej chirurgii, ako je dakrónová sieťka, penový gél a Kiel Bone, alebo protéz.

Množstvo a doba podávania zlúčenín bude v každom prípade samozrejme závisieť na liečenom subjekte, závažnosti postihnutia, spôsobe podávania a rozhodnutí predpisujúceho lekára. Vzhľadom na odlišnosti medzi jednotlivými pacientmi je nutné uvedené dávkovanie chápať len ako vodítko a ošetrojúci lekár môže dávky liečiva nastaviť tak, aby sa dosiahol účinok (napríklad zvýšenie kostnej hmoty), ktorú považuje za vhodnú pre konkrétného pacienta. Pri posudzovaní stupňa požadovaného účinku musí ošetrojúci lekár zvážiť rôzne faktory, ako východziu hladinu kostnej hmoty, vek pacienta, predchádzajúce choroby, ako aj prítomnosť iných chorôb (napríklad kardiovaskulárnych).

Obvykle sa používa také množstvo selektívneho agonistu receptora EP4, ktoré je dostatočné na zvýšenie kostnej hmoty nad prah zlomeniny kosti (podrobnejšie pozri World Health Organization Study citovaná vyššie).

Selektívni agonisti receptora EP4 sa pri spôsoboch podľa vynálezu obvykle podávajú vo forme farmaceutickej kompozície, ktorá obsahuje aspoň jednu zo zlúčenín podľa vynálezu spolu s farmaceuticky vhodným vehikulom alebo riedidlom. Zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť teda podávané jednotlivo v podobe ktorejkoľvek z obvyklých perorálnych, intranasálnych, parenterálnych, rektálnych alebo transdermálnych dávkovacích foriem.

Na perorálne podávanie sa môžu použiť roztoky, suspenzie, tablety, pilule, tobolky, prášky a podobne. Je možné použiť tablety obsahujúce rôzne excipienty, ako je citran sodný, uhličitan vápenatý a fosforečnan vápenatý, spolu s rôznymi rozvoľňovadlami, ako je škrob (prednostne zemiakový alebo tapiokový škrob) a určité komplexné silikáty s granulačnými spojivami, ako je polyvinylpyrrolidón, sacharóza, želatína a živica. Na tabletovacie účely môžu byť prídavne prítomné lubrikačné činidlá, ako je stearan horečnatý, natrium-laurylsulfát a mastenec. Pevné prostriedky podobného typu môžu byť tiež prítomné ako náplne v mäkkých alebo tvrdých želatínových tobolkách. V tomto prípade obsahujú použité prostriedky prednostne tiež laktózu alebo vysokomolekulárne polyetylén-glykoly. Pri výrobe vodných suspenzií a/alebo elixírov, ktoré sa hodia na perorálne podávanie, sa môže účinná prísada miešať s rôznymi sladidlami alebo aromatizačnými látkami, farbiacimi prísadami alebo farbivami a - pokiaľ je to nutné - emulgátormi a/alebo suspenznými činidlami a ďalej tiež takými riedidlami, ako je voda, etanol, propylénglykol, glycerol a ich rôzne kombinácie.

Na parenterálne podávanie sa môžu použiť roztoky buď v sezamovom alebo arašidovom oleji, alebo vo vodnom pro-

pylén glykole, ako aj sterilné vodné roztoky zodpovedajúcej vodorozpustnej soli. Vodné roztoky by mali byť účelne pufrované (pokiaľ je to nutné) a kvapalné riedidlo by malo byť najprv izotonizované pridaním dostatočného množstva soľného roztoku alebo glukózy. Takéto vodné roztoky sa hodia na intravenózne, intramuskulárne, subkutánne a intraperitoneálne injekčné podávanie. Výroba všetkých takých roztokov za sterilných podmienok sa jednoducho uskutočňuje štandardnými farmaceutickými technológiami, ktoré sú dobre známe odborníkom v tomto odbore.

Na účely transdermálneho (napríklad topického) podávania sa používajú zriedené sterilné vodné alebo sčasti vodné roztoky (obvykle s koncentráciou 0,1 až 5%), ktoré sa pripravujú podobným spôsobom ako parenterálne roztoky.

Spôsoby výroby rôznych farmaceutických kompozícií, ktoré obsahujú určité množstvo účinnej zložky sú známe alebo budú odborníkovi v tomto odbore zrejmé z tohto opisu (pozri napríklad Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easter, Pa, 19. vydanie (1995)).

Vynález je bližšie objasnený v nasledujúcich príkladoch uskutočnenia. Tieto príklady majú výhradne ilustratívny charakter a rozsah vynálezu v žiadnom ohľade neobmedzujú.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Všeobecne experimentálne postupy

NMR spektrá boli zaznamenané na spektrometri Varian Unity 400 (Varian Co., Palo Alto, Kalifornia, USA) pri asi 23°C a 400 MHz pre protónové jadrá. Chemické posuny sú vyjadrené v

dieloch na milión dielov. Tvary píkov sú označované nasledujúcim spôsobom: s - singlet, d - dublet, t - triplet, q - kvartet, m - multiplet, b = široký. Hmotnostné spektrá pri chemickej ionizácii za atmosferického tlaku (APCI) sa získali na spektrometri Fisons Platform II (Micromass Inc., Beverly, Massachusetts, USA). V prípadoch, keď sa uvádza intenzita iónov obsahujúcich chlór alebo bróm, bol zistený predpokladaný pomer intenzity (približne 3 : 1 pre $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ -obsahujúci ióny) a 1 : 1 pre $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$ -obsahujúci ióny) a udáva sa len intenzita iónu s nižšou hmotnosťou.

Strednotlaková chromatografia sa uskutočňuje za použitia systému Biotage (Biotage Inc., Dyax Corp., Charlottesville, Virginia, USA) za tlaku dusíka. Mžiková chromatografia sa uskutočňuje na silikagéli Baker 40 (40 μm) (J. T. Baker, Phillipsburg, N. J., USA) alebo silikagéli 60 (EM Sciences, Gibbstown, N. J., USA) v sklenených kolónach za nízkeho tlaku dusíka. Radiálna chromatografia sa uskutočňuje za použitia zariadenia Chromatron (model 7924T, Harrison Research, Palo Alto, Kalifornie, USA). Preparatívna chromatografia sa uskutočňuje za použitia dosiek Analtech Uniplates Silica Gel GF (20 x 20 cm) (Analtech, Inc., Newark, DE, USA). Dimetylformamid (DMF), tetrahydrofurán (THF) a dichlormetán (CH_2Cl_2), ktoré sa používajú ako reakčné rozpúšťadlá, boli v bezvodom stave dodané firmou Aldrich Chemical Company (Milwaukee, Winconsin, USA). Pod pojmom "skoncentruje" sa rozumie odstránenie rozpúšťadla za tlaku vodnej vývevy v rotačnom odparovači. Skratkou "TBAF" sa označuje tetrabutylamóniumfluorid a skratkou "DMAP" dimetylamínopyridín. Pojmy "dichlormetán" a "metylénychlorid" sú synonymné, a teda vzájomne zameniteľné.

P r í k l a d 1 A

4-{3-[2-(3-Hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]-propyl}benzoová kyselina

Stupeň A: 5-(3-Oxo-4-fenylbutyl)pyrrolidin-2-ón. Do roztoku tetrahydropyrrolizín-3,5-diónu (5 g, 36 mmol) v CH_2Cl_2 (320 mL) sa pri 0°C prikvapká benzylmagnéziumchlorid (1M roztok v tetrahydrofuráne, 39 ml, 39 mmol). Výsledný roztok sa 3 hodiny mieša pri 0°C a potom rozloží nasýteným vodným chloridom amónnym a zahreje na teplotu miestnosti. Vodný roztok sa extrahuje dichlormetánom (3x). Spojené organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a skoncentrujú. Zvyšok sa prečistí strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (1% metanol v dichlormetáne až 2% metanol v dichlormetáne). Získa sa 5,9021 g 5-(3-oxo-4-fenylbutyl)-pyrrolidin-2-ónu. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,35-7,18 (m, 5H), 3,69 (s, 2H), 3,56 (m, 1H), 2,50 (t, 2H), 2,27 (m, 2H), 2,15 (m, 1H), 1,73 (m, 2H), 1,61 (m, 1H).

Stupeň B: 5-(3-Hydroxy-4-fenylbutyl)pyrrolidin-2-ón. Do roztoku 5-(3-oxo-4-fenylbutyl)pyrrolidin-2-ónu (5,902 g, 25,52 mmol) v etanole (30 ml) sa pri 0°C pridá tetrahydroboritan sodný (485 mg, 12,76 mmol). Reakčná zmes sa 25 hodín mieša pri 0°C , rozloží nasýteným vodným chloridom amónnym a pridá sa k nej voda a dichlormetán. Vodná vrstva sa premyje dichlormetánom (2x). Spojené organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa skoncentruje. Zvyšok sa prečistí strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (1:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 1% metanol v dichlormetáne). Získa sa 4,3 g 5-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)pyrrolidin-2-ónu. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,35-7,16 (m,

5H), 6,02 (m, 1H), 3,80 (m, 1H), 3,63 (m, 1H), 2,79 (m, 1H), 2,64 (m, 1H), 2,26 (m, 3H), 1,72-1,22 (m, 6H).

Stupeň C: 5-[3-(*tert*-Butyldimetylsilanyloxy)-4-fenylbutyl]-pyrrolidin-2-ón. Do roztoku 5-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)pyrrolidin-2-ónu (4,3 g, 18,43 mmol) v dimetylformamide (86 ml) sa pridá *tert*-butyldimetylsilylchlorid (3,06 g, 20,3 mmol, potom imidazol (2,5 g, 37 mmol) a DMAP (225 mg). Reakčná zmes sa 24 hodín mieša a potom rozloží nasýteným vodným chloridom amónnym. Vodný roztok sa premyje etylacetátom (3x) a spojené organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa skoncentruje. Zvyšok sa prečistí strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (dichlormetán až 1% metanol v dichlormetáne až 2% metanol v dichlormetáne). Získa sa 5,94 g 5-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-fenyl-butyl]pyrrolidin-2-ónu. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,26-7,10 (m, 5H), 5,68 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,54 (m, 1H), 2,69 (m, 2H), 2,30-2,16 (m, 3H), 1,66-1,35 (m, 5H), 0,82 (s, 9H), -0,06 (d, 3H), -0,2 (d, 3H).

Stupeň D: Metylester 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-fenylbutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny. Do roztoku 5-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-fenylbutyl]pyrrolidin-2-ónu (3,20 g, 9,21 mmol) v dimetylformamide (30 ml) sa pri 0°C pridá NaHMDS (1M v tetrahydrofuráne, 11,5 ml, 11,5 mmol). Do vzniknutej zmesi sa po 1 hodine pridá metylester 4-(3-brompropyl)benzoovej kyseliny (2,84 g, 11,0 mmol). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri 70°C. Dimetylformamid sa odstráni za zníženého tlaku a zvyšok sa rozpustí v etylacetáte. Organický roztok sa premyje vodou, vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Zvyšok sa prečistí strednotlakovou chromatografiou (30% etylacetát v hexánoch). Získa sa 3,39 g

metylesteru 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-fenylbutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)benzoovej kyseliny. ^1H NMR (CDCl_3) (vybrané píky) δ 7,92 (m, 2H), 7,25-7,09 (m, 7H), 3,86 (s, 3H), 3,80 (m, 1H), 3,61 (m, 1H), 3,46 (m, 1H), 2,90 (m, 1H), 2,78-2,57 (m, 4H), 2,38-2,18 (m, 2H), 0,83 (s, 9H); MS 524,1 (M+1).

Stupeň E: Metylester 4-{3-[2-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoovej kyseliny. Do roztoku metylesteru 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-fenylbutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny (3,37 g, 6,43 mmol) v tetrahydrofuráne (40 ml) sa pri 0°C. Pridá tetrabutylamóniumfluorid (1M v tetrahydrofuráne, 9,6 ml, 9,6 mmol). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti a za zníženého tlaku sa z nej odstráni prchavé látky. Do zvyšku sa pridá etylacetát a organický roztok sa premyje nasýteným vodným hydrogenuhličitanom sodným (2x), vodou (1x) a vodným chloridom sodným (1x). Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Zvyšok sa prečistí strednotlakovou chromatografiou za použitia etylacetátu ako elučného činidla. Získa sa 2,28 g metylesteru 4-{3-[2-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoovej kyseliny. ^1H NMR (CDCl_3) (vybrané píky) δ 7,91 (d, 2H), 7,32-7,15 (m, 7H), 3,86 (s, 3H), 3,75 (m, 1H), 3,63 (m, 1H), 3,54 (m, 1H), 2,94 (m, 1H), 2,78 (m, 1H), 2,61 (m, 3H); MS 410,1 (M+1).

Stupeň F: 4-{3-[2-(3-Hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoová kyselina. Do roztoku metylesteru 4-{3-[2-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoovej kyseliny (2,28 g, 5,57 mmol) v metanole (20 ml) sa pridá 2M hydroxid sodný (5 ml). Reakčná zmes sa 20 hodín mieša pri teplote miestnosti, potom 3 hodiny zahrieva k spätnému

toku a za zníženého tlaku sa z nej odstránia prchavé látky. Zvyšok sa zriedi dichlormetánom a 1M roztokom kyseliny chlorovodíkovej. Vodný roztok sa extrahuje dichlormetánom (2x). Spojené organické extrakty sa premyjú vodným chloridom sodným. Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (2,03 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,98 (d, 2H), 7,34-7,18 (m, 7H), 3,80 (m, 1H), 3,67 (m, 1H), 3,58 (m, 1H), 2,97 (m, 1H), 2,81 (m, 1H), 2,68 (m, 3H), 2,45-2,27 (m, 2H), 2,13-1,30 (m, 9H); MS 396,3 (M+1), 394,2 (M-1).

P r í k l a d 1 B

4-(3-{2-[3-Hydroxy-4-(3-trifluormetyl-fenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoová kyselina

Stupeň A: 5-[3-Oxo-4-(3-trifluormetyl-fenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón. V nádobe s guľatým dnom sa za zníženého tlaku 60 hodín miešajú horčíkové hobliny (1,13 g), hneď potom sa k nim pridá bezvodý dietyléter (5 ml). Vzniknutá zmes sa ochladí na 0°C a počas 3 hodín sa k nej prikvapká roztok 3-trifluormetylbenzyl-chloridu (1,0 ml, 7,5 mmol) v dietyléteri (25 ml). Reakčná zmes sa ďalej 2,5 hodiny mieša. Za použitia injekčnej striekačky sa vzniknutý roztok (prefiltrovaný cez injekčný filter Nylon Acrodisc®) pomaly pri 0°C pridá do roztoku tetrahydropyrrolizin-3,5-diónu (650 mg, 4,68 mmol) v dichlormetáne (30 ml). Po 2 hodinách sa reakčná zmes rozloží 1M kyselinou chlorovodíkovou. Vodný roztok sa premyje dichlormetánom (2x). Organické roztoky sa spoja, vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a skoncentrujú. Strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát) sa získa 5-[3-oxo-4-(3-trifluormetyl-fenyl)butyl]-pyrrolidin-2-ón (1,376 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,38 (m, 4H), 3,78 (s, 2H), 3,61

(m, 1H), 2,58 (t, 2H), 2,30 (m, 2H), 2,20 (m, 1H), 2,86-1,59 (m, 3H).

Stupeň B: 5-[3-Hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni B sa 5-[3-oxo-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (1,37 g, 4,59 mmol) redukuje tetrahydroboritanom sodným (174 mg) 2 hodiny pri 0°C. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (2% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-[3--hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (1,19 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,42 (m, 4H), 6,26 (m, 1H), 3,82 (m, 1H), 3,65 (m, 1H), 2,84 (m, 1H), 2,72 (m, 1H), 2,27 (m, 3H), 1,86 (m, 1H), 1,75-1,42 (m, 5H); MS 302,2 (M+1).

Stupeň C: 5-[3-(terc-Butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, Stupni C, sa 5-[3-hydroxy-4-(3-trifluor-metylfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (1,19 g, 3,95 mmol) chráni terc-butyldimetylsilylchloridom (893 mg, 6,22 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia etylacetátu ako elučného činidla sa získa 5-[3-(terc-butyldimetyl-silanyloxy)-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón. ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,47-7,32 (m, 4H), 5,73 (m, 1H), 3,86 (m, 1H), 3,59 (m, 1H), 2,75 (m, 2H), 2,35-2,20 (m, 3H), 1,70-1,40 (m, 5H), 0,81 (s, 9H), -0,05 (d, 3H), -0,3 (d, 3H); MS 416,1 (M+1).

Stupeň D: Metylester 4-(3-{2-[3-(terc-butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-trifluormetylfenyl)-butyl]5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)benzoovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni D, sa 5-[3-(terc-butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (250 mg, 0,602

mmol) alkyluje za použitia NaHMDs (1M v tetrahydrofuráne, 0,72 ml, 0,72 mmol) a metylesteru 4-(3-brompropyl)benzoovej kyseliny (170 mg, 0,663 mmol) za vzniku metylesteru 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-trifluormetylfenyl)-butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny (300 mg). MS 592,1 (M+1).

Stupeň E: Metylester 4-(3-{2-[3-hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny. Metylester 4-(3-{2-[3-hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)-butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny sa pripraví podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni E. ¹H NMR (CDCl₃) (vybrané piky) δ 7,91 (d, 2H), 7,49-7,35 (m, 4H), 7,22 (d, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,80 (m, 1H), 3,65 (m, 1H), 3,55 (m, 1H), 2,98-2,61 (m, 5H).

Stupeň F: 4-(3-{2-[3-Hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)-benzoová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni F, sa metylester 4-(3-{2-[3-hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny hydrolyzuje 24 hodín pri teplote miestnosti, čím sa získa 4-(3-{2-[3-hydroxy-4-(3-trifluor-metylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoová kyselina. ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,98 (d, 2H), 7,52-7,37 (m, 4H), 7,26 (d, 2H), 3,82 (m, 1H), 3,68 (m, 1H), 3,58 (m, 1H), 2,98-2,66 (m, 5H), 2,34 (m, 2H), 2,09 (m, 1H), 1,95-1,37 (m, 7H); MS 464,2 (M+1).

P r í k l a d 1 C

4-(3-{2-[4-(3-Chlorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzová kyselina

Stupeň A: 5-[4-(3-Chlorfenyl)-3-oxobutyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni A, sa tetrahydropyrrolizín-3,5-dión (2 g, 14 mmol) nechá 2 hodiny reagovať s 3-chlorbenzylmagnéziumchloridom (0,25M v dietyl-éteri, 62 ml, 15,5 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (2:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 5% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-[4-(3-chlorfenyl)-3-oxobutyl]pyrrolidin-2-ón (1,9142 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,27 (m, 2H), 7,19 (m, 1H), 7,08 (m, 1H), 6,27 (br, 1H), 3,68 (s, 2H), 3,60 (m, 1H), 2,52 (t, 2H), 2,29 (m, 2H), 2,21 (m, 1H), 1,88-1,60 (m, 3H); MS 266,2 (M+1), 264,2 (M-1).

Stupeň B: 5-[4-(3-Chlorfenyl)-3-hydroxybutyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni B, sa 5-[4-(3-chlorfenyl)-3-oxobutyl]pyrrolidin-2-ón (1,9 g, 7,15 mmol) redukuje tetrahydroboritanom sodným (135 mg, 3,57 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (1:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 1% metanol v dichlormetáne až 4% metanol v dichlormetáne až 8% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-[4-(3-chlorfenyl)-3-hydroxy-butyl]pyrrolidin-2-ón (1,53 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,22 (m, 3H), 7,07 (m, 1H), 6,51 (d, 1H), 3,82 (m, 1H), 3,66 (m, 1H), 2,77 (m, 1H), 2,66 (m, 1H), 2,33-2,19 (m, 3H), 2,04 (d, 1H), 1,74-1,45 (m, 5H); MS 268,2 (M+1).

Stupeň C: 5-[3-(*tert*-Butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-chlorfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, Stupni C, sa 5-[4-(3-chlorfenyl)-3-hydroxy-butyl]pyrrolidin-2-ón (1,53 g, 5,71 mmol) nechá reagovať s *tert*-butyldimetylsilylchloridom (0,97 g, 6,4 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (1:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 1% metanol v dichlormetáne až 2% metanol v dichlormetáne až 4% metanol v

dichlormetáne) sa získa 5-[3-(*terc*-butyldimetylsilanyl-oxy)-4-(3-chlorfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (1,77 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,16 (m, 3H), 7,01 (m, 1H), 5,61 (d, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,58 (m, 1H), 2,68 (m, 2H), 2,28 (m, 3H), 1,73-1,36 (m, 5H), 0,84 (s, 9H), -0,05 (s, 3H), -0,2 (d, 3H).

Stupeň D: Metylester 4-(3-{2-[3-(*terc*-butyldimetylsilanyl-oxy)-4-(3-chlorfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)-benzoovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni D, sa 5-[3-(*terc*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-chlorfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (246,5 mg, 0,645 mmol) alkyluje za použitia NaHMDs (1M v tetrahydrofuráne, 0,77 ml, 0,77 mmol) a metylesteru 4-(3-brompropyl)benzoovej kyseliny (200 mg, 0,767 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (5:1 hexány:EtOAc až 1:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 1% metanol v dichlormetáne až 5% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-[3-(*terc*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-chlorfenyl)-butyl]pyrrolidin-2-ón (246,3 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,94 (d, 2H), 7,25-7,13 (m, 5H), 7,01 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,82 (m, 1H), 3,66 (m, 1H), 3,50 (m, 1H), 2,94 (m, 1H), 2,73-2,57 (m, 4H), 2,47-2,27 (m, 2H), 2,12-11,23 (m, 8H), 0,84 (s, 9H), -0,05 (d, 3H), -0,2 (d, 3H); MS 558,5 (M+).

Stupeň E: Metylester 4-(3-{2-[4-(3-chlorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny. 4-(3-{2-[4-(3-Chlorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)benzoovej kyseliny sa pripraví podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni E. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (dichlormetán až 1% metanol v dichlormetáne až 2% metanol v dichlormetáne až 5% metanol v dichlormetáne). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,94 (d, 2H), 7,25-7,19 (m, 5H), 7,07 (m, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,78 (m, 1H), 3,66 (m, 1H),

3,58 (m, 1H), 2,97 (m, 1H), 2,76 (m, 1H), 2,68-2,58 (m, 3H), 2,45-2,27 (m, 2H), 2,07 (m, 1H), 1,95-1,34 (m, 8H).

Stupeň F: 4-(3-{2-[4-(3-Chlorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni F, sa metylester 4-(3-{2-[4-(3-chlorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)benzoovej kyseliny 24 hodín pri teplote miestnosti hydrolyzuje 6M hydroxidom sodným. Získa sa 4-(3-{2-[4-(3--chlorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)-benzoová kyselina. ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,98 (d, 2H), 7,27-7,09 (m, 6H), 3,81 (m, 1H), 3,65 (m, 2H), 2,99 (m, 2H), 2,75 (m, 3H), 2,39 (m, 2H), 2,20-1,30 (m, 9H).

P r í k l a d 1D

4-(3-{2-[4-(3-Fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoová kyselina

Stupeň A: 5-[4-(3-Floórfenyl)-3-oxobutyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni A, sa tetrahydropyrrolizín-3,5-dión (2 g, 14 mmol) 2,5 hodiny nechá reagovať 3-fluorbenzylmagnéziumchloridom (0,25M v Et₂O, 62 ml, 15,5 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (1:1 hexány:EtOAc až 2:1 EtOAc:hexány až EtOAc až 2% metanol v dichlormetáne až 10% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-[4-(3-fluorfenyl)-3-oxobutyl]pyrrolidin-2-ón (2,1730 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,32-7,27 (m, 1H), 7,00-6,90 (m, 3H), 6,12 (bs, 1H), 3,69 (s, 2H), 3,59 (m, 1H), 2,52 (t, 2H), 2,30 (m, 2H), 2,19 (m, 1H), 1,75 (m, 2H), 1,65 (m, 1H).

Stupeň B: 5-[4-(3-Fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni B sa 5-[4-(3-fluorfenyl)-3-oxobutyl]pyrrolidin-2-ón (2,17 g, 8,71 mmol) redukuje tetrahydroboritanom sodným (165 mg, 4,35 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (1:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 1% metanol v dichlormetáne až 3% metanol v dichlormetáne až 6% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-[4-(3-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]pyrrolidin-2-ón (2,23 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,27 (m, 1H), 6,94 (m, 3H), 6,38 (m, 1H), 3,82 (m, 1H), 3,66 (m, 1H), 2,79 (m, 1H), 2,67 (m, 1H), 2,33-2,21 (m, 3H), 1,92 (d, 1H), 1,75-1,40 (m, 5H); MS 252,2 (M+1).

Stupeň C: 5-[3-(*tert*-Butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-fluorfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, Stupni C, sa 5-[4-(3-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]pyrrolidin-2-ón (2,23 g, 8,87 mmol) nechá reagovať s *tert*-butyldimetylsilylchloridom (1,47 g, 9,76 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (1:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 1% metanol v dichlormetáne až 2% metanol v dichlormetáne až 4% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyl-oxy)-4-(3-fluorfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (2,84 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,23 (m, 1H), 6,88 (m, 3H), 5,75 (m, 1H), 3,85 (m, 1H), 3,57 (m, 1H), 2,71 (m, 2H), 2,30 (m, 2H), 2,25 (m, 1H), 1,70-1,38 (m, 5H), 0,84 (s, 9H), 0 (s, 3H), -0,2 (s, 3H).

Stupeň D: Metylester 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyl-oxy)-4-(3-fluorfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)-benzoovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni D, sa 5-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-fluorfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (254,7 mg, 0,697 mmol) alkyluje za použitia NaHMDS (1M v tetrahydrofuráne, 0,84 ml,

0,84 mmol) a metylesteru 4-(3-brompropyl)benzoovej kyseliny (200 mg, 0,778 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (5:1 hexány:EtOAc až 1:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 1% metanol v dichlormetáne až 5% metanol v dichlormetáne) sa získa metylester 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-fluorfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny (275,3 mg). ¹H NMR (CDCl₃) (vybrané píky) δ 7,94 (d, 2H), 7,23 (m, 3H), 6,87 (m, 3H), 3,88 (s, 3H), 3,86 (m, 1H), 3,63 (m, 1H), 3,50 (m, 1H), 2,94 (m, 1H), 0,84 (s, 9H).

Stupeň E: Metylester 4-(3-{2-[4-(3-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni E, sa 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-fluorfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny (275,3 mg, 0,508 mmol) podrobí deprotekcii za vzniku metylesteru 4-(3-{2-[4-(3--fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)-benzoovej kyseliny (217,2 mg). Prečistenie sa uskutočňuje strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (dichlormetán až 1% metanol v dichlormetáne až 2% metanol v dichlormetáne až 5% metanol v dichlormetáne). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,94 (d, J=7,88 Hz, 2H), 7,27 (m, 3H), 6,93 (m, 3H), 3,88 (s, 3H), 3,78 (m, 1H), 3,66 (m, 1H), 3,57 (m, 1H), 2,97 (m, 1H), 2,78 (m, 1H), 2,64 (m, 4H), 2,45-2,25 (m, 2H), 2,07 (m, 1H), 1,95-1,30 (m, 7H).

Stupeň F: 4-(3-{2-[4-(3-Fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni F, sa metylester 4-(3-{2-[4-(3-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)benzoovej kyseliny hydrolyzuje 24 hodín pri teplote miestnosti 6M hydroxidom sodným za vzniku 4-(3-{2-[4-(3-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-

yl}propyl)-benzoovej kyseliny. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,99 (d, 2H), 7,26 (m, 3H), 6,95 (m, 3H), 3,81 (m, 1H), 3,65 (m, 2H), 3,01 (m, 1H), 2,86-2,66 (m, 3H), 2,39 (m, 2H), 2,08 (m, 1H), 2,00-1,30 (m, 9H).

P r í k l a d 1 E

4-(3-{2-[3-Hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoová kyselina

Stupeň A: 5-[3-Oxo-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1B, stupni A, sa tetrahydropyrrolizín-3,5-dión (650 mg, 4,68 mmol) 3,5 hodiny nechá reagovať s 3-fenoxybenzylchloridom (1,20 g, 5,49 mmol), čím sa získa 5-[3-oxo-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (924 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,30 (m, 3H), 7,10 (m, 1H), 6,99 (m, 2H), 6,92-6,84 (m, 3H), 3,66 (s, 2H), 3,57 (m, 1H), 2,52 (t, 2H), 2,27 (m, 2H), 2,17 (m, 1H), 1,80-1,58 (m, 3H),

Stupeň B: 5-[3-Hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni B sa 5-[3-oxo-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (923,6 mg, 2,86 mmol) redukuje tetrahydroboritanom sodným (54 mg, 1,4 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:EtOAc až 2% metanol v dichlormetáne až 4% metanol v dichlormetáne až 10% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-[3-hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (668,3 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,31 (m, 2H), 7,23 (m, 1H), 7,08 (m, 1H), 6,97 (d, 2H), 6,91 (d, 1H), 6,84 (m, 2H), 3,80 (m, 1H), 3,73 (m, 1H), 2,77-2,03 (m, 2H), 2,40 (m, 2H), 2,24 (m, 1H), 1,75-1,41 (m, 5H); MS 326,3 (M+1).

Stupeň C: 5-[3-(*tert*-Butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, Stupni C, sa 5-[3-hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (668,3 mg, 2,05 mmol) nechá reagovať s *tert*-butyldimetylsilylchloridom (341 mg, 2,26 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (dichlormetán až 1% metanol v dichlormetáne až 2% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (673 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,32 (m, 2H), 7,22 (m, 1H), 7,09 (m, 1H), 6,99 (d, 2H), 6,89 (d, 1H), 6,83 (m, 2H), 3,85 (m, 1H), 3,58 (m, 1H), 2,76-2,62 (m, 2H), 2,32 (m, 2H), 2,23 (m, 1H), 1,73-1,34 (m, 5H), 0,84 (s, 9H), -0,03 (d, 3H), -0,16 (d, 3H); MS 440,7 (M+1).

Stupeň D: Metylester 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni D, sa 5-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (200 mg, 0,455 mmol) alkyluje za použitia NaHMDS (1M v tetrahydrofuráne, 0,55 ml, 0,55 mmol) a metylesteru 4-(3-brompropyl)benzoovej kyseliny (128 mg, 0,501 mmol), čím sa získa metylester 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny (173,1 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,94 (d, 2H), 7,32 (m, 2H), 7,25-7,19 (m, 3H), 7,09 (m, 1H), 6,98 (d, 2H), 6,88-6,81 (m, 3H), 3,88 (s, 3H), 3,84 (m, 1H), 3,64 (m, 1H), 3,50 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 2,76-2,57 (m, 4H), 2,37 (m, 2H), 2,03 (m, 1H), 1,92-1,67 (m, 3H), 1,56 (m, 1H), 1,46-1,25 (m, 3H), 0,84 (s, 9H), -0,04 (d, 3H), -0,15 (d, 3H).

Stupeň E: Metylester 4-(3-{2-[3-hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny. Metyl-

ester 4-(3-{2-[3-hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny sa pripraví podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni E. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (dichlormetán až 1% metanol v dichlormetáne až 2% metanol v dichlormetáne až 5% metanol v dichlormetáne). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,94 (d, 2H), 7,35-7,23 (m, 5H), 7,11 (m, 1H), 7,00 (d, 2H), 6,93-6,85 (m, 3H), 3,88 (s, 3H), 3,77 (m, 1H), 3,70-3,53 (m, 2H), 2,97 (m, 1H), 2,77 (m, 1H), 2,62 (m, 3H), 2,46-2,26 (m, 2H), 2,06 (m, 1H), 1,96-1,28 (m, 7H).

Stupeň F: 4-(3-{2-[3-Hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni F, sa metylester 4-(3-{2-[3-hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)benzoovej kyseliny hydrolyzuje 24 hodín pri teplote miestnosti 6M hydroxidom sodným za vzniku 4-(3-{2-[3-hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,99 (d, 2H), 7,37-7,26 (m, 5H), 7,12 (m, 1H), 7,03-6,88 (m, 5H), 3,82 (m, 1H), 3,66 (m, 2H), 3,00 (m, 1H), 2,85-2,60 (m, 4H), 2,41 (m, 2H), 2,09 (m, 1H), 2,03-1,28 (m, 8H).

P r í k l a d 1 F

4-{3-[2-(4-Bifenyl-3-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]-propyl}benzoová kyselina

Stupeň A: 5-(3-Bróm-3-oxobutyl)pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni A, sa tetrahydro-pyrrolizín-3,5-dión (5 g, 36 mmol) nechá 2 hodiny reagovať s 3-brombenzylmagnéziumbromidom (0,25M b Et_2O , 155 ml, 38,8 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za

použitia rozpúšťadlového gradientu (1:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 5% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-(3-bróm-3-oxobutyl)-pyrrolidin-2-ón (7,84 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,41-7,11 (m, 4H), 6,24 (bs, 1H), 3,67 (s, 2H), 3,60 (m, 1H), 2,52 (t, 2H), 2,32 (m, 2H), 2,20 (m, 1H), 1,88-1,60 (m, 3H).

Stupeň B: 5-(3-Bróm-3-hydroxybutyl)pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni B, sa 5-(3-bróm-3-oxobutyl)pyrrolidin-2-ón (7,84 g, 25,3 mmol) redukuje tetrahydroboritanom sodným (480 mg, 12,6 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (1:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 1% metanol v dichlormetáne až 3% metanol v dichlormetáne až 5% metanol v dichlormetáne až 8% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-(3-bróm-3-hydroxybutyl)pyrrolidin-2-ón (6,76 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,36-7,09 (m, 4H), 6,27 (m, 1H), 3,78 (m, 1H), 3,63 (m, 1H), 2,75 (m, 1H), 2,62 (m, 1H), 2,32-2,18 (m, 3H), 1,88 (m, 1H), 1,73-1,42 (m, 5H); MS 312,2, 314. (M+).

Stupeň C: 5-[3-Bróm-3-(terc-butyldimetylsilanyloxy)butyl]-pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, Stupni C, sa 5-(3-bróm-3-hydroxybutyl)pyrrolidin-2-ón (6,76 g, 21,6 mmol) nechá reagovať s terc-butyldimetylsilylchloridom (3,59 g, 23,8 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (dichlormetán až 1% metanol v dichlormetáne až 3% metanol v dichlormetáne až 5% metanol v dichlormetáne až 8% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-[3-bróm-3-(terc-butyldimetylsilanyloxy)butyl]pyrrolidin-2-ón (7,45 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,30 (m, 2H), 7,12 (m, 1H), 7,04 (m, 1H), 5,71 (m, 1H), 3,81 (m, 1H), 3,56 (m, 1H), 2,66 (m, 2H), 2,32-2,17 (m, 3H), 1,70-1,35 (m, 5H), 0,82 (s, 9H), -0,06 (d, 3H), -0,24 (d, 3H); MS 426,2, 428,2 (M+).

Stupeň D: 5-[4-Bifenyl-3-yl-3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-butyl]pyrrolidin-2-ón. Do roztoku 5-[3-bróm-3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)butyl]pyrrolidin-2-ónu (750 mg, 1,76 mmol) v DME (15 ml) sa pridá fenyloborónová kyselina (236 mg, 1,93 mmol). Do výslednej zmesi sa pridá octan palladnatý (26,8 mg, 0,120 mmol) a tri-*o*-tolylfosfin (39,5 mg, 0,130 mmol) a potom roztok uhličitanu sodného (373 mg, 3,52 mmol) vo vode (1,8 ml). Reakčná zmes sa 24 hodín zahrieva k spätnému toku, ochladí a za zníženého tlaku sa z nej odstránia prchavé látky. Zvyšok sa zriedi vodným chloridom sodným a etylacetátom. Vodný roztok sa premyje etylacetátom (3x) a spojené organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (1:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 1% metanol v dichlormetáne až 3% metanol v dichlormetáne až 5% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-[4-bifenyl-3-yl-3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-butyl]pyrrolidin-2-ón (717,3 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,57 (m, 2H), 7,43 (m, 2H), 7,33 (m, 3H), 7,11 (m, 2H), 5,78 (m, 1H), 3,91 (m, 1H), 3,59 (m, 1H), 2,76 (m, 2H), 2,27 (m, 3H), 1,73-1,38 (m, 5H), 0,83 (s, 9H), -0,03 (d, 3H), -0,16 (d, 3H); MS 424,3 (M+1).

Stupeň E: Metylester 4-(3-{2-[4-bifenyl-3-yl-3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni D, sa 5-[4-bifenyl-3-yl-3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)butyl]pyrrolidin-2-ón (5,116 g, 12,08 mmol) 20 hodín alkyluje metylesterom 4-(3-brompropyl)benzoovej kyseliny (3,41 g, 13,3 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (5:1 hexány:EtOAc až 1:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 1% metanol v dichlormetáne až 5% metanol v dichlormetáne) sa získa metylester 4-(3-{2-[4-

bifenyl-3-yl-3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)butyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}propyl}benzoovej kyseliny (5,38 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,93 (d, 2H), 7,56 (d, 2H), 7,43 (m, 3H), 7,34 (m, 3H), 7,23 (m, 2H), 7,12 (m, 1H), 3,89 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,64 (m, 1H), 3,49 (m, 1H), 2,95-2,61 (m, 5H), 2,30 (m, 2H), 2,01 (m, 1H), 1,89-1,70 (m, 3H), 1,59-1,24 (m, 4H), 0,84 (s, 9H), -0,04 (d, 3H), -0,16 (d, 3H).

Stupeň F: Metylester 4-{3-[2-(4-bifenyl-3-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni E, sa metylester 4-(3-{2-[4-bifenyl-3-yl-3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl}benzoovej kyseliny (5,38 g, 8,97 mmol) podrobí deprotekcii. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (hexány až 2:1 hexány:EtOAc až 1:1 hexány:EtOAc až 0,5% metanol v dichlormetáne až 1% metanol v dichlormetáne) sa získa metylester 4-{3-[2-(4-bifenyl-3-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoovej kyseliny (3,70 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,93 (d, 2H), 7,57 (d, 2H), 7,40 (m, 6H), 7,24 (m, 2H), 7,17 (m, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,80 (m, 1H), 3,66 (m, 1H), 3,56 (m, 1H), 2,97 (m, 1H), 2,90-2,60 (m, 4H), 2,33 (m, 2H), 2,07 (m, 1H), 1,98-1,34 (m, 8H).

Stupeň G: 4-{3-[2-(4-Bifenyl-3-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni F, sa metylester 4-{3-[2-(4-bifenyl-3-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]-propyl}benzoovej kyseliny (3,14 g, 6,47 mmol) 24 hodín pri teplote miestnosti hydrolyzuje 6M hydroxidom sodným (40 ml) v metamole (160 ml). Získa sa 4-{3-[2-(4-bifenyl-3-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]-propyl}benzoová kyselina (2,73 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,98 (d, 2H), 7,57 (d, 2H), 7,40 (m,

6H), 7,26 (m, 2H), 7,18 (m, 1H), 3,85 (m, 1H), 3,68 (m, 1H), 3,59 (m, 1H), 2,98 (m, 1H), 2,88 (m, 1H), 2,70 (m, 3H), 2,36 (m, 2H), 2,08 (m, 1H), 1,85 (m, 3H), 1,69-1,35 (m, 4H); MS 470,1 (M-1), 472,2 (M+1).

P r í k l a d 1 G

4-(3-{2-[4-(4-Fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoová kyselina

Stupeň A: 5-[4-(4-Fluorfenyl)-3-oxobutyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni A, tetrahydropyrrolizin-3,5-dión (1,41 g, 10,1 mmol) 5 hodín nechá reagovať s 4-fluorbenzylmagnéziumchloridom (0,25M v Et₂O, 50 ml, 12,5 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (2% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-[4-(4-fluorfenyl)-3-oxobutyl]pyrrolidin-2-ón (2,64 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,18 (m, 2H), 7,03 (m, 2H), 6,34 (m, 1H), 3,70 (s, 2H), 3,62 (m, 1H), 2,54 (t, 2H), 2,34-2,15 (m, 3H), 1,82-1,61 (m, 3H).

Stupeň B: 5-[4-(4-Fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni B, sa 5-[4-(4-fluorfenyl)-3-oxobutyl]pyrrolidin-2-ón (2,64 g, 10,6 mmol) 1 hodinu pri teplote miestnosti redukuje tetrahydroboritanom sodným (400 mg, 10,5 mmol). Do reakčnej zmesi sa pridá ďalší tetrahydroboritan sodný (150 mg, 3,95 mmol) a vzniknutá zmes sa 20 hodín mieša. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (dichlormetán až 2% metanol v dichlormetáne až 4% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-[4-(4-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]pyrrolidin-2-ón (2,01 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,14 (m, 2H), 6,98 (m, 2H), 6,78 (m, 1H), 3,76 (m, 1H), 3,65 (m,

1H), 2,76 (m, 1H), 2,64 (m, 1H), 2,32-2,18 (m, 4H), 1,72-1,47 (m, 5H).

Stupeň C: 5-[3-(*tert*-Butyldimetylsilanyloxy)-4-(4-fluorfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, Stupni C, sa 5-[4-(4-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]pyrrolidin-2-ón (1,95 g, 7,79 mmol) nechá reagovať s *tert*-butyldimetylsilylchloridom (1,47 g, 9,76 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1% metanol v dichlorometáne) sa získa 5-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(4-fluorfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón. ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,12 (m, 2H), 6,97 (m, 2H), 5,75 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,60 (m, 1H), 2,71 (m, 2H), 2,36-2,24 (m, 3H), 1,70-1,38 (m, 5H), 0,84 (s, 9H), -0,05 (d, 3H), -0,2 (d, 3H).

Stupeň D: Metylester 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(4-fluorfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)-benzoovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni D, sa 5-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(4-fluorfenyl)butyl]pyrrolidin-2-ón (296 mg, 0,809 mmol) 72 hodín alkyluje metylesterom 4-(3-brompropyl)benzoovej kyseliny (276 mg, 1,07 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:EtOAc) sa získa metylester 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(4-fluorfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny (250 mg). ¹H NMR (CDCl₃) (vybrané píky) δ 7,92 (d, 2H), 7,21 (d, 2H), 7,05 (m, 2H), 6,92 (m, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,76 (m, 1H), 3,62 (m, 1H), 3,45 (m, 1H), 0,81 (s, 9H).

Stupeň E: Metylester 4-(3-{2-[4-(4-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni E, sa metylester 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-(4-

fluorfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny (241,2 mg, 0,445 mmol) podrobí deprotekcii. Po strednotlakovej chromatografii (1:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 1% metanol v dichlormetáne až 3% metanol v dichlormetáne až 5% metanol v dichlormetáne) sa získa metylester 4-(3-{2-[4-(4-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny (61,1 mg). ^1H NMR (CDCl_3) (vybrané píky) δ 7,93 (d, 2H), 7,24 (d, 2H), 7,14 (m, 2H), 7,00 (m, 2H), 3,88 (s, 3H), 3,80-3,51 (m, 3H), 2,98 (m, 1H), 2,32 (m, 2H).

Stupeň F: 4-(3-{2-[4-(4-Fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni F, sa metylester 4-(3-{2-[4-(4-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzoovej kyseliny (61,1 mg, 0,143 mmol) 24 hodín pri teplote miestnosti hydrolyzuje 6M hydroxidom sodným (1 ml) v metanole (5 ml). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (dichlormetán až 2% metanol v dichlormetáne až 4% metanol v dichlormetáne až 6% metanol v dichlormetáne až 10% metanol v dichlormetáne) sa získa zlúčenina uvedená v nadpise (45 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,97 (d, 2H), 7,25 (m, 2H), 7,14 (m, 2H), 6,99 (m, 2H), 3,75-3,58 (m, 3H), 2,97 (m, 1H), 2,69 (m, 4H), 2,40 (m, 2H), 2,15-1,35 (m, 9H); MS 413,8 (M+).

P r í k l a d 1 H

4-{2-[2-(3-Hydroxy4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]-etoxy}benzoová kyselina

Stupeň A: Etyl ester 4-(2-{2-[3-(terc-butyldimetylsilanyloxy)-4-fenylbutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}etoxy)benzoovej kyseliny.

Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni D, sa 5-[3-(*terc*-butyldimetylsilanyloxy)-4-fenyl-butyl]pyrrolidin-2-ón (pripravený v príklade 1A, stupni C) (250 mg, 0,719 mmol) alkyluje za použitia NaHMDS (1M v tetra-hydrofuráne, 0,86 ml, 0,86 mmol) a etylesteru 4-(2-brometoxy)benzoovej kyseliny (216 mg, 0,791 mmol). Reakčná teplota sa udržiava 24 hodín na 50°C. Po prečistení radiálnou chromatografiou (hexány až 4:1 hexány:EtOAc) sa získa etylester 4-(2-{2-[3-(*terc*-butyldimetylsilanyloxy)-4-fenylbutyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}etoxy)benzoovej kyseliny (66,4 mg). ¹H NMR (CDCl₃) (vybrané píky) δ 7,96 (m, 2H), 7,29-7,13 (m, 5H), 6,84 (m, 2H), 4,33 (q, 2H), 4,12 (m, 2H), 3,90 (m, 2H), 3,68 (m, 1H), 3,34 (m, 1H), 2,73 (m, 2H), 2,32 (m, 2H), 1,36 (t, 3H), 0,85 (s, 9H), -0,03 (s, 3H), -0,15 (d, 3H).

Stupeň B: Etylester 4-{2-[2-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxo-pyrrolidin-1-yl]etoxy}benzoovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni E, sa etylester 4-(2-{2-[3-(*terc*-butyldimetylsilanyloxy)-4-fenylbutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}etoxy)benzoovej kyseliny (66,4 mg, 0,122 mmol) podrobí deprotekcii za vzniku etylesteru 4-{2-[2-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]etoxy}benzoovej kyseliny (52 mg) po prečistení radiálnou chromatografiou (dichlormetán až 2% metanol v dichlormetáne). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,94 (m, 2H), 7,31-7,16 (m, 5H), 6,83 (m, 2H), 4,30 (q, 2H), 4,12 (m, 2H), 3,90 (m, 1H), 3,76 (m, 2H), 3,38 (m, 1H), 2,80 (m, 1H), 2,64 (m, 1H), 2,33 (m, 2H), 2,10 (m, 1H), 1,69-1,37 (m, 6H), 1,34 (t, 3H).

Stupeň C: 4-{2-[2-(3-Hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]etoxy}benzoová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni F, sa etylester 4-{2-[2-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]etoxy}benzoovej kyseliny (52

mg, 0,122 mmol) hydrolyzuje 6M hydroxidom sodným (1 ml). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (41,5 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,98 (d, 2H), 7,32-7,16 (m, 5H), 6,85 (m, 2H), 4,13 (m, 2H), 3,92 (m, 1H), 3,81 (m, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,40 (m, 1H), 2,82 (m, 1H), 2,66 (m, 1H), 2,36 (m, 2H), 2,10 (m, 2H), 1,70-1,34 (m, 5H); MS 398,4 (M+1), 396,3 (M-1).

P r í k l a d 2 A

7-{2S-[3R-Hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)butyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}heptánová kyselina

Stupeň A: Etylester 7-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny. Do roztoku etylesteru 7-(2R-hydroxymetyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)-heptánovej kyseliny (1,63 g, 6,01 mmol) v bezvodom benzéne (50 ml) sa pridá hydrochlorid 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etylkarbodiimidu (3,46 g, 18,03 mmol) a dimetylsulfoxid (1,5 ml, 24,04 mmol). Vzniknutý roztok sa ochladí na 0°C a pridá sa k nemu pyridiniumtrifluoracetát (1,28 g, 6,61 mmol). Reakčná zmes sa 15 minút mieša pri 0°C a 2 hodiny pri teplote miestnosti. Roztok sa dekantuje a olejovitý zvyšok sa premyje benzénom (3x). Benzénové premývacie lúhy sa skoncentrujú za zníženého tlaku. Získa sa etylester 7-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny, ktorý sa použije v stupni B bez ďalšieho prečistenia.

Stupeň B: Etylester 7-{2R-[4-(3-metoxymetylfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny. Do roztoku dietylesteru [3-(3-metoxymetylfenyl)-2-oxopropyl]-fosfónovej kyseliny (1,715 g, 5,46 mmol) v tetrahydrofuráne (43 ml) sa pri 0°C po častiach pridá hydrid sodný (60% hmotn. v oleji, 240 mg, 6,00 mmol). Reakčná zmes sa 45 minút mieša pri teplote

miestnosti, potom ochladí na 0°C a prikvapká sa k nej roztok etylesteru 7-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny (pripravený v stupni A, asi 6,01 mmol) v tetrahydrofuráne (32 ml). Reakčná zmes sa 15 minút mieša pri 0°C a 24 hodín pri teplote miestnosti, ochladí na 0°C a pridávaním kyseliny octovej sa jej pH upraví na 5. Do zmesi sa pridá etylacetát a voda. Vodný roztok sa premyje etylacetátom (3x). Organické roztoky sa spoja, premyjú vodou, vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a skoncentrujú. Zvyšok sa prečistí strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (2:1 hexány:EtOAc až 1:1 hexány:EtOAc až 1% metanol v dichlormetáne až 3% metanol v dichlormetáne). Získa sa etylester 7-{2R-[4-(3-metoxymetylfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl} heptánovej kyseliny (1,4 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,29 (m, 1H), 7,22 (m, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,09 (d, 1H), 6,62 (dd, 1H), 6,19 (d, 1H), 4,41 (s, 2H), 4,10 (m, 3H), 3,82 (s, 2H), 3,51 (m, 1H), 3,36 (s, 3H), 2,67 (m, 1H), 2,43-2,18 (m, 5H), 1,75 (m, 1H), 1,56 (m, 2H), 1,42-1,17 (m, 9H).

Stupeň C: Etylestser 7-{2R-[3S-hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny. Do roztoku etylesteru 7-{2R-[4-(3-metoxymetylfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (1,40 g, 3,26 mmol) v bezvodom dichlormetáne (200 ml) sa pridá (R)-2-metyl-CBS-oxazaborolidín (1M v toluéne, 0,49 ml, 0,49 mmol). Výsledný roztok sa ochladí na -45°C. Reakčná zmes sa 20 minút mieša a pridá sa k nej katecholbóran (1M v tetrahydrofuráne, 9,8 ml, 9,8 mmol). Reakčná zmes sa 24 hodín mieša pri -45°C a pridá sa k nej tetrahydrofurán (100 ml) a kyselina chlorovodíková (1M, 100 ml). Reakčná zmes sa 24 hodín mieša pri teplote miestnosti a 1,5 hodín pri 40 až 45°C. Získaný roztok sa zriedi dichlormetánom a vodou. Vrstvy sa oddelia a organický roztok sa ochladí na 0°C a premyje ľadovo chladným hydroxidom

sodným (0,5M) a potom vodným chloridom sodným. Organický roztok sa znovu premyje ľadovo chladným chloridom sodným (0,5M) a potom vodným chloridom sodným, vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (5:1 hexány:EtOAc až 2:1 hexány:EtOAc až 1:1 hexány:EtOAc až EtOAc až 2% metanol v dichlormetáne) sa získa etylester 7-{2R-[3S-hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrroli-din-1-yl}heptánovej kyseliny (1,2 g) ako zmes 3S:3R diastereomérov na funkčnej skupine alkoholu podľa analýzy HPLC približne v pomere 12:1. ¹H NMR (CDCl₃) (vybrané píky) δ 7,26-7,07 (m, 4H), 5,67 (m, 1H), 5,43 (m, 1H), 4,39 (s, 2H), 4,36 (m, 1H), 4,06 (q, 2H), 3,98 (m, 1H), 3,41 (m, 1H), 3,35 (s, 3H); MS 432,3 (M+1), 430,3 (M-1).

Stupeň D: Etylester 7-{2S-[3R-hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny. Do roztoku etylesteru 7-{2R-[3S-hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (1,2 g, 2,78 mmol) v etanole (100 ml) sa pridá 10% palládium na uhľiku (120 mg). Reakčná zmes sa 24 hodín hydrogenuje v Parrovom trepacom zariadení za tlaku 309,15 kPa. Katalyzátor sa odstráni filtráciou cez celit za použitia etanolu. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia rozpúšťadlového gradientu (dichlormetán až 2% metanol v dichlormetáne až 5% metanol v dichlormetáne) (2x) sa získa etylester 7-{2S-[3R-hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-heptánovej kyseliny (1,1 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,28 (m, 1H), 7,18 (m, 2H), 7,11 (m, 1H), 4,42 (s, 2H), 4,08 (q, 2H), 3,82 (m, 1H), 3,58 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 2,84 (m, 2H), 2,66 (m, 1H), 2,41-2,23 (m, 4H), 2,08 (m, 1H), 1,78 (m, 1H), 1,64-1,37 (m, 9H), 1,28 (m, 4H), 1,22 (t, 3H).

Stupeň E: 7-{2S-[3R-Hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánová kyselina. Do roztoku etylesteru 7-{2S-[3R-hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (1,1 g, 2,53 mmol) v etanole (32 ml) sa pridá hydroxid sodný (6M, 16 ml). Reakčná zmes sa 24 hodín mieša a 1M kyselinou chlorovodíkovou sa jej pH upraví približne na 2. Do zmesi sa pridá vodný chlorid sodný a dichlormetán. Vrstvy sa oddelia a vodný roztok sa premyje 5% metanolom v dichlormetáne (2x). Spojené organické vrstvy sa vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa skoncentruje. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise príkladu 2A (990 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,28 (m, 1H), 7,18 (m, 2H), 7,11 (m, 1H), 4,43 (s, 2H), 3,83 (m, 1H), 3,57 (m, 2H), 3,40 (s, 3H), 2,91 (m, 1H), 2,79 (m, 1H), 2,66 (m, 1H), 2,43-2,25 (m, 4H), 2,10 (m, 1H), 1,83 (m, 1H), 1,66-1,22 (m, 13H); MS 406,3 (M+1), 404,3 (M-1).

P r í k l a d 2 B

7-[2R-(3-Hydroxy-4-naftalen-2-yl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl]-heptánová kyselina

Stupeň A: Etylster 7-[2R-(4-naftalen-2-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]-heptánovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión odvodený od dimetylsteru (3-naftalen-2-yl-2-oxopropyl)fosfónovej kyseliny (646 mg, 2,21 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 81 mg, 2,02 mmol) nechá 163 hodín reagovať s etylesterom 7-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny (asi 1,84 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:EtOAc až EtOAc) sa získa etylester 7-[2R-(4-naftalen-2-yl-3-oxobut-

1--enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny (340 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,78 (m, 3H), 7,65 (s, 1H), 7,46 (m, 2H), 7,30 (d, 1H), 6,66 (dd, 1H), 6,24 (d, 1H), 4,10 (m, 3H), 3,99 (s, 2H), 3,45 (m, 1H), 2,63 (m, 1H), 2,44-2,18 (m, 5H), 1,75 (m, 1H), 1,52 (m, 2H), 1,37-1,06 (m, 9H); MS 436,1 (M+1), 434,1 (M-1).

Stupeň B: Etylester 7-[2S-(4-naftalen-2-yl-3-oxobutyl)-5-oxo-pyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa zmes etylesteru 7-[2R-(4--naftalen-2-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]-heptánovej kyseliny (337 mg, 0,774 mmol) a 10% palládia na uhlíku (50 mg) v etanole (50 ml) sa 3 hodiny hydrogenuje za tlaku 343,5 kPa. Strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:EtOAc až EtOAc) sa získa etylester 7-[2S-(4-naftalen-2-yl-3-oxobutyl)-5-oxo-pyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny (290 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,80 (m, 3H), 7,66 (s, 1H), 7,47 (m, 2H), 7,30 (m, 1H), 4,10 (q, 2H), 3,85 (s, 2H), 3,52 (m, 2H), 2,77 (m, 1H), 2,47 (m, 2H), 2,26 (m, 4H), 1,98 (m, 2H), 1,61-1,16 (m, 13H); MS 438,1 (M+1), 436,1 (M-1).

Stupeň C: Etylester 7-[2S-(3-hydroxy-4-naftalen-2-ylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny. Do roztoku etylesteru 7-[2S-(4-naftalen-2-yl-3-oxobutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny (367 mg, 0,839 mmol) v etanole (20 ml) pridá tetrahydroboritan sodný (32 mg, 0,839 mmol). Reakčná zmes sa 2 hodiny mieša a pridá sa k nej voda (5 ml). Prchavé látky sa odstránia za zníženého tlaku a výsledný vodný roztok sa premyje trichlormetánom (4x10 ml). Organické roztoky sa spoja, vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:EtOAc až EtOAc) sa získa etylester 7-[2S-(3-hydroxy-4-naftalen-2-yl-butyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej

kyseliny (332 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,80 (m, 3H), 7,65 (s, 1H), 7,46 (m, 2H), 7,33 (m, 1H), 4,07 (m, 2H), 3,91 (m, 1H), 3,60 (m, 2H), 2,98 (m, 1H), 2,84 (m, 2H), 2,35 (m, 2H), 2,25 (t, 2H), 2,10 (m, 1H), 2,01 (m, 1H), 1,81 (m, 1H), 1,70 (d, 1H), 1,68-1,37 (m, 7H), 1,36-1,20 (m, 7H); MS 440,1 (M+1).

Stupeň D: 7-[2S-(3-Hydroxy-4-naftalen-2-ylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánová kyselina. Roztok etylesteru 7-[2S-(3-hydroxy-4-naftalen-2-ylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny (327 mg, 0,744 mmol), hydroxid sodný (1M, 0,8 ml) a metanol (15 ml) sa 4 hodiny zahrievajú k spätnému toku. Prchavé látky sa odstránia za zníženého tlaku a do zvyšku sa pridá voda. Vodný roztok sa 1M kyselinou chlorovodíkovou okyslí na pH 5 a okyslený roztok sa premyje trichlormetánom (4 x 10 ml). Organické roztoky sa spoja, vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa skoncentruje. Získa sa 7-[2S-(3-hydroxy-4-naftalen-2-ylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánová kyselina (180 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,80 (m, 3H), 7,65 (s, 1H), 7,46 (m, 2H), 7,33 (m, 1H), 3,94 (m, 1H), 3,58 (m, 2H), 3,02-2,80 (m, 3H), 2,34 (m, 4H), 2,08 (m, 2H), 1,67-1,23 (m, 13H); MS 412,1 (M+1), 410,2 (M-1).

Stupeň E: Sodná soľ 7-[2S-(3-hydroxy-4-naftalen-2-ylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny. Do roztoku 7-[2S-(3-hydroxy-4-naftalen-2-ylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny (35 mg, 0,0851 mmol) v metanole sa pri 0°C pridá hydroxid sodný (1M, 0,085 ml). Reakčná zmes sa 1,5 hodiny mieša pri 0°C a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa azeotropicky predestiluje s trichlormetánom (3x5 ml). Získa sa soľ uvedená v nadpise titulnej zlúčeniny z príkladu 2B (37 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,69-7,24 (m, 7H), 3,78 (m, 1H), 3,40 (m, 2H), 2,80 (m, 6H), 2,16-1,70 (m, 4H), 1,43-1,18 (m, 12H).

P r í k l a d 2 C

7-[2R-(4-Benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxo-pyrrolidin-1-yl]heptánová kyselina

Stupeň A: Etylester 7-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylésteru (3-benzo[1,3]dioxol-5-yl-2-oxopropyl)fosfónovej kyseliny (12,65 g, 44,2 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 1,62 g, 40,5 mmol) nechá 24 hodín reagovať s etylesterom 7-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny (asi 36,8 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (10% etylacetát v hexánoch až 40% etylacetát v hexánoch) sa získa etylester 7-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny (4,18 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 6,76 (d, 1H), 6,63 (m, 3H), 6,20 (d, 1H), 5,94 (s, 2H), 4,13 (m, 3H), 3,74 (s, 2H), 3,52 (m, 1H), 2,71 (m, 1H), 2,38 (m, 2H), 2,26 (m, 3H), 1,78 (m, 1H), 1,58 (m, 5H), 1,46-1,19 (m, 6H).

Stupeň B: Etylester 7-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa etylester 7-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny (4,18 g, 9,74 mmol) nechá reagovať s tetrahydroboritanom sodným (369 mg, 9,74 mmol) v etanole (32 ml). Tetrahydroboritan sodný sa pridáva pri 0°C a reakčná zmes sa 3 hodiny mieša pri teplote miestnosti. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (EtOAc) sa získa etylester 7-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny (3,36 g).

Stupeň C: 7-[2R-(4-Benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa etylester 7-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny (3,36 g, 7,79 mmol) hydrolyzuje 2M hydroxidom sodným (11 ml) v metanole. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (50% etylacetát v hexánoch až etylacetát až 5% metanol v dichlormetáne) a potom na druhom stĺpci za použitia rozpúšťadlového gradientu (1% MeOH až dichlormetán až 5% metanol v dichlormetáne) sa získa 7-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánová kyselina (2,26 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 6,66 (m, 3H), 5,91 (s, 2H), 5,69 (m, 1H), 5,44 (m, 1H), 4,31 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 3,45 (m, 1H), 2,76 (m, 3H), 2,34 (m, 4H), 2,15 (m, 1H), 1,70-1,20 (m, 10H); MS 404,3 (M+1), 402,1 (M-1).

Stupeň D: Sodná soľ 7-[2R-(4-Benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny. Táto sodná soľ sa pripraví tak, že sa hydrogénuhličitan sodný (470 mg, 5,60 mmol) vo vode pridá do roztoku 7-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny (2,26 g, 5,60 mmol) v etanole. Reakčná zmes sa 3 hodiny mieša a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Získa sa sodná soľ titulnej zlúčeniny z príkladu 2C. ^1H NMR (CD_3OD) δ 6,65 (m, 3H), 5,85 (s, 2H), 5,67 (m, 1H), 5,34 (m, 1H), 4,24 (m, 1H), 4,09 (m, 1H), 3,45 (m, 1H), 2,79 (m, 2H), 2,61 (m, 2H), 2,29 (m, 2H), 2,16 (m, 3H), 1,68-1,17 (m, 9H).

P r í k l a d 2 D

7-[2S-(4-Benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxo-
pyrrolidin-1-yl]heptánová kyselina

Stupeň A: 7-[2S-(4-Benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa zmes 7-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánovej kyseliny (120 mg, 2,96 mmol), metanolu (30 ml) a 10% palládia na uhlíku (14 mg) hydrogenuje počas 18 hodín. Získa sa 7-[2S-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánová kyselina (71,3 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 6,68 (m, 3H), 5,92 (s, 2H), 3,74 (m, 1H), 3,57 (m, 2H), 2,87 (m, 1H), 2,72 (m, 1H), 2,54 (m, 1H), 2,31 (m, 4H), 2,10 (m, 1H), 1,99 (m, 1H), 1,66-1,19 (m, 13H); MS 406,3 (M+1), 404,3 (M-1).

P r í k l a d 2 E

4-{3-[2R-(4-Benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoová kyselina

Stupeň A: Metylester 4-{3-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylésteru (3-benzo[1,3]dioxol-5-yl-2-oxopropyl)fosfónovej kyseliny (356 mg, 1,28 mmol) a NaH (60% v oleji, 46 mg, 1,14 mmol) nechá 24 hodín reagovať s metylesterom 4-[3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]benzoovej kyseliny (asi 1,04 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (30% hexán v etylacetáte až etylacetát) sa získa metylester 4-{3-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoovej kyseliny (202 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,92 (d, 2H), 7,18 (d, 2H), 6,73 (d, 1H), 6,60 (m, 3H), 6,15 (d, 1H), 5,91 (s, 2H), 4,08

(m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,68 (s, 2H), 3,56 (m, 1H), 2,79 (m, 1H), 2,59 (t, 2H), 2,34 (m, 2H), 2,14 (m, 1H), 1,72 (m, 3H); MS 450,1 (M+1).

Stupeň B: Metylester 4-{3-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa metylester 4-{3-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoovej kyseliny (202 mg, 0,449 mmol) nechá 2 hodiny pri 0°C reagovať s tetrahydroboritanom sodným (17 mg, 0,45 mmol) v metanole (8 ml). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (etylacetát až 2% metanol v dichlormetáne) sa získa metylester 4-{3-[2R-(4--benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoovej kyseliny (156 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,94 (d, 2H), 7,23 (d, 2H), 6,67 (m, 3H), 5,92 (s, 2H), 5,66 (m, 1H), 5,45 (m, 1H), 4,28 (m, 1H), 3,99 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,55 (m, 1H), 2,88-2,59 (m, 5H), 2,50-1,61 (m, 7H); MS 452,1 (M+1).

Stupeň C: 4-{3-[2R-(4-Benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa metylester 4-{3-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoovej kyseliny (156 mg, 0,345 mmol) hydrolyzuje 2M hydroxidom sodným v metanole (5 ml) za vzniku titulnej zlúčeniny z príkladu 2E (120 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,99 (d, 2H), 7,26 (m, 2H), 6,74 (d, 1H), 6,63 (m, 2H), 5,91 (s, 2H), 5,67 (m 1H), 5,46 (m, 1H), 4,29 (m, 1H), 3,99 (m, 1H), 3,57 (m, 1H), 2,94-2,60 (m, 5H), 2,36 (m, 2H), 2,14 (m, 1H), 1,87-1,62 (m, 4H); MS 436,2 (M-1).

P r í k l a d 2 F

4-{3-[2S-(4-Benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxo-pyrrolidin-1-yl]propyl}benzoová kyselina

Stupeň A: 4-{3-[2S-(4-Benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa 4-{3-[2R-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoová kyselina (116 mg, 0,265 mmol) hydrogenuje za vzniku 4-{3-[2S-(4-benzo[1,3]dioxol-5-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzoovej kyseliny (101 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,99 (d, 2H), 7,26 (m, 2H), 6,74 (d, 1H), 6,63 (m, 2H), 5,91 (s, 2H), 5,68 (m, 1H), 5,46 (m, 1H), 4,29 (m, 1H), 3,99 (m, 1H), 3,56 (m, 1H), 2,91 (m, 4H), 2,84-2,60 (m, 4H), 2,36 (m, 2H), 2,14 (m, 1H), 1,87-1,62 (m, 4H); MS 438,2 (M-1).

P r í k l a d 2 G

7-{2S-[3R-Hydroxy-4-(3-trifluormetoxifyenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánová kyselina

Stupeň A: Etylester 7-{2-oxo-5R-[3-oxo-4-(3-trifluormetoxifyenyl)but-1-enyl]pyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylesteru [2-oxo-3-(3-trifluormetoxifyenyl)propyl]fosfónovej kyseliny (370 mg, 1,13 mmol) a NaH (60% v oleji, 45 mg, 1,13 mmol) nechá 16 hodín reagovať s etylesterom 7-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny (asi 1,13 mmol). Strednotlakovou chromatografiou

(19:1 hexány:etylacetát až 6:4 hexány:etylacetát až 1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa etylester 7-{2-oxo-5R-[3-oxo-4-(3-trifluormetoxifyfenyl)but-1-enyl]pyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (132 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,35 (m, 1H), 7,12 (m, 2H), 7,05 (s, 1H), 6,66 (dd, 1H), 6,21 (d, 1H), 4,18 (m, 1H), 4,10 (q, 2H), 3,86 (s, 2H), 3,54 (m, 1H), 2,70 (m, 1H), 2,47-2,22 (m, 5H), 1,78 (m, 1H), 1,57 (m, 2H), 1,61-1,21 (m, 9H); MS 470,2 (M+1), 468,1 (M-1).

Stupeň B: Etylester 7-{2R-[3S-hydroxy-4-(3-trifluormetoxifyfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny. Do roztoku etylesteru 7-{2-oxo-5R-[3-oxo-4-(3-trifluormetoxifyfenyl)but-1-enyl]pyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (169 mg, 0,360 mmol) a (R)-2-metyl-CBS-oxazaborolidínu (1M v toluéne, 0,054 ml, 0,054 mmol) v dichlormetáne (25,0 ml) sa pri -45°C prikvapká katecholbóran (1M v tetrahydrofuráne, 1,08 ml, 1,08 mmol). Reakčná zmes sa 19 hodín mieša pri -45°C a pridá sa k nej metanol (5 ml). Reakčná zmes sa zahreje na teplotu miestnosti a skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa rozpustí v trichlormetáne a organický roztok sa premyje 1M hydroxidom sodným (4x10 ml) a vodou (1x10 ml). Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (9:1 hexány:etylacetát až 1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa etylester 7-{2R-[3S-hydroxy-4-(3-trifluormetoxifyfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (90 mg) ako zmes (3S:3R) diastereomérov na funkčnej skupine alkoholu v pomere 9 : : 1 (Podľa analýzy HPLC). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,32 (m, 1H), 7,10 (m, 3H), 5,70 (dd, 1H), 5,50 (dd, 1H), 4,41 (m, 1H), 4,09 (q, 2H), 4,01 (m, 1H), 3,45 (m, 1H), 2,85 (d, 2H), 2,70 (m, 1H), 2,41-2,24 (m, 4H), 2,17 (m, 1H), 1,71-1,54 (m, 5H), 1,47-1,21 (m, 8H); MS 472,3 (M+1), 470,2 (M-1).

Stupeň C: Etylester 7-{2S-[3R-hydroxy-4-(3-trifluormetoxifenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa roztok etylesteru 7-{2R-[3S-hydroxy-4-(3-trifluormetoxifenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (86 mg, 0,182 mmol) v etanole (40 ml) za prítomnosti 10% palládia na uhlíku 2,5 hodiny hydrogenuje za tlaku 343,5 kPa. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (9:1 hexány:EtOAc to 1:1 hexány:etyl-acetát až etylacetát) sa získa etylester 7-{2S-[3R-hydroxy-4-(3-trifluormetoxifenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (49 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,33 (m, 1H), 7,11 (m, 3H), 4,09 (q, 2H), 3,84 (m, 1H), 3,59 (m, 2H), 2,85 (m, 2H), 2,72 (m, 1H), 2,42-2,24 (m, 4H), 2,10 (m, 1H), 1,79 (m, 1H), 1,68-1,21 (m, 16H); MS 474,2 (M+1).

Stupeň D: 7-{2S-[3R-Hydroxy-4-(3-trifluormetoxifenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa etylester 7-{2S-[3R-hydroxy-4-(3-trifluormetoxifenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (45 mg, 0,095 mmol) 4 hodiny pri teplote spätného toku hydrolyzuje 1M hydroxidom sodným (0,95 ml) v metanole (20 ml). Získa sa titulná zlúčenina z príkladu 2G (35 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,33 (m, 1H), 7,10 (m, 3H), 3,86 (m, 1H), 3,58 (m, 2H), 2,90 (m, 1H), 2,81 (m, 1H), 2,73 (m, 1H), 2,34 (m, 4H), 2,10 (m, 1H), 1,80 (m, 1H), 1,66-1,24 (m, 13H); MS 446,3 (M+1), 444,2 (M-1).

P r í k l a d 2 H

7-{2S-[4-(3-Kyano-fenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánová kyselina

Stupeň A: Etylester 7-{2R-[4-(3-bromfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylésteru [3-(3-bromfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny (2,90 g, 9,03 mmol) a NaH (60% v oleji, 489 mg, 12,23 mmol) nechá 24 hodín reagovať s etylesterom 7-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny (asi 11,06 mmol). Mžikovou chromatografiou (etylacetát až 5% metanol v etylacetáte) sa získa etylester 7-{2R-[4-(3-bromfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-heptánovej kyseliny (2,63 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,40 (d, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,12 (d, 1H), 6,66 (dd, 1H), 6,21 (d, 1H), 4,17 (m, 1H), 4,11 (q, 2H), 3,81 (s, 2H), 3,54 (m, 1H), 2,71 (m, 1H), 2,48-2,21 (m, 5H), 1,79 (m, 1H), 1,58 (m, 2H), 1,47-1,20 (m, 9H); MS 466,1 (M+1).

Stupeň B: Etylester 7-{2R-[4-(3-bromfenyl)-3S-hydroxybut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny. Do roztoku etylesteru 7-{2R-[4-(3-bromfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (2,63 g, 5,66 mmol) a (R)-2-metyl-CBS-oxazaborolidínu (1M v toluéne, 0,85 ml, 0,85 mmol) v dichlormetáne (225 ml) sa pri -45°C prikvapká katecholbóran (1M v tetrahydrofuráne, 17,0 ml, 17,0 mmol). Reakčná zmes sa 17 hodín mieša pri -45°C, hneď potom sa k nej pridá vodná kyselina chlorovodíková (1M, 17 ml). Reakčná zmes sa zahreje na teplotu miestnosti. Organický roztok sa postupne premyje 1M kyselinou chlorovodíkovou (1 x 100 ml), vodou (2 x 100 ml) a vodným chloridom sodným (1 x 100 ml). Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení mžikovou chromatografiou (etylacetát až 5% metanol v etylacetáte) sa získa etylester 7-{2R-[4-(3-bromfenyl)-3S-hydroxybut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (705 mg) ako 3S:3R diastereoméry na

funkčnej skupine alkoholu v pomere približne 95 : 5 podľa ^1H NMR. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,36 (m, 2H), 7,15 (m, 2H), 5,70 (dd, 1H), 5,48 (dd, 1H), 4,40 (m, 1H), 4,10 (q, 2H), 4,03 (m, 1H), 3,46 (m, 1H), 2,81 (d, 2H), 2,72 (m, 1H), 2,39 (m, 2H), 2,27 (t, 2H), 2,20 (m, 1H), 1,84-1,22 (m, 13H).

Stupeň C: Etylester 7-{2R-[4-(3-kyanofenyl)-3S-hydroxybut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny. Roztokom etylesteru 7-{2R-[4-(3-bromfenyl)-3S-hydroxybut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (700 mg, 1,50 mmol) v dimetylformamide (2,6 ml) sa 5 minút nechá prebublávať dusík. Do roztoku sa pridá kyanid zinočnatý (108 mg, 0,92 mmol) a tetrakis(trifenylfosfín)palládium(0) (58 mg, 0,05 mmol). Reakčnou zmesou sa 5 minút nechá prebublávať dusík. Reakčná zmes sa 24 hodín zahrieva na 105°C , pridá sa k nej ďalší tetrakis(trifenylfosfín)palládium(0) (58 mg, 0,050 mmol) a v zahrievaní sa pokračuje počas 1,5 hodiny. Reakčná zmes sa naleje do vody (50 ml). Vodný roztok sa premyje dietyléterom (3 x 50 ml). Spojené éterové vrstvy sa vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Strednotlakovou chromatografiou (etylacetát až 5% metanol v etylacetáte až 10% metanol v etylacetáte) sa získa etylester 7-{2R-[4-(3-kyanofenyl)-3S-hydroxybut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-heptánovej kyseliny (323 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,53 (m, 2H), 7,48-7,39 (m, 2H), 5,72 (dd, 1H), 5,51 (dd, 1H), 4,41 (m, 1H), 4,10 (q, 2H), 4,03 (m, 1H), 3,46 (m, 1H), 2,86 (m, 2H), 2,73 (m, 1H), 2,36 (m, 2H), 2,27 (t, 2H), 2,20 (m, 1H), 1,71-1,22 (m, 13H); MS 413,3 ($M+1$).

Stupeň D: Etylester 7-{2S-[4-(3-kyanofenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa roztok etylesteru 7-{2R-[4-(3-kyanofenyl)-3S-hydroxybut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-

-1-yl}heptánovej kyseliny (150 mg, 0,36 mmol) v etanole (13 ml) 3,5 hodiny hydrogenuje za prítomnosti 10% palládia na uhlíku (16 mg) za tlaku 309,15 kPa. Získa sa etylester 7-{2S-[4-(3-kyanofenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-heptánovej kyseliny (150 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,54 (m, 2H), 7,44 (m, 2H), 4,09 (q, 2H), 3,84 (m, 1H), 3,60 (m, 2H), 2,95-2,71 (m, 3H), 2,36 (m, 2H), 2,27 (t, 2H), 2,11 (m, 1H), 1,79 (m, 1H), 1,68-1,20 (m, 16H); MS 415,2 (M+1).

Stupeň E: 7-{2S-[4-(3-Kyanofenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa etylester 7-{2S-[4-(3-kyanofenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-heptánovej kyseliny (150 mg, 0,36 mmol) 24 hodín pri teplote miestnosti hydrolyzuje 5M hydroxidom sodným (3 ml) v etanole (5 ml). Získa sa titulná zlúčenina z príkladu 2H (119 mg), ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,52 (m, 2H), 7,43 (m, 2H), 3,84 (m, 1H), 3,56 (m, 2H), 2,93-2,70 (m, 3H), 2,32 (m, 4H), 2,09 (m, 1H), 1,78 (m, 1H), 1,65-1,21 (m, 13H); MS 387,2 (M+1).

P r í k l a d 2 I

7-(2S-{3R-Hydroxy-4-[3-(2-metoxetyl)-fenyl]-butyl}-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánová kyselina

Stupeň A: Etylestser 7-(2R-{4-[3-(2-metoxetyl)fenyl]-3-oxobut-1-enyl}-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dietylsteru {3-[3-(2-metoxetyl)fenyl]-2-oxopropyl}fosfónovej kyseliny (130 mg, 0,396 mmol) a NaH (60% v oleji, 17 mg, 0,425 mmol) nechá 24 hodín reagovať s etylesterom 7-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny (asi 0,461 mmol). Strednotlakovou chromatografiou (50%

etylacetát v hexánoch až etylacetát) sa získa etylester 7-(2R-{4-[3-(2-metoxetyl)fenyl]-3-oxobut-1-enyl}-5-oxopyrrolidin-1-yl)-heptánovej kyseliny (101 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,23 (m, 1H), 7,11 (m, 1H), 7,02 (m, 2H), 6,62 (dd, 1H), 6,20 (d, 1H), 4,12 (m, 3H), 3,80 (s, 2H), 3,56 (t, 2H), 3,51 (m, 1H), 3,32 (s, 3H), 2,84 (t, 2H), 2,68 (m, 1H), 2,37 (m, 2H), 2,24 (m, 3H), 1,75 (m, 1H), 1,56 (m, 2H), 1,42-1,17 (m, 9H); MS 444,2 (M+1).

Stupeň B: Etylester 7-(2R-{3S-hydroxy-4-[3-(2-metoxetyl)-fenyl]-but-1-enyl}-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny. Do roztoku etylesteru 7-(2R-{4-[3-(2-metoxetyl)fenyl]-3-oxobut-1-enyl}-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny (88 mg, 0,198 mmol) a (R)-2-metyl-CBS-oxazaborolidínu (1M v toluéne, 0,200 ml, 0,200 mmol) v dichlormetáne (10 ml) sa pri -45°C prikvapká katecholbóran (1M v tetrahydrofuráne, 0,60 ml, 0,60 mmol). Reakčná zmes sa 24 hodín mieša pri -45°C a pridá sa k nej vodná kyselina chlorovodíková (1M, 10 ml). Reakčná zmes sa zahreje na teplotu miestnosti a 1,5 hodiny mieša. Organický roztok sa premyje chladným 1M hydroxidom sodným (3 x 15 ml) a potom vodným chloridom sodným (1 x 20 ml). Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (50% etylacetát v hexánoch až 75% etylacetát v hexánoch až etylacetát) sa získa etylester 7-(2R-{3S-hydroxy-4-[3-(2-metoxetyl)-fenyl]-but-1-enyl}-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny (45 mg) vo forme zmesi 3S:3R diastereomérov na funkčnej skupine alkoholu v pomere približne 4 : 1 podľa ^1H NMR. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,22 (m, 1H), 7,09 (m, 1H), 7,04 (m, 2H), 5,72 (dd, 1H), 5,49 (dd, 1H), 4,38 (m, 1H), 4,10 (q, 2H), 4,02 (m, 1H), 3,58 (t, 2H), 3,46 (m, 1H), 3,34 (s, 3H), 2,87-2,68 (m, 5H), 2,41-2,24 (m, 4H), 2,18 (m, 1H), 1,70 (m, 2H), 1,59 (m, 2H), 1,48-1,21 (m, 9H); MS 446,4 (M+1).

Stupeň C: Etylester 7-(2S-{3R-hydroxy-4-[3-(2-metoxetyl)-fenyl]-butyl}-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa roztok etylesteru 7-(2R-{3S-hydroxy-4-[3-(2-metoxetyl)-fenyl]-but-1-enyl}-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny (43 mg, 0,0965 mmol) v etanole (20 ml) 18 hodín hydrogenuje za prítomnosti 10% palládia na uhlíku (20 mg) za tlaku 343,5 kPa. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (50% etylacetát v hexánoch až etylacetát až 10% metanol v dichlormetáne) sa získa etylester 7-(2S-{3R-hydroxy-4-[3-(2-metoxetyl)-fenyl]-butyl}-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny (16 mg). MS 448,3 (M+1).

Stupeň D: 7-(2S-{3R-Hydroxy-4-[3-(2-metoxetyl)fenyl]-butyl}-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa etylester 7-(2S-{3R-hydroxy-4-[3-(2-metoxetyl)fenyl]-butyl}-5-oxo-pyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny (15 mg, 0,034 mmol) 18 hodín pri teplote miestnosti hydrolyzuje 6M hydroxidom sodným (0,20 ml) v etanole (0,50 ml). Získa sa titulná zlúčenina z príkladu 2I (14 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,22 (m, 1H), 7,05 (m, 3H), 3,82 (m, 1H), 3,56 (m, 4H), 3,32 (s, 3H), 2,93-2,82 (m, 3H), 2,76 (m, 1H), 2,62 (m, 1H), 2,42-2,25 (m, 4H), 2,09 (m, 1H), 1,81 (m, 1H), 1,66-1,22 (m, 13H); MS 420,3 (M+1); 418,2 (M-1).

P r í k l a d 2 J

7-{2R-[3-Hydroxy-4-(3-fenoxifenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-heptánová kyselina

Stupeň A: Etylester 7-{2-oxo-5R-[3-oxo-4-(3-fenoxifenyl)but-1-enyl]pyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny. Podobným

spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylésteru [2-oxo-3-(3-fenoxyfenyl)propyl]fosfónovej kyseliny (633 mg, 1,98 mmol) a NaH (60% v oleji, 70 mg, 1,74 mmol) nechá 24 hodín reagovať s etylesterom 7-(2R-formyl-5-oxo-pyrrolidín-1-yl)heptánovej kyseliny (asi 1,58 mmol). Strednotlakovou chromatografiou (etylacetát) sa získa etylester 7-{2-oxo-5R-[3-oxo-4-(3-fenoxyfenyl)but-1-enyl]pyrrolidín-1-yl}heptánovej kyseliny (215 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,28 (m, 3H), 7,08 (m, 1H), 6,97 (m, 2H), 6,89 (m, 2H), 6,83 (m, 1H), 6,62 (dd, 1H), 6,19 (d, 1H), 4,13 (m, 1H), 4,08 (q, 2H), 3,79 (s, 2H), 3,51 (m, 1H), 2,68 (m, 1H), 2,35 (m, 2H), 2,24 (m, 3H), 2,24 (m, 3H), 1,75 (m, 1H), 1,54 (m, 2H), 1,43-1,20 (m, 9H).

Stupeň B: Etylester 7-{2R-[3-hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidín-1-yl}heptánovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa etylester 7-{2-oxo-5R-[3-oxo-4-(3-fenoxyfenyl)but-1-enyl]pyrrolidín-1-yl}heptánovej kyseliny (215 mg, 0,451 mmol) nechá 4 hodiny pri 0°C reagovať s tetrahydroboritanom sodným (17 mg, 0,45 mmol) v etanole (3 ml). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (etylacetát) sa získa etylester 7-{2R-[3-hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidín-1-yl}-heptánovej kyseliny (167 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,33 (m, 2H), 7,25 (m, 1H), 7,10 (m, 1H), 6,99 (m, 2H), 6,93 (m, 1H), 6,86 (m, 2H), 5,72 (m, 1H), 5,45 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 4,10 (q, 2H), 3,47 (m, 1H), 2,82 (m, 3H), 2,35 (m, 2H), 2,26 (t, 2H), 2,15 (m, 1H), 1,70-1,21 (m, 13H).

Stupeň C: 7-{2R-[3-Hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidín-1-yl}heptánová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa etylester 7-{2R-[3-hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidín-1-

-yl}heptánovej kyseliny (29 mg, 0,060 mmol) 24 hodín pri teplote miestnosti hydrolyzuje 2M hydroxidom sodným v etanole (4,0 ml) za vzniku titulnej zlúčeniny z príkladu 2J (20 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,33-7,21 (m, 3H), 7,08 (m, 1H), 6,98-6,84 (m, 5H), 5,70 (m, 1H), 5,44 (m, 1H), 4,36 (m, 1H), 4,00 (m, 1H), 3,44 (m, 1H), 2,85-2,51 (m, 3H), 2,32 (m, 4H), 2,14 (m, 1H), 1,68-1,18 (m, 10H).

P r í k l a d 2 K

7-{2S-[3-Hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánová kyselina

Stupeň A: Etylster 7-{2S-[3-hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa zmes etylesteru 7-{2R-[3-hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (139 mg, 0,290 mmol), metanolu (30 ml) a 10% palládia na uhlíku (14 mg) v Parrovpm trepacom zariadení 18 hodín hydrogenuje za tlaku 343,5 kPa. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát) sa získa etylester 7-{2S-[3-hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (86 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,35-7,24 (m, 3H), 7,10 (m, 1H), 6,99 (m, 2H), 6,93 (m, 1H), 6,87 (m, 2H), 4,09 (q, 2H), 3,80 (m, 1H), 3,58 (m, 2H), 2,82 (m, 2H), 2,64 (m, 1H), 2,42-2,24 (m, 4H), 2,10 (m, 1H), 1,77 (m, 1H), 1,66-1,21 (m, 16H).

Stupeň B: 7-{2S-[3-Hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}heptánová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa etylester 7-{2S-[3-hydroxy-4-(3-fenoxyfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánovej kyseliny (86 mg, 1,79 mmol) 18 hodín hydrolyzuje 2M

hydroxidom sodným v metanole (4 ml) za vzniku titulnej zlúčeniny z príkladu 2K (62 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,33-7,23 (m, 3H), 7,09 (m, 1H), 6,98 (m, 2H), 6,91 (m, 1H), 6,86 (m, 2H), 3,80 (m, 1H), 3,56 (m, 2H), 2,88 (m, 1H), 2,77 (m, 1H), 2,64 (m, 1H), 2,38-2,28 (m, 4H), 2,09 (m, 1H), 1,77 (m, 1H), 1,64-1,21 (m, 13H).

P r í k l a d 3 A

5{-3-[2S-(3-Hydroxy-4-tiofén-2-ylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylová kyselina

Stupeň A: Metylester 5-{3-[2-oxo-5R-(3-oxo-4-tiofén-2-yl-but-1-enyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylésteru (2-oxo-3-tio-fen-2-yl-propyl)fosfónovej kyseliny (101 mg, 0,407 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 16 mg, 0,41 mmol) nechá 17 hodín reagovať s metylesterom 5-[3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]-tiofén-2-karboxylovej kyseliny (pripraveným z metylesteru 5-[3-(2R-hydroxymetyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]tiofén-2-karboxylovej kyseliny podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni A) (asi 0,34 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa metylester 5-{3-[2-oxo-5R-(3-oxo-4-tiofén-2-yl-but-1-enyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (74 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,60 (d, 1H), 7,21 (m, 1H), 6,96 (m, 1H), 6,88 (m, 1H), 6,78 (d, 1H), 6,65 (dd, 1H), 6,23 (d, 1H), 4,14 (m, 1H), 4,01 (s, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,58 (m, 1H), 2,88-2,77 (m, 3H), 2,46-2,17 (m, 3H), 1,82 (m, 3H); MS 418,0 (M+1), 416,0 (M-1).

Stupeň B: Metylester 5-{3-[2-oxo-5S-(3-oxo-4-tiofén-2-yl-butyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa metylester 5-{3-[2-oxo-5R-(3-oxo-4-tiofén-2-yl-but-1-enyl)-pyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (71 mg, 0,17 mmol) 2 hodiny hydrogenuje v etanole (20 ml) za prítomnosti 10% palládia na uhľiku (50 mg) za tlaku 343,5 kPa. Do reakčnej zmesi sa pridá ďalší katalyzátor (50 mg) a v hydrogenácii zmesi sa pokračuje ďalšiu 1 hodinu. Získa sa metylester 5-{3-[2-oxo-5S-(3-oxo-4-tiofén-2-ylbutyl)pyrrolidin-1-yl]-propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (63 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,61 (d, 1H), 7,22 (m, 1H), 6,97 (m, 1H), 6,88 (m, 1H), 6,80 (d, 1H), 3,88 (s, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,65 (m, 1H), 3,52 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 2,81 (t, 2H), 2,48 (m, 1H), 2,30 (m, 2H), 2,07-1,80 (m, 4H), 1,55 (m, 3H); MS 419,9 (M+1), 418,0 (M-1).

Stupeň C: Metylester 5-{3-[2S-(3-hydroxy-4-tiofén-2-yl-butyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa metylester 5-{3-[2-oxo-5S-(3-oxo-4-tiofén-2-ylbutyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (60 mg, 0,143 mmol) počas 2 hodín redukuje tetrahydroboritanom sodným (5 mg, 0,132 mmol). Po prečistení preparatívnou chromatografiou na tenkej vrstve (etylacetát) sa získa metylester 5-{3-[2S-(3-hydroxy-4-tiofén-2-ylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (10 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,61 (d, 1H), 7,18 (d, 1H), 6,96 (m, 1H), 6,85 (d, 1H), 6,81 (d, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,80 (m, 1H), 3,61 (m, 2H), 3,00 (m, 2H), 2,89 (m, 1H), 2,83 (t, 2H), 2,34 (m, 2H), 2,10 (m, 1H), 1,98-1,23 (m, 8H); MS 422,2 (M+1).

Stupeň D: 5-{3-[2S-(3-Hydroxy-4-tiofén-2-ylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylová kyselina. Podob-

ným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa metylester 5-{3-[2S-(3-hydroxy-4-tiofén-2-yl)butyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (10 mg, 0,024 mmol) počas 29 hodín hydrolyzuje hydroxidom sodným (1M, 0,03 ml) v metanole (5 ml) za vzniku titulnej zlúčeniny z príkladu 3A (10 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,68 (d, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,96 (m, 1H), 6,85 (m, 2H), 3,80 (m, 1H), 3,63 (m, 2H), 3,01 (m, 2H), 2,91 (m, 1H), 2,85 (t, 2H), 2,36 (m, 2H), 2,11 (m, 1H), 2,00-1,18 (m, 8H).

P r í k l a d 3 B

5-(3-{2S-[4-(4-Chlorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina

Stupeň A: Metylester 5-(3-{2R-[4-(4-chlorfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylesteru [3-(4-chlorfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny (113 mg, 0,407 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 16 mg, 0,41 mmol) nechá 17 hodín reagovať s metylesterom 5-[3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]tiofén-2-karboxylovej kyseliny (asi 0,34 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa metylester 5-(3-{2R-[4-(4-chlorfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (94 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,61 (d, 1H), 7,29 (m, 2H), 7,10 (d, 2H), 6,78 (d, 1H), 6,62 (dd, 1H), 6,18 (d, 1H), 4,13 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,79 (s, 2H), 3,56 (m, 1H), 2,87-2,77 (m, 3H), 2,47-2,16 (m, 3H), 1,80 (m, 3H).

Stupeň B: Metylester 5-(3-{2S-[4-(4-chlorfenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa metylester 5-(3-{2R-[4-(4-chlorfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (91 mg, 0,204 mmol) 2 hodiny hydrogenuje v etanole (20 ml) za prítomnosti 10% palládia na uhľiku (50 mg) za tlaku 343,5 kPa. Získa sa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-chlorfenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (84 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,61 (d, 1H), 7,30 (d, 2H), 7,11 (d, 2H), 6,80 (d, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,66 (s, 2H), 3,64 (m, 1H), 3,51 (m, 1H), 2,94 (m, 1H), 2,81 (t, 2H), 2,42 (m, 2H), 2,29 (m, 2H), 2,04-1,79 (m, 4H), 1,56 (m, 2H); MS 448,0 (M+1), 446,0 (M-1).

Stupeň C: Metylester 5-(3-{2S-[4-(4-chlorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-chlorfenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (81 mg, 0,181 mmol) počas 2 hodín redukuje tetrahydroboritanom sodným (7 mg, 0,181 mmol). Po prečistení preparatívnou chromatografiou na tenkej vrstve (etylacetát, 2x) sa získa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-chlorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (54 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,61 (d, 1H), 7,28 (d, 2H), 7,12 (d, 2H), 6,81 (d, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,77 (m, 1H), 3,60 (m, 2H), 2,99 (m, 1H), 2,83 (t, 2H), 2,77 (m, 1H), 2,62 (m, 1H), 2,34 (m, 2H), 2,09 (m, 1H), 1,97-1,30 (m, 8H); MS 450,0 (M+1).

Stupeň D: 5-(3-{2S-[4-(4-Chlorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa

metylester 5-(3-{2S-[4-(4-chlorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (52 mg, 0,116 mmol) počas 29 hodín pri teplote spätného toku hydrolyzuje hydroxidom sodným (1M, 0,14 ml) v metanole (5 ml). Získa sa 5-(3-{2S-[4-(4-chlorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina (16 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,67 (d, 1H), 7,28 (d, 2H), 7,12 (d, 2H), 6,84 (d, 1H), 3,78 (m, 1H), 3,62 (m, 1H), 3,01 (m, 1H), 2,85 (t, 2H), 2,77 (m, 1H), 2,63 (m, 1H), 2,36 (m, 2H), 2,10 (m, 1H), 1,90 (m, 3H), 1,75 (m, 1H), 1,69-1,24 (m, 4H); MS 434,0 (M-1).

P r í k l a d 3 C

5-(3-{2S-[3-Hydroxy-4-(2-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina

Stupeň A: Metylester 5-(3-{2-oxo-5R-[3-oxo-4-(2-trifluormetylfenyl)but-1-enyl]pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylesteru [2-oxo-3-(2-trifluormetylfenyl)propyl]fosfónovej kyseliny (74 mg, 0,239 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 10 mg, 0,239 mmol) nechá počas 17 hodín reagovať s metylesterom 5-[3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]tiofén-2-karboxylovej kyseliny (asi 0,239 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa metylester 5-(3-{2-oxo-5R-[3-oxo-4-(2-trifluormetylfenyl)-but-1-enyl]pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (32 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,66 (d, 1H), 7,60 (m, 1H), 7,51 (m, 1H), 7,39 (m, 1H), 7,28 (m, 1H), 6,79 (m, 1H), 6,64 (dd, 1H), 6,22 (d, 1H), 4,16 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,78 (s, 2H), 3,60 (m, 1H), 2,93-2,79 (m, 3H), 2,48-2,20 (m, 3H), 1,83 (m, 3H); MS 479,9 (M+1). 478,0 (M-1).

Stupeň B: Metylester 5-(3-{2-oxo-5S-[3-oxo-4-(2-trifluormetylfenyl)-butyl]pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa metylester 5-(3-{2-oxo-5R-[3-oxo-4-(2-trifluormetylfenyl)but-1-enyl]pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (29 mg, 0,060 mmol) 2 hodiny hydrogenuje v etanole (20 ml) za prítomnosti 10% palládia na uhliku (40 mg) za tlaku 343,5 kPa. Získa sa metylester 5-(3-{2-oxo-5S-[3-oxo-4-(2-trifluormetylfenyl)butyl]pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (29 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,66 (d, 1H), 7,59 (m, 1H), 7,52 (m, 1H), 7,39 (m, 1H), 7,27 (m, 1H), 6,80 (d, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,78 (s, 2H), 3,64 (m, 1H), 3,55 (m, 1H), 2,97 (m, 1H), 2,81 (t, 2H), 2,48 (m, 1H), 2,33 (m, 2H), 2,05 (m, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,56 (m, 3H); MS 482,0 (M+1), 480,0 (M-1).

Stupeň C: Metylester 5-(3-{2S-[3-hydroxy-4-(2-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa metylester 5-(3-{2-oxo-5S-[3-oxo-4-(2-trifluormetylfenyl)butyl]pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (26 mg, 0,054 mmol) počas 2 hodín redukuje tetrahydroboritanom sodným (2 mg, 0,054 mmol). Po prečistení preparatívnou chromatografiou na tenkej vrstve (etylacetát) sa získa metylester 5-(3-{2S-[3-hydroxy-4-(2-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (10 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,65 (d, 1H), 7,59 (m, 1H), 7,49 (m, 1H), 7,36 (m, 2H), 6,81 (d, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,81 (m, 1H), 3,62 (m, 2H), 3,02 (m, 2H), 2,83 (t, 2H), 2,78 (m, 1H), 2,34 (m, 2H), 2,12 (m, 1H), 2,01-1,35 (m, 8H); MS 484,0 (M+1).

Stupeň D: 5-(3-{2S-[3-Hydroxy-4-(2-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa metylester 5-(3-{2S-[3-hydroxy-4-(2-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (10 mg, 0,0207 mmol) počas 29 hodín pri teplote spätného toku hydrolyzuje hydroxidom sodným (1M, 0,07 ml) v metanole (5 ml). Získa sa 5-(3-{2S-[3-hydroxy-4-(2-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina (13 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,66 (m, 1H), 7,50 (m, 1H), 7,37 (m, 3H), 6,84 (d, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,64 (m, 2H), 3,04 (m, 2H), 2,85 (t, 2H), 2,78 (m, 1H), 2,37 (m, 2H), 2,12 (m, 1H), 2,02-1,24 (m, 8H); MS 470,1 (M+1), 468,0 (M-1).

P r í k l a d 3 D

5-(3-{2S-[4-(4-Fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina

Stupeň A: Metylester 5-(3-{2R-[4-(4-fluorfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetyvesteru [3-(4-fluorfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny (106 mg, 0,407 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 16 mg, 0,407 mmol) nechá 17 hodín reagovať s metylesterom 5-[3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]tiofén-2-karboxylovej kyseliny (asi 0,407 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etyl-acetát) sa získa metylester 5-(3-{2R-[4-(4-fluorfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (77 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,60 (d, 1H), 7,16 (m, 2H), 7,00 (m, 2H), 6,77 (d, 1H), 6,62 (dd, 1H), 6,19 (d, 1H),

4,13 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,79 (s, 2H), 3,57 (m, 1H), 2,87-2,77 (m, 3H), 2,37 (m, 2H), 2,20 (m, 1H), 1,80 (m, 3H); MS 430,0 (M+1), 428,1 (M-1).

Stupeň B: Metylester 5-(3-{2S-[4-(4-fluorfenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa metylester 5-(3-{2R-[4-(4-fluorfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (74 mg, 0,172 mmol) 2 hodiny hydrogenuje v etanole (20 ml) za prítomnosti 10% palládia na uhľiku (50 mg) za tlaku 343,5 kPa. Získa sa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-fluorfenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (72 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,61 (d, 1H), 7,14 (m, 2H), 7,01 (m, 2H), 6,80 (d, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,66 (s, 2H), 3,64 (m, 1H), 3,51 (m, 1H), 2,94 (m, 1H), 2,81 (t, 2H), 2,43 (m, 2H), 2,30 (m, 2H), 2,05-1,79 (m, 4H), 1,56 (m, 2H); MS 432,0 (M+1), 430,1 (M-1).

Stupeň C: Metylester 5-(3-{2S-[4-(4-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-fluorfenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (69 mg, 0,160 mmol) počas 2 hodín redukuje tetrahydroboritanom sodným (6 mg, 0,160 mmol). Po prečistení preparatívnou chromatografiou na tenkej vrstve (etylacetát) sa získa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (37 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,61 (d, 1H), 7,15 (m, 2H), 7,00 (m, 2H), 6,81 (d, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,75 (m, 1H), 3,60 (m, 2H), 2,99 (m, 1H), 2,83 (t, 2H), 2,77 (m, 1H), 2,34 (m, 2H), 2,10 (m,

1H), 2,00-1,80 (m, 4H), 1,75 (m, 1H), 1,68-1,34 (m, 4H); MS 434,3 (M+1).

Stupeň D: 5-(3-{2S-[4-(4-Fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa 5-(3-{2S-[4-(4-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (35 mg, 0,0807 mmol) počas 29 hodín pri teplote spätného toku hydrolyzuje hydroxidom sodným (1M, 0,10 ml) v metanole (5 ml). Získa sa 5-(3-{2S-[4-(4-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina (36 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,67 (d, 1H), 7,15 (m, 2H), 7,00 (m, 2H), 6,84 (d, 1H), 3,77 (m, 1H), 3,62 (m, 2H), 3,01 (m, 1H), 2,85 (t, 2H), 2,78 (m, 1H), 2,62 (m, 1H), 2,36 (m, 2H), 2,10 (m, 1H), 2,00-1,72 (m, 4H), 1,69-1,34 (m, 4H); MS 420,1 (M+1), 417,7 (M-1).

P r í k l a d 3 E

5-(3-{2S-[4-(4-Fluorfenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina

Stupeň A: Metylester 5-(3-{2R-[4-(4-fluorfenyl)-3S-hydroxybut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Do roztoku metylesteru 5-(3-{2R-[4-(4-fluorfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (20 mg, 0,047 mmol) a (R)-2-metyl-CBS-oxazaborolidínu (1M v toluéne, 0,047 ml, 0,047 mmol) v bezvodom toluéne (3,0 ml) sa pri -45°C prikvapká katecholbóran (1M v tetrahydrofuráne, 0,14 ml, 0,14 mmol). Reakčná zmes sa 17 hodín mieša pri -45°C a pridá sa k nej metanol. Výsledná zmes sa zahreje na teplotu miestnosti a skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa rozpustí v trichlormetáne. Organický roztok

sa premyje 1M hydroxidom sodným (4 x 5 ml), 1M kyselinou chlorovodíkovou (1 x 5 ml) a vodou (1 x 5 ml). Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení preparatívnou chromatografiou na tenkej vrstve (etylacetát) sa získa metylester 5-(3-{2R-[4-(4-fluorfenyl)-3S-hydroxybut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny ako zmes 3S:3R diastereomérov na alcoholickej funkčnej skupine v pomere približne 39:1 podľa HPLC. MS 432,1 (M+1).

Stupeň B: Metylester 5-(3-{2S-[4-(4-fluorfenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa metylester 5-(3-{2R-[4-(4-fluorfenyl)-3S-hydroxybut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (15 mg, 0,035 mmol) počas 2 hodín hydrogenuje v etanole (10 ml) za prítomnosti 10% palládia na uhľiku (5 mg) za tlaku 343,5 kPa. Získa sa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-fluorfenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (11 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,60 (d, 1H), 7,14 (m, 2H), 7,00 (m, 2H), 6,81 (d, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,77 (m, 1H), 3,60 (m, 2H), 3,00 (m, 1H), 2,83 (t, 2H), 2,76 (d, 1H), 2,63 (dd, 1H), 2,34 (m, 2H), 2,08 (m, 1H), 1,98-1,42 (m, 8H); MS 434,1 (M+1).

Stupeň C: 5-(3-{2S-[4-(4-fluorfenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-fluorfenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (11 mg, 0,0254 mmol) 3 hodiny pri teplote spätného toku hydrolyzuje hydroxidom sodným (1M, 0,25 ml) v metanole (4 ml). Získa sa 5-(3-{2S-[4-(4-fluorfenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-

-yl}propyl}tiofén-2-karboxylová kyselina (9 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,67 (d, 1H), 7,14 (m, 2H), 6,99 (m, 2H), 6,83 (d, 1H), 3,78 (m, 1H), 3,62 (m, 2H), 3,02 (m, 1H), 2,85 (t, 2H), 2,76 (dd, 1H), 2,64 (dd, 1H), 2,37 (m, 2H), 2,09 (m, 1H), 2,00-1,42 (m, 8H); MS 420,1 (M+1), 418,0 (M-1).

P r í k l a d 3 F

5-{3-[2S-(3-Hydroxy-4-naftalen-2-yl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl}tiofén-2-karboxylová kyselina

Stupeň A: *tert*-Butylester 5-{3-[2R-(4-naftalen-2-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylesteru (3-naftalen-2-yl-2-oxopropyl)fosfónovej kyseliny (208 mg, 0,71 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 26 mg, 0,65 mmol) nechá 18 hodín reagovať s *tert*-butylesterom 5-[3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (asi 0,589 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa *tert*-butylester 5-{3-[2R-(4-naftalen-2-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (181 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,79 (m, 3H), 7,65 (s, 1H), 7,47 (m, 3H), 7,29 (m, 1H), 6,63 (m, 2H), 6,22 (d, 1H), 4,08 (m, 1H), 3,98 (s, 2H), 3,49 (m, 1H), 2,73 (m, 1H), 2,63 (m, 2H), 2,36 (m, 2H), 2,19 (m, 1H), 1,72 (m, 3H), 1,54 (s, 9H); MS 504,1 (M+1), 502,0 (M-1).

Stupeň B: *tert*-Butylestser 5-{3-[2S-(4-naftalen-2-yl-3-oxobutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa *tert*-butylester 5-{3-[2R-(4-naftalen-2-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny.

liny (178 mg, 0,353 mmol) 3 hodiny hydrogenuje v etanole (40 ml) za prítomnosti 10% palládia na uhľiku (75 mg) za tlaku 343,5 kPa. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa terc-butylester 5-{3-[2S-(4-naftalen-2-yl-3-oxobutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]-propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (144 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,80 (m, 3H), 7,66 (s, 1H), 7,48 (m, 3H), 7,30 (m, 1H), 6,74 (d, 1H), 3,85 (s, 2H), 3,59 (m, 1H), 3,48 (m, 1H), 2,89 (m, 1H), 2,73 (t, 2H), 2,47 (m, 2H), 2,26 (m, 2H), 2,04-1,74 (m, 4H), 1,53 (s, 9H), 1,50 (m, 2H); MS 506,1 (M+1), 503,8 (M-1).

Stupeň C: terc-Butylester 5-{3-[2S-(3-hydroxy-4-naftalen-2-yl-butyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa terc-butylester 5-{3-[2S-(4-naftalen-2-yl-3-oxobutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (142 mg, 0,281 mmol) počas 2 hodín redukuje tetrahydroboritanom sodným (11 mg, 0,281 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa terc-butylester 5-{3-[2S-(3-hydroxy-4-naftalen-2-yl-butyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (125 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,79 (m, 3H), 7,65 (s, 1H), 7,52 (d, 1H), 7,46 (m, 2H), 7,32 (d, 1H), 6,76 (d, 1H), 3,90 (m, 1H), 3,62 (m, 2H), 2,98 (m, 2H), 2,81 (m, 3H), 2,34 (m, 2H), 2,10 (m, 1H), 2,04-1,75 (m, 2H), 1,70-1,36 (m, 6H), 1,52 (s, 9H); MS 508,0 (M+1).

Stupeň D: 5-{3-[2S-(3-Hydroxy-4-naftalen-2-yl)-butyl]-5-oxopyrrolidin-1-propyl}tiofén-2-karboxylová kyselina. Do roztoku terc-butylesteru 5-{3-[2S-(3-hydroxy-4-naftalen-2-yl-butyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (123 mg, 0,242 mmol) v dichlormetáne (20 ml) sa pri 0°C pridá tri-fluoroctová kyselina (0,19 ml, 0,247 mmol). Reakčná zmes sa 23

hodín mieša pri teplote miestnosti a skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa prečistí preparatívnou chromatografiou na tenkej vrstve (etylacetát). Získa sa titulná zlúčenina z príkladu 3F (47 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,78 (m, 3H), 7,63 (m, 2H), 7,44 (m, 2H), 7,31 (m, 1H), 6,78 (m, 1H), 3,89 (m, 1H), 3,57 (m, 2H), 2,94 (m, 2H), 2,79 (m, 3H), 2,32 (m, 2H), 2,10-1,17 (m, 9H); MS 452,3 (M+1), 450,2 (M-1).

P r í k l a d 3 G

5-{3-[2S-(4-Bifenyl-3-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]-propyl}tiofén-2-karboxylová kyselina

Stupeň A: Metylester 5-{3-[2R-(4-bifenyl-3-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylésteru (3-bifenyl-3-yl-2-oxopropyl)fosfónovej kyseliny (3,217 g, 10,09 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 404 mg, 10,09 mmol) nechá 17 hodín reagovať s metylesterom 5-[3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]-tiofén-2-karboxylovej kyseliny (asi 10,09 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (rozpušťačový gradient 9:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa metylester 5-{3-[2R-(4-bifenyl-3-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (4,0 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,56 (m, 3H), 7,49 (m, 1H), 7,42 (m, 4H), 7,34 (m, 1H), 7,16 (d, 1H), 6,73 (d, 1H), 6,62 (dd, 1H), 6,22 (d, 1H), 4,11 (m, 1H), 3,88 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,54 (m, 1H), 2,79 (m, 1H), 2,73 (t, 2H), 2,36 (m, 2H), 2,20 (m, 1H), 1,76 (m, 3H); MS 488,1 (M+1), 486,0 (M-1).

Stupeň B: Metylester 5-{3-[2S-(4-bifenyl-3-yl-3-oxobutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny.

Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa zmes metylesteru 5-{3-[2R-(4-bifenyl-3-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (3,535 g, 7,25 mmol), 10% palládia na uhlíku (750 mg) a etanolu (250 ml) 2 hodiny hydrogenuje za tlaku 343,5 kPa. Získa sa metylester 5-{3-[2S-(4-bifenyl-3-yl-3-oxobutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny, ktorý sa bez ďalšieho prečistenia použije v stupni C. MS 490,1 (M+1).

Stupeň C: Etylester 5-{3-[2S-(4-bifenyl-3-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa metylester 5-{3-[2S-(4-bifenyl-3-yl-3-oxobutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (7,25 mmol) 1 hodinu pri teplote miestnosti nechá reagovať s tetrahydroboritanom sodným (274 mg, 7,25 mmol) v etanole. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etyl-acetát) sa získa etylester 5-{3-[2S-(4-bifenyl-3-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (1,68 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,58 (m, 3H), 7,40 (m, 6H), 7,17 (d, 1H), 6,79 (d, 1H), 4,27 (q, 2H), 3,85 (m, 1H), 3,62 (m, 2H), 3,00 (m, 1H), 2,86 (m, 3H), 2,71 (m, 1H), 2,34 (m, 2H), 2,10 (m, 1H), 2,01-1,75 (m, 4H), 1,70-1,35 (m, 4H), 1,31 (t, 3H); MS 506,1 (M+1).

Stupeň D: 5-{3-[2S-(4-Bifenyl-3-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa etylester 5-{3-[2S-(4-bifenyl-3-yl-3-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (1,882 g, 3,72 mmol) 3 hodiny pri teplote spätného toku hydrolyzuje hydroxidom sodným (1 M, 5,6 ml) v metanole (100 ml) za vzniku

titulnej zlúčeniny z príkladu 3G (1,741 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,66 (d, 1H), 7,56 (d, 2H), 7,40 (m, 6H), 7,17 (d, 1H), 6,82 (d, 1H), 3,85 (m, 1H), 3,63 (m, 2H), 3,02 (m, 1H), 2,86 (m, 3H), 2,72 (m, 1H), 2,36 (m, 2H), 2,11 (m, 1H), 2,01-1,75 (m, 4H), 1,71-1,35 (m, 4H); MS 478,1 (M+1), 476,0 (M-1).

P r í k l a d 3 H

5-(3{-2S-[4-(3-Fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina

Stupeň A: Metylester 5-(3-{2R-[4-(3-fluorfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylésteru [3-(3-fluorfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny (3,236 g, 12,4 mmol) a NaH (60% v oleji, 458 mg, 11,4 mmol) nechá 18 hodín reagovať s metylesterom 5-[3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]tiofén-2-karboxylovej kyseliny (asi 10,4 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou za použitia 20% etylacetátu v hexánoch až 80% etylacetátu v hexánoch a po druhej elúcii stĺpca 20% acetónom v toluéne až 30% acetónom v toluéne sa získa metylester 5-(3-{2R-[4-(3-fluorfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (2,95 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,60 (d, 1H), 7,27 (m, 1H), 6,92 (m, 3H), 6,76 (d, 1H), 6,60 (dd, 1H), 6,18 (d, 1), 4,12 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,80 (s, 2H), 3,56 (m, 1H), 2,82 (m, 1H), 2,77 (t, 2H), 2,37 (m, 2H), 2,22 (m, 1H), 1,78 (m, 3H).

Stupeň B: Metylester 5-(3-{2S-[4-(3-fluorfenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa metylester 5-(3-{2R-[4-(3-fluorfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxo-

pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (2,95 g, 6,87 mmol) 2 hodiny hydrogenuje v metanole (60 ml) za prítomnosti 10% palládia na uhlíku (500 mg) za tlaku 343,5 kPa. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (50% etylacetát v hexánoch až etylacetát) sa získa metylester 5-(3-{2S-[4-(3-fluorfenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (2,60 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,60 (d, 1H), 7,28 (m, 1H), 6,92 (m, 3H), 6,79 (d, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,67 (s, 2H), 3,62 (m, 1H), 3,50 (m, 1H), 2,93 (m, 1H), 2,80 (t, 2H), 2,43 (m, 2H), 2,27 (m, 2H), 2,04-1,76 (m, 4H), 1,50 (m, 2H); MS 432,2 (M+1), 430,1 (M-1).

Stupeň C: Metylester 5-(3-{2S-[4-(3-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa metylester 5-(3-{2S-[4-(3-fluorfenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (2,60 g, 6,03 mmol) nechá 3 hodiny pri 0°C reagovať s tetrahydroboritanom sodným (114 mg, 3,01 mmol) v metanole (30 ml). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (etylacetát až 2% metanol v dichlormetáne) sa získa metylester 5-(3-{2S-[4-(3-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (2,43 g). MS 434,0 (M+1).

Stupeň D: 5-(3-{2S-[4-(3-Fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa metylester 5-(3-{2S-[4-(3-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (2,43 g) 18 hodín hydrolyzuje 2M hydroxidom sodným v metanole (30 ml). Získa sa 5-(3-{2S-[4-(3-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina (2,06 g).

Stupeň E: Sodná soľ 5-(3-{2S-[4-(3-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2D, stupni E, sa 5-(3-{2S-[4-(3-fluorfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina (2,058 g, 4,905 mmol) nechá reagovať s hydrogénuhličitanom sodným (412 mg, 4,906 mmol). Získa sa sodná soľ titulnej zlúčeniny z príkladu 3H. ^1H NMR (CD_3OD) δ 7,35 (d, 1H), 7,26 (m, 1H), 6,96 (m, 3H), 6,75 (d, 1H), 3,76 (m, 1H), 3,67 (m, 1H), 3,57 (m, 1H), 3,02 (m, 1H), 2,76 (m, 3H), 2,30 (m, 2H), 2,10 (m, 1H), 1,98-1,28 (m, 9H).

P r í k l a d 3 I

5-(3-{2S-[4-(4-Etylphenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina

Stupeň A: Metylester 5-(3-{2R-[4-(4-etylphenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dietylésteru [3-(4-etylphenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny (274 mg, 0,915 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 41 mg, 1,01 mmol) nechá 18 hodín reagovať s metylesterom 5-[3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]-tiofén-2-karboxylovej kyseliny (asi 1,01 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etyl-acetát) sa získa metylester 5-(3-{2R-[4-(4-etylphenyl)-3-oxo-but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (227 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,59 (d, 1H), 7,13 (d, 2H), 7,07 (d, 2H), 6,75 (d, 1H), 6,58 (dd, 1H), 6,18 (d, 1H), 4,10 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,77 (s, 2H), 3,53 (m, 1H), 2,78 (m, 3H), 2,59 (q, 2H), 2,36 (m, 2H), 2,19 (m, 1H), 1,76 (m, 3H), 1,19 (t, 3H); MS 440,2 (M+1).

Stupeň B: Metylester 5-(3-{2S-[4-(4-etylphenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa metylester 5-(3-{2R-[4-(4-etylphenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (227 mg, 0,517 mmol) 1,5 hodiny hydrogenuje v metanole (30 ml) za prítomnosti 10% palládia na uhlíku za tlaku 343,5 kPa. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-etylphenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (119 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,62 (d, 1H), 7,16 (d, 2H), 7,10 (d, 2H), 6,81 (d, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,65 (s, 2H), 3,63 (m, 1H), 3,49 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 2,80 (t, 2H), 2,62 (q, 2H), 2,43 (m, 2H), 2,31 (m, 2H), 2,06-1,79 (m, 4H), 1,48 (m, 2H), 1,21 (t, 3H); MS 442,2 (M+1).

Stupeň C: Metylester 5-(3-{2S-[4-(4-etylphenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-etylphenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (109 mg, 0,247 mmol) počas 3 hodín pri 0°C až teplote miestnosti redukuje tetrahydroboritanom sodným (5 mg, 0,132 mmol) v metanole (7 ml). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-etylphenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (77 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,61 (d, 1H), 7,16 (d, 2H), 7,10 (d, 2H), 6,81 (d, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,77 (m, 1H), 3,62 (m, 2H), 3,01 (m, 1H), 2,83 (t, 2H), 2,77 (m, 1H), 2,60 (m, 3H), 2,35 (m, 2H), 2,09 (m, 1H), 1,99-1,34 (m, 8H), 1,22 (t, 3H); MS 444,3 (M+1).

Stupeň D: 5-(3-{2S-[4-(4-Etylphenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-etylphenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (76 mg) počas 18 hodín hydrolyzuje 2M hydroxidom sodným v metanole (7 ml) za vzniku titulnej zlúčeniny z príkladu 3I (58 mg). ¹H NMR (CD₃ OD) δ 7,57 (m, 1H), 7,08 (d, 4H), 6,88 (d, 1H), 3,72 (m, 1H), 3,63 (m, 1H), 3,52 (m, 1H), 2,99 (m, 1H), 2,81 (t, 2H), 2,68 (m, 2H), 2,56 (q, 2H), 2,27 (m, 2H), 2,06 (m, 1H), 1,95-1,25 (m, 6H), 1,16 (t, 3H); MS 430,3 (M+1), 428,5 (M-1).

P r í k l a d 3 J

5-(3-{2S-[4-(4-Fluór-3-metylphenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxo-pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina

Stupeň A: Metylester 5-(3-{2R-[4-(4-fluór-3-metylphenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dietylexeru [3-(4-fluór-3-metylphenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny (273 mg, 0,903 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 41 mg, 1,01 mmol) nechá 18 hodín reagovať s metylesterom 5-[3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]tiofén-2-karboxylovej kyseliny (asi 1,01 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (20% etylacetát v hexánoch až etylacetát) sa získa metylester 5-(3-{2R-[4-(4-fluór-3-metylphenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (174 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,59 (d, 1H), 6,97 (d, 1H), 6,93 (d, 2H), 6,76 (d, 1H), 6,60 (dd, 1H), 6,18 (d, 1H), 4,11 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,73 (s, 2H), 3,56 (m, 1H), 2,82 (m, 1H), 2,77 (t, 2H), 2,36 (m, 2H),

2,22 (s, 3H), 2,19 (m, 1H), 1,78 (m, 3H); MS 444,2 (M+1); 442,2 (M-1).

Stupeň B: Metylester 5-(3-{2S-[4-(4-Fluór-3-metylfenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa metylester 5-(3-{2R-[4-(4-fluór-3-metylfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (174 mg, 0,392 mmol) 1,5 hodiny hydrogenuje v metanole (30 ml) za prítomnosti 10% palládia na uhlíku (70 mg) za tlaku 343,5 kPa. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (30% etylacetát v hexánoch až etylacetát) sa získa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-fluór-3-metylfenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (114 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,60 (d, 1H), 6,97 (d, 1H), 6,93 (d, 2H), 6,79 (d, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,63 (m, 1H), 3,60 (s, 2H), 3,50 (m, 1H), 2,93 (m, 1H), 2,79 (t, 2H), 2,42 (m, 2H), 2,33-2,21 (m, 5H), 2,02-1,78 (m, 4H), 1,50 (m, 2H); MS 446,1 (M+1).

Stupeň C: Metylester 5-(3-{2S-[4-(4-fluór-3-metylfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-fluór-3-metylfenyl)-3-oxobutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (114 mg, 0,256 mmol) 2,5 hodiny pri 0°C až teplote miestnosti redukuje tetrahydroboritanom sodným (5 mg, 0,132 mmol) v metanole (10 ml). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-fluór-3-metylfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (80 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,59 (d, 1H), 6,98 (d, 1H), 6,93 (m, 2H), 6,80 (d, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,74 (m, 1H), 3,60 (m, 2H), 2,99 (m, 1H), 2,82 (t, 2H), 2,72 (m, 1H), 2,54

(m, 1H), 2,33 (m, 2H), 2,22 (s, 3H), 2,08 (m, 1H), 1,96-1,32 (m, 8H); MS 448,1 (M+1).

Stupeň D: 5-(3-{2S-[4-(4-Fluór-3-metylfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa metylester 5-(3-{2S-[4-(4-fluór-3-metylfenyl)-3-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (80 mg, 0,179 mmol) 18 hodín hydrolyzuje 2M hydroxidom sodným v metanole (6 ml) za vzniku titulnej zlúčeniny z príkladu 3J (56 mg). ¹H NMR (CD₃ OD) δ 7,58 (d, 1H), 7,08-6,98 (m, 2H), 6,90 (m, 2H), 3,69 (m, 2H), 3,55 (m, 1H), 3,04 (m, 1H), 2,84 (t, 2H), 2,67 (m, 2H), 2,31 (m, 2H), 2,21 (s, 3H), 2,11 (m, 1H), 1,98-1,27 (m, 7H); MS 432,4 (M-1).

P r í k l a d 3 K

5-{3-[2S-(3-Hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylová kyselina

Stupeň A: Metylester 5-{3-[2-oxo-5R-(3-oxo-4-fenyl-but-1-enyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetyvesteru (2-oxo-3-fenylpropyl)fosfónovej kyseliny (543 mg, 2,24 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 94 mg, 2,35 mmol) nechá 18 hodín reagovať s metylesterom 5-{3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (asi 2,36 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (20% etylacetát v hexánoch až 70% etylacetát v hexánoch) sa získa metylestser 5-{3-[2-oxo-5R-(3-oxo-4-fenylbut-1-enyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (315 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,61 (d, 1H), 7,34-7,15 (m, 5H), 6,77 (m, 1H), 6,61 (dd, 1H), 6,19 (d, 1H), 4,12 (m, 1H),

3,85 (s, 3H), 3,82 (s, 2H), 3,54 (m, 1H), 2,81 (m, 3H), 2,37 (m, 2H), 2,20 (m, 1H), 1,78 (m, 3H); MS 411,8 (M+1); 409,7 (M-1).

Stupeň B: Metylester 5-{3-[2-oxo-5S-(3-oxo-4-fenylbutyl)-pyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa metylester 5-{3-[2-oxo-5R-(3-oxo-4-fenyl-but-1-enyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (305 mg, 0,741 mmol) 1,5 hodiny hydrogenuje v metanole (30 ml) za prítomnosti 10% palládia na uhlíku (100 mg) za tlaku 343,5 kPa. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa metylester 5-{3-[2-oxo-5S-(3-oxo-4-fenylbutyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (235 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,62 (d, 1H), 7,35-7,18 (m, 5H), 6,81 (d, 1H), 3,84 (s, 3H), 3,69 (s, 2H), 3,62 (m, 1H), 3,48 (m, 1H), 2,94 (m, 1H), 2,80 (t, 2H), 2,43 (m, 2H), 2,26 (m, 2H), 2,04-1,78 (m, 4H), 1,48 (m, 2H); MS 414,1 (M+1).

Stupeň C: Metylester 5-{3-[2S-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxo-pyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa metylester 5-{3-[2-oxo-5S-(3-oxo-4-fenylbutyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (235 mg, 0,569 mmol) počas 2 hodín pri 0°C až teplote miestnosti redukuje tetrahydroboritanom sodným (11 mg, 0,284 mmol) v metanole (7 ml). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (30% etylacetát v hexánoch až etylacetát) sa získa metylester 5-{3-[2S-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (177 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,70 (d, 1H), 7,32-7,16 (m, 5H), 6,79 (d, 1H), 3,80 (m, 4H), 3,60 (m, 2H), 2,99 (m, 1H), 2,80 (m, 3H), 2,62 (m,

1H), 2,32 (m, 2H), 2,09 (m, 1H), 1,97-1,32 (m, 8H); MS 416,0 (M+1).

Stupeň D: 5-{3-[2S-(3-Hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa metylester 5-{3-[2S-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}-tiofén-2-karboxylovej kyseliny (177 mg, 0,426 mmol) 18 hodín hydrolyzuje 2M hydroxidom sodným v metanole (7 ml) za vzniku titulnej zlúčeniny z príkladu 3K (132 mg). ¹H NMR (CD₃OD) δ 7,57 (m, 1H), 7,26-7,14 (m, 5H), 6,88 (d, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,64 (m, 1H), 3,54 (m, 1H), 3,00 (m, 1H), 2,82 (t, 2H), 2,71 (m, 2H), 2,28 (m, 2H), 2,08 (m, 1H), 1,96-1,26 (m, 7H); MS 402,2 (M+1), 400,4 (M-1).

P r í k l a d 3 L

5-(3-{2S-[4-(3-Chlorfenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina

Stupeň A: Metylester 5-(3-{2R-[4-(3-chlorfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2C, stupni D, sa anión vytvorený z dimetylesteru [3-(3-chlorfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny (3,68 g, 13,3 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 533 mg, 14,5 mmol) nechá 24 hodín reagovať s metylesterom 5-[3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]tiofén-2-karboxylovej kyseliny (asi 12,1 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (15% acetón v toluéne až 20% acetón v toluéne) sa získa metylester 5-(3-{2R-[4-(3-chlorfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)-tiofén-2-karboxylovej kyseliny (2,63 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,59 (d, 1H), 7,23 (m, 2H), 7,16 (s, 1H), 7,04 (m,

1H), 6,76 (d, 1H), 6,60 (dd, 1H), 6,17 (d, 1H), 4,12 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,78 (s, 2H), 3,56 (m, 1H), 2,87-2,75 (m, 3H), 2,45-2,28 (m, 2H), 2,21 (m, 1H), 1,78 (m, 3H).

Stupeň B: Metylester 5-(3-{2R-[4-(3-chlorfenyl)-3S-hydroxybut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Do roztoku metylesteru 5-(3-{2R-[4-(3-chlorfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (2,63 g, 5,91 mmol) a (R)-2-metyl-CBS-oxazaborolidínu (1M v toluéne, 5,9 ml, 5,9 mmol v dichlormetáne (140 ml) sa pri -45°C prikvapká katecholbóran (1M v tetrahydrofuráne, 17,7 ml, 17,7 mmol). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša a pridá sa k nej metanol. Metanolícká zmes sa 18 hodín mieša a za zníženého tlaku sa z nej odstránia prchavé látky. Do zvyšku sa pridá dichlormetán. Organický roztok sa premyje chladným 1M hydroxidom sodným (3x), 1M kyselinou chlorovodíkovou, vodou a vodným chloridom sodným. Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až 80% etylacetát v hexánoch) sa získa metylester 5-(3-{2R-[4--(3-chlorfenyl)-3S-hydroxybut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (870 mg) ako zmes 3S:3R diastereomérov na funkčnej skupine alkoholu v pomere približne 10:1 podľa ^1H NMR. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,61 (d, 1H), 7,21 (m, 3H), 7,07 (m, 1H), 6,80 (d, 1H), 5,68 (dd, 1H), 5,45 (dd, 1H), 4,36 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,51 (m, 1H), 2,84-2,76 (m, 5H), 2,44-2,28 (m, 2H), 2,18 (m, 1H), 1,86-1,56 (m, 4H).

Stupeň C: Metylester 5-(3-{2S-[4-(3-chlorfenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa zmes metylesteru 5-(3-{2R-[4-(3-chlorfenyl)-3S-hydroxy-

but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}-propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (850 mg) a 10% palládia na uhliku (100 mg) v metanole (50 ml) 3 hodiny hydrogenuje v Parrovom trepacom zariadení za tlaku 343,5 kPa. Reakčná zmes sa znovu hydrogenuje počas 6 hodín za použitia 100 mg 10% palládia na uhliku. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etyl-acetát) sa získa metylester 5-(3-{2S-[4-(3-chlorfenyl)-3R--hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylové kyseliny (504 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,61 (d, 1H), 7,23 (m, 3H), 7,08 (m, 1H), 6,82 (d, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,81 (m, 1H), 3,62 (m, 2H), 3,01 (m, 1H), 2,84 (t, 2H), 2,77 (m, 1H), 2,65 (m, 1H), 2,35 (m, 2H), 2,10 (m, 1H), 1,97-1,43 (m, 8H).

Stupeň D: 5-(3-{2S-[4-(3-Chlorfenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa metylester 5-(3-{2S-[4-(3-chlorfenyl)-3R-hydroxybutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (504 mg) počas 4 hodín pri 50°C hydrolyzuje 2M hydroxidom sodným v metanole (20 ml) za vzniku titulnej zlúčeniny z príkladu 3L (338,6 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,68 (d, 1H), 7,22 (m, 3H), 7,08 (m, 1H), 6,84 (d, 1H), 3,80 (m, 1H), 3,64 (m, 2H), 3,01 (m, 1H), 2,82 (m, 4H), 2,64 (m, 1H), 2,38 (m, 2H), 2,12 (m, 1H), 1,92 (m, 3H), 1,66 (m, 1H), 1,57-1,19 (m, 3H). MS 436,1 (M+1), 434,2 (M-1).

P r í k l a d 3 M

5-(3-{2S-[3R-Hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina

Stupeň A: Metylester 5-(3-{2-oxo-5R-[3-oxo-4-(3-trifluormetylfenyl)but-1-enyl]pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylesteru [2-oxo-3-(3-trifluormetylfenyl)propyl]fosfónovej kyseliny (5,026 g, 17,0 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 750 mg, 18,8 mmol) nechá počas 24 hodín reagovať metylesterom 5-[3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]tiofén-2-karboxylovej kyseliny (asi 18,8 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (15% acetón v toluéne až 20% acetón v toluéne) sa získa metylester 5-(3-{2-oxo-5R-[3-oxo-4-(3-trifluormetylfenyl)-but-1-enyl]pyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (4,02 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,61 (d, 1H), 7,54 (d, 1H), 7,45 (m, 2H), 7,37 (d, 1H), 6,79 (d, 1H), 6,66 (dd, 1H), 6,20 (d, 1H), 4,16 (m, 1H), 3,90 (s, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,60 (m, 1H), 2,89-2,78 (m, 3H), 2,48-2,31 (m, 2H), 2,23 (m, 1H), 1,82 (m, 3H).

Stupeň B: Metylester 5-(3-{2R-[3S-hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni C, sa metylester 5-(3-{2-oxo-5R-[3-oxo-4-(3-trifluormetylfenyl)but-1-enyl]pyrrolidin-1-yl}propyl)-tiofén-2-karboxylovej kyseliny (2,63 g, 5,91 mmol) počas 18 hodín pri -45°C redukuje katecholbóranom (1M v tetrahydrofuráne, 18,8 ml, 18,8 mmol) za prítomnosti (R)-2-metyl-CBS-oxazaborolidínu (1M v toluéne, 0,94 ml, 0,94 mmol). Reakčná zmes sa rozloží prídavkom 1M kyseliny chlorovodíkovej. Výsledná zmes sa 40 minút mieša. Organický roztok sa premyje postupne ľadovo chladným 1M hydroxidom sodným (3x), 1M kyselinou chlorovodikovou a vodným chloridom sodným. Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (10% acetón v toluéne až 20% acetón v toluéne) sa získa metylester 5-(3-{2R-

[3S-hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (3 g) ako zmes 3S:3R diastereomérov na funkčnej skupine alkoholu v pomere približne 4:1 podľa ^1H NMR. ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,60 (d, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,41 (m, 3H), 6,79 (d, 1H), 5,70 (dd, 1H), 5,48 (dd, 1H), 4,41 (m, 1H), 4,00 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 3,50 (m, 1H), 2,86-2,77 (m, 5H), 2,42-2,26 (m, 2H), 2,16 (m, 1H), 1,81 (m, 2H), 1,72-1,54 (m, 2H).

Stupeň C: Metylester 5-(3-{2S-[3R-hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa zmes metylesteru 5-(3-{2R-[3S-hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (3 g) a 10% palládia na uhlíku (400 mg) v metanole (70 ml) 16 hodín hydrogenuje v Parrovom trepacom zariadení za tlaku 343,5 kPa. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (20% etylacetát v hexánoch až 70% etylacetát v hexánoch) sa získa metylester 5-(3-{2S-[3R-hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (2,26 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,61 (d, 1H), 7,52-7,38 (m, 4H), 6,81 (d, 1H), 3,83 (m, 4H), 3,63 (m, 2H), 3,00 (m, 1H), 2,85 (m, 3H), 2,74 (m, 1H), 2,34 (m, 2H), 2,10 (m, 1H), 1,98-1,45 (m, 8H).

Stupeň D: 5-(3-{2S-[3R-Hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa metylester 5-(3-{2S-[3R-hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny (625 mg) 24 hodín pri teplote miestnosti hydrolyzuje 2M hydroxidom sodným v metanole (20 ml) za vzniku titulnej zlúčeniny z príkladu 3M (599 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,67 (d, 1H),

7,51-7,38 (m, 4H), 6,84 (d, 1H), 3,85 (m, 1H), 3,63 (m, 2H), 3,02 (m, 1H), 2,85 (m, 3H), 2,75 (m, 1H), 2,37 (m, 2H), 2,11 (m, 1H), 2,00-1,45 (m, 8H); MS 470,2 (M+1), 468,2 (M-1).

P r í k l a d 4 A

5S-(3-Hydroxy-4-naftalen -2-ylbutyl)-1-[6-(2H-tetrazol-5-yl)-hexyl]pyrrolidin-2-ón

Stupeň A: 7-(2R-Formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánnitril. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni A, sa 7-(2R-hydroxymetyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánnitril (150 mg, 0,67 mmol) oxiduje za vzniku 7-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánnitrilu, ktorý sa použije v stupni B bez ďalšieho prečistenia.

Stupeň B: 7-[2R-(4-Naftalen-2-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánnitril. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylésteru (3-naftalen-2-yl-2-oxopropyl)fosfónovej kyseliny (196 mg, 0,67 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 27 mg, 0,67 mmol) nechá 19 hodín reagovať s 7-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánnitrilom (asi 0,67 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa 7-[2R-(4-naftalen-2-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánnitril (74 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,79 (m, 3H), 7,67 (m, 1H), 7,46 (m, 2H), 7,30 (d, 1H), 6,65 (dd, 1H), 6,25 (d, 1H), 4,10 (m, 1H), 3,99 (s, 2H), 3,42 (m, 1H), 2,66 (m, 1H), 2,37 (m, 2H), 2,22 (m, 3H), 1,76 (m, 1H), 1,52 (m, 2H), 1,29 (m, 4H), 1,10 (m, 2H); MS 389,1 (M+1), 387,0 (M-1).

Stupeň C: 7-[2S-(4-Naftalen-2-yl-3-oxobutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánnitril. Podobným spôsobom, aký je opísaný v prí-

klade 2A, stupni D, sa 7-[2R-(4-naftalen-2-yl-3-oxobut-1-enyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánnitril (74 mg, 0,19 mmol) 3 hodiny hydrogenuje v etanole (30 ml) za prítomnosti 10% palládia na uhlíku (50 mg) za tlaku 343,5 kPa. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etyl-acetát) sa získa 7-[2S-(4-naftalen-2-yl-3-oxobutyl)-5-oxo-pyrrolidin-1-yl]heptánnitril (45 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,80 (m, 3H), 7,66 (s, 1H), 7,47 (m, 2H), 7,30 (d, 1H), 3,85 (s, 2H), 3,51 (m, 2H), 2,81 (m, 1H), 2,48 (m, 2H), 2,28 (m, 4H), 1,98 (m, 2H), 1,62 (m, 4H), 1,44 (m, 4H), 1,22 (m, 2H); MS 391,4 (M+1), 389,3 (M-1).

Stupeň D: 7-[2S-(3-Hydroxy-4-naftalen-2-ylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánnitril. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, 7-[2S-(4-naftalen-2-yl-3-oxobutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánnitril (42 mg, 0,108 mmol) počas 3 hodín pri teplote miestnosti redukuje tetrahydroboritanom sodným (4 mg, 0,11 mmol) v etanole (20 ml) za vzniku 7-[2S-(3-hydroxy-4-naftalen-2-ylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánnitrilu (40 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,80 (m, 3H), 7,65 (m, 1H), 7,46 (m, 2H), 7,33 (d, 1H), 3,92 (m, 1H), 3,59 (m, 2H), 3,03-2,78 (m, 3H), 2,35 (m, 4H), 2,12 (m, 1H), 1,81 (m, 1H), 1,68-1,40 (m, 11H), 1,28 (m, 2H); MS 393,1 (M+1).

Stupeň E: 5S-(3-Hydroxy-4-naftalen-2-ylbutyl)-1-[6-(2H-tetrazol-5-yl)hexyl]pyrrolidin-2-ón. Roztok 7-[2S-(3-hydroxy-4-naftalen-2-ylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]heptánnitrilu (39 mg, 0,0994 mmol), azidotrimetylsilánu (150 mg, 1,30 mmol) a dibutylcínoxidu (25 mg, 0,10 mmol) v toluéne (15 ml) sa 18 hodín zahrieva k spätnému toku, potom ochladí a 1M kyselinou chlorovodíkovou (5 ml) okyslí na pH 2. Prchavé látky sa odstránia za zníženého tlaku a vodný roztok sa premyje etylacetátom (4 x 10 ml). Organické roztoky sa spoja, vysušia síranom

horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa skoncentruje. Zvyšok sa prečistí preparatívnou chromatografiou na tenkej vrstve (9:1 EtOAc:MeOH). Získa sa 5S-(3-hydroxy-4-naftalen-2-ylbutyl)-1-[6-(2H-tetrazol-5-yl)hexyl]pyrrolidin-2-ón (11 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,79 (m, 3H), 7,65 (m, 1H), 7,45 (m, 2H), 7,32 (m, 1H), 3,94 (m, 1H), 3,66 (m, 1H), 3,52 (m, 1H), 3,03-2,83 (m, 5H), 2,44 (m, 2H), 2,18 (m, 1H), 1,87-1,20 (m, 14H); MS 436,1 (M+1), 435,2 (M-1).

P r í k l a d 4 B

5S-[3R-Hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)butyl]-1-[6-(2H-tetrazol-5-yl)hexyl]pyrrolidin-2-ón

Stupeň A: 7-{2R-[4-(3-Metoxymetylfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánnitril. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dietyl-esteru [3-(3-metoxymetylfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny (2,87 g, 9,13 mmol) a NaH (60% v oleji, 446 mg, 11,2 mmol) nechá 24 hodín reagovať s 7-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánnitrilom (asi 11,15 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát až 1% metanol v dichlormetáne až 3% metanol v dichlormetáne) sa získa 7-{2R-[4-(3-metoxymetylfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánnitril (2,06 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,29 (m, 1H), 7,22 (m, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,10 (m, 1H), 6,62 (dd, 1H), 6,20 (d, 1H), 4,41 (s, 2H), 4,12 (m, 1H), 3,82 (s, 2H), 3,49 (m, 1H), 3,37 (s, 3H), 2,72 (m, 1H), 2,43-2,20 (m, 5H), 1,76 (m, 1H), 1,60 (m, 2H), 1,40 (m, 4H), 1,24 (m, 2H)

Stupeň B: 7-{2R-[3S-Hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánnitril. Do roztoku 7-{2R-[4-(3-metoxymetylfenyl)-3-oxobut-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-

-yl}heptánnitrilu (2,06 g, 5,39 mmol) a (R)-2-metyl-CBS-oxazaborolidínu (1M v toluéne, 0,81 ml, 0,81 mmol) v dichlormetáne (200 ml) sa pri -45°C prikvapká katecholbóran (1M v tetrahydrofuráne, 16,2 ml, 16,2 mmol). Reakčná zmes sa 24 hodín mieša pri -45°C a pridá sa k nej 1M kyselina chlorovodíková. Výsledná zmes sa 1 hodinu mieša pri teplote miestnosti. Vrstvy sa oddelia a vodná vrstva sa premyje dichlormetánom (2x). Organické roztoky sa spoja, premyjú chladným 1M hydroxidom sodným a potom vodným chloridom sodným (2x). Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát až 1% metanol v dichlormetáne až 3% metanol v dichlormetáne) sa získa 7-{2R-[3S-hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánnitril (2,07 g) ako zmes 3S:3R diastereomérov na funkčnej skupine alkoholu v pomere približne 2:1 podľa ¹H NMR. ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,30-7,09 (m, 4H), 5,71 (m, 1H), 5,46 (m, 1H), 4,41 (s, 2H), 4,38 (m, 1H), 4,00 (m, 1H), 3,45 (m, 1H), 3,38 (s, 3H), 2,88-2,68 (m, 3H), 2,31 (m, 4H), 2,17 (m, 1H), 1,70-1,21 (m, 10H).

Stupeň C: 7-{2S-[3R-Hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánnitril. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa 7-{2R-[3S-hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)but-1-enyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánnitril (2,07 g, 5,39 mmol) v etanole (100 ml) 24 hodín hydrogenuje v Parrovom trepacom zariadení za prítomnosti 10% palládia na uhľiku (200 mg) za tlaku 343,5 kPa. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až 2:1 etylacetát:hexány až etylacetát až 2% metanol v dichlormetáne až 5% metanol v dichlormetáne až 10% metanol v dichlormetáne) sa získa 7-{2S-[3R-hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)butyl]-5-

-oxopyrrolidin-1-yl}heptánnitril (1,28 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,30-7,10 (m, 4H), 4,41 (s, 2H), 3,82 (m, 1H), 3,57 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 2,89 (m, 2H), 2,66 (m, 1H), 2,32 (m, 4H), 2,10 (m, 1H), 1,77 (m, 1H), 1,66-1,40 (m, 11H), 1,29 (m, 2H).

Stupeň D: 5S-[3R-Hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)butyl]-1-[6-(2H-tetrazol-5-yl)hexyl]pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 4A, stupni E, sa 7-{2S-[3R-hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)butyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}heptánnitril (1,28 g, 3,31 mmol) nechá 24 hodín pri teplote spätného toku reagovať s azidotrimetylsilánom (0,90 ml, 6,78 mmol) a dibutylcínoxidom (128 mg, 0,514 mmol) v toluéne (68 ml). Do reakčnej zmesi sa pridá ďalší azidotrimetylsilán (1,8 ml, 13,56 mmol) a dibutylcínoxid (256 mg, 1,03 mmol) a v refluxovaní sa pokračuje počas 3 dní. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (dichlormetán až 2% metanol v dichlormetáne až 4% metanol v dichlormetáne až 6% metanol v dichlormetáne až 10% metanol v dichlormetáne) sa získa 5S-[3R-hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)butyl]-1-[6-(2H-tetrazol-5-yl)hexyl]-pyrrolidin-2-ón (619,5 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,30-7,11 (m, 4H), 4,42 (s, 2H), 3,87 (m, 1H), 3,64 (m, 1H), 3,52 (m, 1H), 3,39 (s, 3H), 2,99-2,67 (m, 5H), 2,42 (m, 2H), 2,16 (m, 1H), 1,87-1,25 (m, 14H).

Stupeň E: Sodná soľ 5S-[3R-hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)-butyl]-1-[6-(2H-tetrazol-5-yl)hexyl]pyrrolidin-2-ónu. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2C, stupni D, sa reakciou 5S-[3R-hydroxy-4-(3-metoxymetylfenyl)butyl]-1-[6-(2H-tetrazol-5-yl)hexyl]pyrrolidin-2-ónu (619,5 mg, 1,44 mmol) s hydrogénuhličitanom sodným (121 mg, 1,44 mmol) získa sodná soľ titulnej zlúčeniny z príkladu 4B (628,3 mg). ^1H NMR (CD_3OD) δ 7,20 (m, 4H), 3,79 (m, 1H), 3,64 (m, 1H), 3,50 (m, 1H), 2,97-2,69 (m, 5H), 2,29 (m, 2H), 2,10 (m, 1H), 1,81-1,28 (m, 14H).

P r í k l a d 5 A

2-{3-[2S-(3-Hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]- propyl}thiazol-4-karboxylová kyselina

Stupeň A: Etylster 2-{3-[2-oxo-5R-(3-oxo-4-fenyl-but-1-enyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}thiazol-4-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni B, sa anión vytvorený z dimetylsteru (2-oxo-3-fenyl-propyl)fosfónovej kyseliny (105 mg, 0,434 mmol) a NaH (60% hmotn. v oleji, 17 mg, 0,434 mmol) nechá 17 hodín reagovať s etylsterom 2-[3-(2R-formyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]thiazol-4-karboxylovej kyseliny (pripraveným z etylsteru 2-[3-(2R-hydroxymetyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]thiazol-4-karboxylovej kyseliny podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni A, asi 0,359 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 hexány:etylacetát až etylacetát) sa získa etylster 2-{3-[2-oxo-5R-(3-oxo-4-fenyl-but-1-enyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}thiazol-4-karboxylovej kyseliny (59 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 8,03 (s, 1H), 7,33-7,17 (m, 5H), 6,61 (dd, 1H), 6,20 (d, 1H), 4,40 (q, 2H), 4,19 (m, 1H), 3,82 (s, 2H), 3,60 (m, 1H), 2,98 (m, 2H), 2,80 (m, 1H), 2,44-2,15 (m, 3H), 1,94 (m, 2H), 1,75 (m, 1H), 1,38 (t, 3H); MS 427,0 (M+1), 424,9 (M-1).

Stupeň B: Etylster 2-{3-[2-oxo-5S-(3-oxo-4-fenylbutyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}thiazol-4-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni D, sa etylster 2-{3-[2-oxo-5R-(3-oxo-4-fenylbut-1-enyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}thiazol-4-karboxylovej kyseliny (23 mg, 0,0539 mmol) 3 hodiny hydrogenuje v etanole (15 ml) za prítomnosti 10% palládia na uhliku (15 mg) za tlaku 343,5 kPa. Po prečistení

preparatívnu chromatografiou na tenkej vrstve (1:1 hexány:etyl-acetát) (2x) sa získa etylester 2-{3-[2-oxo-5S-(3-oxo-4-fenylbutyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}tiazol-4-karboxylovej kyseliny (19 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,03 (s, 1H), 7,34-7,17 (m, 5H), 4,39 (q, 2H), 3,68 (s, 2H), 3,65 (m, 1H), 3,53 (m, 1H), 2,98 (m, 3H), 2,43 (t, 2H), 2,26 (m, 2H), 1,98 (m, 4H), 1,49 (m, 2H), 1,37 (t, 3H); MS 429,0 (M+1).

Stupeň C: Etylester 2-{3-[2S-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiazol-4-karboxylovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni C, sa etylester 2-{3-[2-oxo-5S-(3-oxo-4-fenylbutyl)pyrrolidin-1-yl]propyl}tiazol-4-karboxylovej kyseliny (34 mg, 0,0793 mmol) počas 2 hodín pri teplote miestnosti redukuje tetrahydroboritanom sodným (3 mg, 0,079 mmol) v etanole (10 ml). Po prečistení preparatívnu chromatografiou na tenkej vrstve (etylacetát) sa získa etylester 2-{3-[2S-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiazol-4-karboxylovej kyseliny (18 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,02 (m, 1H), 7,33-7,18 (m, 5H), 4,38 (q, 2H), 3,82 (m, 1H), 3,65 (m, 2H), 3,06 (m, 3H), 2,80 (m, 1H), 2,67 (m, 1H), 2,32 (m, 2H), 2,09 (m, 2H), 1,98 (m, 2H), 1,82 (m, 1H), 1,68-1,42 (m, 4H), 1,37 (t, 3H); MS 431,1 (M+1).

Stupeň D: 2-{3-[2S-(3-Hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiazol-4-karboxylová kyselina. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2A, stupni E, sa etylester 2-{3-[2S-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}-tiazol-4-karboxylovej kyseliny (18 mg, 0,042 mmol) 3 hodiny pri teplote spätného toku hydrolyzuje 1M hydroxidom sodným (0,06 ml) v metanole (5 ml) za vzniku titulnej zlúčeniny z príkladu 5A (8 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,01 (s, 1H), 7,33-7,18 (m, 5H), 3,83 (m, 1H), 3,66 (m, 2H), 3,09 (m, 1H), 3,02 (t,

2H), 2,81 (m, 1H), 2,68 (m, 1H), 2,35 (m, 2H), 2,06 (m, 4H), 1,82 (m, 1H), 1,69-1,38 (m, 4H); MS 403,0 (M+1), 401,0 (M-1).

Stupeň E: Sodná soľ 2-{3-[2S-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxo-pyrrolidin-1-yl]propyl}tiazol-4-karboxylovej kyseliny. Sodná soľ titulnej zlúčeniny z príkladu 5A sa pripraví podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 2B, stupni E. ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,58 (s, 1H), 7,25-7,14 (m, 5H), 3,75 (m, 1H), 3,36 (m, 2H), 2,78 (m, 1H), 2,61 (m, 3H), 2,16-1,20 (m, 12H).

P r í k l a d 5 B

5-(3-Hydroxy-4-fenylbutyl)-1-{3-[4-(2H-tetrazol-5-yl)fenyl]-propyl}pyrrolidin-2-ón

Stupeň A: 4-(3-{2-[3-(*tert*-Butyldimetylsilanyloxy)-4-fenylbutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzonitril. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1A, stupni D, sa anión vytvorený z 5-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-fenylbutyl]-pyrrolidin-2-ónu (262,8 mg, 0,756 mmol) a NaHMDS (0,83 ml, 0,83 mmol) nechá 24 hodín pri 70°C reagovať s 4-(3-brompropyl)benzonitrilom (186 mg, 0,832 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (5:1 hexány:etylacetát až 1:1 hexány:etylacetát až 1% metanol v dichlormetáne až 5% metanol v dichlormetáne) sa získa 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)-4-fenylbutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzonitril (257,6 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,56 (m, 2H), 7,26 (m, 5H), 7,13 (m, 2H), 3,85 (m, 1H), 3,62 (m, 1H), 3,48 (m, 1H), 2,93 (m, 1H), 2,82-2,60 (m, 4H), 2,29 (m, 2H), 1,88-1,25 (m, 7H); MS 491,5 (M+1).

Stupeň B: 4-{3-[2-(3-Hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzonitril. Podobným spôsobom, aký je opísaný v

príklade 1A, stupni E, sa 4-(3-{2-[3-(*tert*-butyldimethylsilanyloxy)-4-fenylbutyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl)benzonitril (257,6 mg, 0,525 mmol) podrobí deprotekcii 24hodinovou reakciou s TBAF (1M v tetrahydrofuráne, 0,79 ml, 0,79 mmol). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1:1 EtOAc:hexány až etylacetát až 1% metanol v dichlormetáne až 3% metanol v dichlormetáne) sa získa 4-{3-[2-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzonitril (157,8 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,56 (m, 2H), 7,26 (m, 7H), 3,80 (m, 1H), 3,67-3,55 (m, 2H), 2,98 (m, 1H), 2,80 (m, 1H), 2,65 (t, 2H), 2,43-2,24 (m, 2H), 2,08 (m, 1H), 1,89-1,33 (m, 9H); MS 375,3 (M-1).

Stupeň C: 5-(3-Hydroxy-4-fenylbutyl)-1-{3-[4-(2H-tetrazol-5-yl)fenyl]propyl}pyrrolidin-2-ón. Podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 4A, stupni E, sa 4-{3-[2-(3-hydroxy-4-fenylbutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}benzonitril (157,8 mg, 0,419 mmol) nechá 60 hodín pri teplote spätného toku reagovať s azidotrimetylsilánom (0,11 ml, 0,84 mmol) a dibutylcínoxidom (20 mg, 0,08 mmol) v toluéne (8,6 ml). Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (dichlormetán až 2% metanol v dichlormetáne až 4% metanol v dichlormetáne až 6% metanol v dichlormetáne) sa získa 5-(3-hydroxy-4-fenyl-butyl)-1-{3-[4-(2H-tetrazol-5-yl)fenyl]propyl}pyrrolidin-2-ón (144,7 mg). ^1H NMR (CDCl_3) δ 8,02 (m, 2H), 7,27 (m, 7H), 3,84 (m, 1H), 3,67 (m, 2H), 3,10 (m, 1H), 2,84 (m, 1H), 2,67 (m, 2H), 2,53 (m, 1H), 2,42 (m, 1H), 2,14 (m, 1H), 1,97-1,40 (m, 9H); MS 420,3 (M+1), 418,3 (M-1).

P r í p r a v n ý p o s t u p 1

Metylester 5-[3-(2R-hydroxymetyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]tiofén-2-karboxylovej kyseliny

Stupeň A: 5R-(*tert*-Butyldimetylsilanyloxymetyl)-1-prop-2-ynylpyrrolidin-2-ón. Do roztoku 5R-(*tert*-butyldimetylsilanyloxymetyl)pyrrolidin-2-ón (Tetrahedron: Asymmetry, 1996, 7, 2113) (10,24 g, 44,6 mmol) v dimetylformamide (650 ml) sa pri 0°C prikvapká NaHMDS (1M v tetrahydrofuráne, 49 ml, 49 mmol). Reakčná zmes sa 2 hodiny pri teplote miestnosti mechanicky mieša, čím sa získa hustá suspenzia, ktorá sa ochladí na 0°C a pomaly sa k nej pridá propargylbromid (80% v toluéne, 5,0 ml, 45 mmol) v dimetylformamide (50 ml). Reakčná zmes sa 2 hodiny mieša pri 0°C a 0,5 hodiny pri teplote miestnosti, hneď potom sa k nej pridá nasýtený chlorid amónny (700 ml) a voda (300 ml). Výsledný roztok sa premyje etylacetátom (3x600 ml). Organické roztoky sa spoja, premyjú vodou (4 x 300 ml) a potom vodným chloridom sodným (1 x 300 ml). Organický roztok sa vysuší síranom sodným, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (10% etylacetát v hexánoch až 25% etylacetát v hexánoch) sa získa 5R-(*tert*-butyldimetylsilanyloxymetyl)-1-prop-2-ynyl-pyrrolidin-2-ón (9,85 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 4,58 (dd, 1H), 3,88 (m, 1H), 3,77 (dd, 1H), 3,70 (d, 1H), 3,61 (m, 1H), 2,50-2,28 (m, 2H), 2,18 (m, 1H), 2,10 (m, 1H), 1,86 (m, 1H), 0,87 (s, 9H), 0,05 (s, 6H); MS 268,2 (M+1).

Stupeň B: Metylester 5-{3-[2R-(*tert*-butyldimetylsilanyloxymetyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]prop-1-ynyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Zmes 5R-(*tert*-butyldimetylsilanyloxymetyl)-1-prop-2-ynyl-pyrrolidin-2-ónu (8,64 g, 32,3 mmol), metylesteru 5-bromtiofén-2-karboxylovej kyseliny (7,5 g, 33,9 mmol), jodidu medného (308 mg, 1,62 mmol), tetrakis(trifenylfosfín)palládia(0) (1,9 g, 1,62 mmol), trietylaminu (5,0 ml, 36 mmol) a CH₃CN (300 ml) sa 19 hodín zahrieva k spätnému toku, potom ochladí na teplotu miestnosti a za zníženého tlaku sa z

nej odstránia prchavé látky. Zvyšok sa rozpustí v etylacetáte (500 ml). Organický roztok sa premyje vodou (3x200 ml) a potom vodným chloridom sodným (1x200 ml). Organický roztok sa vysuší síranom sodným, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (10% etylacetát v hexánoch až 25% etylacetát v hexánoch) (2x) sa získa metylester 5-{3-[2R-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)metyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}prop-1-ynyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (11,42 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,61 (d, 1H), 7,09 (d, 1H), 4,81 (d, 1H), 3,98 (d, 1H), 3,87 (m, 1H), 3,85 (s, 3H), 3,78 (dd, 1H), 3,63 (dd, 1H), 2,49-2,29 (m, 2H), 2,11 (m, 1H), 1,82 (m, 1H); 0,85 (s, 9H), 0,03 (s, 6H); MS 408,0 (M+1).

Stupeň C: Metylester 5-{3-[2R-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)metyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Zmes metylesteru 5-{3-[2R-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)metyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}prop-1-ynyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (11,4 g, 28 mmol) v etanole (200 ml) sa v Parrovom trepacom zariadení 3 hodiny hydrogenuje za tlaku 343,5 kPa za prítomnosti 10% palládia na uhľiku (1,2 g). Katalyzátor sa odstráni filtráciou cez celit za použitia etanolu ako pomocnej filtračnej látky. Organický roztok sa skoncentruje za zníženého tlaku. Potom sa uskutoční 24hodinová hydrogenácia za použitia etanolu (200 ml) a 10% palládia na uhľiku (1,2 g) za tlaku 343,5 kPa. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (25% etylacetát v hexánoch až 50% etylacetát v hexánoch) sa získa metylester 5-{3-[2R-(*tert*-butyldimetylsilanyloxy)metyl]-5-oxopyrrolidin-1-yl}propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (10,2 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7,64 (d, 1H), 6,83 (d, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,64 (m, 3H), 3,13 (m, 1H), 2,86 (t, 2H), 2,51-2,24 (m, 2H), 2,12-1,78 (m, 4H), 0,88 (s, 9H), 0,04 (s, 6H).

Stupeň D: Metylester 5-[3-(2R-hydroxymetyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]tiofén-2-karboxylovej kyseliny. Do roztoku metylesteru 5-{3-[2R-(*terc*-butyldimetylsilanyloxymetyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiofén-2-karboxylovej kyseliny (1,5 g, 3,64 mmol) v metanole (40 ml) sa pridá 1M kyselina chlorovodíková (18 ml). Reakčná zmes sa 1,5 hodiny mieša, hneď potom sa z nej za zníženého tlaku odstráni prchavé látky. Vodný roztok sa premyje dichlormetánom (3 x 50 ml). Organické roztoky sa spoja, premyjú vodným chloridom sodným, vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (5% metanol v dichlormetáne) sa získa metylester 5-[3-(2R-hydroxymetyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]tiofén-2-karboxylovej kyseliny (689 mg). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,59 (d, 1H), 6,79 (d, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,75 (m, 1H), 3,62 (m, 3H), 3,07 (m, 1H), 2,82 (t, 2H), 2,44 (m, 1H), 2,26 (m, 2H), 2,09-1,83 (m, 4H); MS 298,2 (M+1).

P r í p r a v n ý p o s t u p 2

Etylester 7-(2R-hydroxymetyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny

Podobným spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 1, stupni A, sa anión vytvorený z 5R-(*terc*-butyldimetylsilanyloxymetyl)pyrrolidin-2-ónu (18,83 g, 82,1 mmol) a NaHMDS (1M v tetrahydrofuráne, 90 ml, 90 mmol) alkyluje etyl-7-bromheptanoátom (16 ml, 82 mmol). Reakčná zmes sa 16 hodín mieša pri 60°C a spracuje podobným spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 1, stupni A. Surový zvyšok sa rozpustí v metanole (600 ml) a k metanolickeému roztoku sa pridá 1M HCl (300 ml). Vzniknutý roztok sa 3 hodiny mieša a za zníženého tlaku sa z neho odstráni prchavé látky. Vodný roztok sa zriedi dichlormetánom (300 ml). Organický roztok sa premyje vodou

(2x75 ml) a potom vodným chloridom sodným (1x75 ml), vysuší síranom sodným, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (etylacetát) sa získa etylester 7-(2R-hydroxymetyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánovej kyseliny (21,2 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 4,12 (q, 2H), 3,80 (dd, 1H), 3,66 (m, 3H), 2,97 (m, 1H), 2,54-2,27 (m, 5H), 2,04 (m, 2H), 1,67-1,28 (m, 8H), 1,26 (t, 3H); MS 272,3 (M+1).

P r í p r a v n ý p o s t u p 3

7-(2R-Hydroxymetyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánnitril

Podobným spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 1, stupni A, sa anión vytvorený z 5R-(*terc*-butyldimetylsilanyloxymetyl)pyrrolidin-2-ónu (20 g, 87 mmol) a NaHMDS (1M v tetrahydrofuráne, 96 ml, 96 mmol) alkyluje 7-bromheptánnitrilom (13 ml, 87 mmol). Reakčná zmes sa 24 hodín mieša pri 60°C a spracuje podobným spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 1, stupni A. Surový zvyšok sa rozpustí v metanole (350 ml) a k metanolickému roztoku sa pridá 1M HCl. Výsledný roztok sa 2 hodiny mieša a za zníženého tlaku sa z neho odstráni prchavé látky. Vodný roztok sa premyje dichlormetánom (3x200 ml). Organické roztoky sa spoja a premyjú vodným chloridom sodným (1x150 ml), vysušia síranom sodným, prefiltrujú a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (1% metanol v etylacetáte až 4% metanol v etylacetáte) sa získa 7-(2R-hydroxymetyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)heptánnitril (10,3 g). ^1H NMR (CDCl_3) δ 3,76 (dd, 1H), 3,62 (m, 3H), 2,97 (m, 1H), 2,43 (m, 1H), 2,33-1,94 (m, 5H), 1,92 (m, 1H), 1,66-1,41 (m, 6H), 1,30 (m, 2H); MS 225,3 (M+1).

P r í p r a v n ý p o s t u p 4

Metylester 4-(3-Brompropyl)benzoovej kyseliny

Stupeň A: Metylester 4-(3-hydroxy-prop-1-ynyl)benzoovej kyseliny. Do roztoku metyl-4-jodbenzoátu (20 g, 76 mmol), propargylalkoholu (5,55 g, 99,0 mmol) a trietylaminu (20 ml) v acetonitrile (200 ml) sa pridá chlorid bis(trifenylfosfín)-palladnatý (1,55 g, 2,21 mmol) a potom jodid meďný (454 mg, 2,38 mmol). Reakčná zmes sa 24 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom sa k nej pridá voda. Vodný roztok sa premyje etylacetátom (3x). Organické roztoky sa spoja, vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (9:1 hexány:etylacetát až 4:1 hexány:etylacetát) sa získa metylester 4-(3-hydroxy-prop-1-ynyl)benzoovej kyseliny (12,65 g).

Stupeň B: Metylester 4-(3-hydroxypropyl)benzoovej kyseliny. Roztok metylesteru 4-(3-hydroxyprop-1-ynyl)benzoovej kyseliny (12,65 g) v etylacetáte (75 ml) a metanole (75 ml) sa v Parrovej trepacej nádobe 24 hodín hydrogenuje za tlaku 343,5 kPa za prítomnosti 10% palládia na uhlíku (2 g) for 24 h. Katalyzátor sa odstráni filtráciou cez celit a filtrát sa skoncentruje. Reakcia sa zopakuje tak, že sa do zvyšku pridá 10% palládium na uhlíku (2 g) a hydrogenácia sa uskutočňuje počas 24 hodín v Parrovom trepacom zariadení. Zmes sa prefiltruje cez celit a filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Získa sa metylester 4-(3-hydroxypropyl)benzoovej kyseliny (11,98 g).

Stupeň C: Metylester 4-(3-brompropyl)benzoovej kyseliny. Roztok metylesteru 4-(3-hydroxypropyl)benzoovej kyseliny (11,98 g) a 1,1'-karbonyldiimidazolu (9,0 g, 55,50 mmol) v

CH₃CN (200 ml) sa 1,5 hodiny mieša pri teplote miestnosti a pridá sa k nemu allylbromid (20 ml). Reakčná zmes sa 20 hodín zahrieva k spätnému toku, potom ochladí na teplotu miestnosti a pridá sa k nej nasýtený vodný hydrogénuhličitan sodný. Vodný roztok sa premyje etylacetátom (3x). Organické roztoky sa spoja, vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (9:1 hexány:etylacetát) sa získa zlúčenina uvedená v nadpise prípravného postupu 4.

P r í p r a v n ý p o s t u p 5

Etylester 2-[3-(2R-hydroxymetyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]thiazol-4-karboxylovej kyseliny

Stupeň A: Etylester 2-bromthiazol-4-karboxylovej kyseliny. Chladný roztok dusitanu sodného (228 mg, 3,31 mmol) vo vode (2,0 ml) sa pri -5 až 0°C prikvapká do zmesi etylesteru 2-amínotiazol-4-karboxylovej kyseliny (J. Am. Chem. Soc., 1946, 68, 266) (500 mg, 2,90 mmol), pentahydrátu síranu mednatého (2,100 g, 8,41 mmol), bromidu sodného (1,134 g, 11,02 mmol), kyseliny sírovej (3,0 ml) a vody (3,0 ml). Reakčná zmes sa 20 minút mieša pri 0°C a 1 hodinu pri teplote miestnosti, hneď potom sa jej pH 1M hydroxidom sodným (105 ml) upraví na 9. Vodný roztok sa premyje trichlormetánom (4x50 ml). Organické roztoky sa spoja, vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a skoncentrujú. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (39:1 hexány:etylacetát až 19:1 hexány:etylacetát) sa získa etylester 2-bromthiazol-4-karboxylovej kyseliny (257 mg).

Stupeň B: Etylester 2-{3-[2R-(terc-butyldimetylsilanyloxy-metyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]prop-1-ynyl}thiazol-4-karboxylovej kyseliny. Zlúčenina zo stupňa B sa pripraví podobným

spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 4, stupni A, pri ktorom sa nahradia zodpovedajúce východzie látky a ako katalyzátory sa použije tetrakis(trifenylfosfín)palládium(0) a jodid meďný.

Stupeň C: Etylester 2-{3-[2R-(terc-butyldimetylsilanyloxy-metyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiazol-4-karboxylovej kyseliny. Zlúčenina zo stupňa C sa pripraví podobným spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 4, stupni B.

Stupeň D: Etylester 2-[3-(2R-hydroxymetyl-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl]tiazol-4-karboxylovej kyseliny. Do roztoku etylesteru 2-{3-[2R-(terc-butyldimetylsilanyloxymetyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl]propyl}tiazol-4-karboxylovej kyseliny (306 mg, 0,717 mmol) v tetrahydrofuráne (20 ml) sa pri 0°C pomaly pridá tetrabutylamóniumfluorid (1M v tetrahydrofuráne, 1,1 ml, 1,1 mmol). Reakčná zmes sa zahreje na teplotu miestnosti, 2 hodiny mieša a pridá sa k nej nasýtený vodný hydrogénuhličitan sodný. Prchavé látky sa odstránia za zníženého tlaku. Vodný roztok sa premyje trichlormetánom (4x10 ml). Organické roztoky sa spoja, vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa skoncentruje. Získa sa zlúčenina uvedená v prípravnom postupe 5 (225 mg).

P r í p r a v n ý p o s t u p 6

Dietylester [3-(4-fluór-3-metylfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny

Stupeň A: Dietylester [3-(4-fluór-3-metylfenyl)-2-hydroxypropyl]fosfónovej kyseliny. Do roztoku 4-fluór-3-metylfenylmagnéziumbromidu (0,5M v Et₂O, 15,5 ml, 7,75 mmol) v tetrahydrofuráne (10 ml) sa -30°C pridá jodid meďný (196 mg, 1,03

mmol). Reakčná zmes sa 10 minút mieša, potom zahreje na -15°C a pridá sa k nej dietyléster oxiranylmetylfosfónovej kyseliny (1 g, 5,2 mmol) v tetrahydrofuráne (10 ml). Reakčná zmes sa 2 hodiny mieša pri 0°C a pridá sa k nej nasýtený vodný chlorid amónny. Produkt sa extrahuje do etylacetátu. Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (20% etylacetát v hexánoch až 70% etylacetát v hexánoch) sa získa dietyléster [3-(4-fluór-3-metylfenyl)-2-hydroxypropyl]fosfónovej kyseliny (1,37 g).

Stupeň B: Dietyléster [3-(4-fluór-3-metylfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny. Do roztoku dietylésteru [3-(4-fluór-3-metylfenyl)-2-hydroxypropyl]fosfónovej kyseliny (1,37 g, 4,51 mmol) v dichlormetáne (30 ml) sa pridá Dess-Martinovo činidlo (Chemical Abstracts No. 87413-04-0, 2,10 g, 4,96 mmol). Reakčná zmes sa 2 hodiny mieša pri teplote miestnosti a pridá sa k nej ďalší dichlormetán. Organický roztok sa premyje hydrogénuhličitanom sodným (2x) a raz vodným chloridom sodným. Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (20% etylacetát v hexánoch až 70% etylacetát v hexánoch) sa získa zlúčenina uvedená v nadpise prípravného postupu 6 (1,1 g).

P r í p r a v n ý p o s t u p 7

Dietyléster [3-(3-metoxymetylfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej
kyseliny

Za použitia zodpovedajúcich východných látok sa podobným spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 6, vyrobí zlúčenina uvedená v nadpise prípravného postupu 7.

P r í p r a v n ý p o s t u p 8

Dietyléster [3-(4-etylfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny

Za použitia zodpovedajúcich východziech látok sa podobným spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 6, vyrobí zlúčenina uvedená v nadpise prípravného postupu 8.

P r í p r a v n ý p o s t u p 9

Dietyléster {3-[3-(2-metoxetyl)fenyl]-2-oxopropyl}-fosfónovej kyseliny

Za použitia zodpovedajúcich východziech látok sa podobným spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 6, vyrobí zlúčenina uvedená v nadpise prípravného postupu 9.

P r í p r a v n ý p o s t u p 1 0

Dimetyléster [2-oxo-3-(3-trifluormetyl)fenyl]propylfosfónovej kyseliny

Stupeň A: N-Metoxi-N-metyl-2-(3-trifluormetyl)fenyl)acetamid. Do roztoku hydrochloridu N,O-dimetylhydroxylamínu (1,577 g, 16,2 mmol) v dimetylformamide (25 ml) a dichlormetáne (25 ml) sa pri 0°C pridá trietylamin (2,25 ml). Vzniknutá zmes sa 5 minút mieša a pridá sa k nej 3-trifluormetyl)fenyl)octová kyselina (3,0 g, 14,7 mmol), HOBT (3,177 g, 23,5 mmol) a EDC (3,10 g, 16,2 mmol). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa zriedi etylacetátom. Organický roztok sa premyje postupne 1M hydroxidom sodným (2x), vodou a vodným chloridom sodným.

Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Strednotlakovou chromatografiou (20% etylacetát v hexánoch až 50% etylacetát v hexánoch) sa získa N-metoxy-N-metyl-2-(3-trifluormetylfenyl)acetamid.

Stupeň B: Dimetyléster [2-oxo-3-(3-trifluormetylfenyl)-propyl]fosfónovej kyseliny. Do roztoku dimetylmetylfosfonátu (9,4 g, 75,8 mmol) v toluéne (80 ml) sa pri -78°C pomaly pridá n-butyllítium (2,5M v hexánoch, 28 ml, 70 mmol). Reakčná zmes sa 1 hodinu mieša a pomaly sa k nej pridá roztok N-metoxy-N-metyl-2-(3-trifluormetylfenyl)acetamidu (14,39 g) v toluéne (50 ml). Reakčná zmes sa 2,5 hodiny mieša a pridá sa k nej kyselina octová (40 ml). Reakčná zmes sa zahreje na teplotu miestnosti a pridá sa k nej voda. Organická vrstva sa premyje vodou a potom vodným chloridom sodným. Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Strednotlakovou chromatografiou (dichlormetán až 2% metanol v dichlormetáne) sa získa zlúčenina uvedená v nadpise prípravného postupu 10 (9,37 g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,52 (m, 1H), 7,44 (m, 2H), 7,37 (m, 1H), 3,96 (s, 2H), 3,87 (s, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,12 (d, 2H).

P r í p r a v n ý p o s t u p 1 1

Dimetyléster [3-(3-chlorfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny

Podobným spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 10, sa za použitia vhodných východziech látok vyrobí zlúčenina uvedená v nadpise prípravného postupu 11.

Pr í p r a v n ý p o s t u p 1 2

Dimetyléster [3-(3-bromfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny

Podobným spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 10, sa za použitia vhodných východziech látok vyrobí zlúčenina uvedená v nadpise prípravného postupu 12.

Pr í p r a v n ý p o s t u p 1 3

Dimetyléster [2-oxo-3-(3-trifluormetoxifyenyl)propyl]-
fosfónovej kyseliny

Podobným spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 10, sa za použitia vhodných východziech látok vyrobí zlúčenina uvedená v nadpise prípravného postupu 13. MS 327,1 (M+1), 325,1 (M-1).

P r í p r a v n ý p o s t u p 1 4

Dimetyléster [3-(3-chlorfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny

Do roztoku dimetylmetylfosfonátu (17,93 g, 144 mmol) v tetrahydrofuráne (270 ml) sa pri -78°C pomaly pridá n-butyl-lítium (2,5M, 64,2 ml, 160,6 mmol). Reakčná zmes sa 1 hodinu mieša, hneď potom sa k nej pomaly pridá metylester (3-chlorfenyl)-octovej kyseliny (26,93 g, 146 mmol). Reakčná zmes sa nechá zahriať na teplotu miestnosti, 24 hodín mieša a pridá sa k nej kyselina octová (15 ml). Zo vzniknutej zmesi sa za zníženého tlaku odstránia prchavé látky. Zvyšok sa zriedi dichlormetánom. Organický roztok sa opatrne premyje nasýteným vodným hydrogénuhličitanom sodným (3x). Organická vrstva sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa

skoncentruje za zníženého tlaku. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (20% etylacetát v hexánoch až etylacetát) sa získa zlúčenina uvedená v nadpise (9,28 g).

P r í p r a v n é p o s t u p y 1 5 a ž 2 4

Podobným spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 14, sa za použitia zodpovedajúcich východzích látok pripravujú nasledujúce fosfónáty:

Prípravný postup 15: Dimetyléster [3-(3-fluorfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny

Prípravný postup 16: Dimetyléster [3-(4-fluorfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny

Prípravný postup 17: Dimetyléster [3-(4-chlorfenyl)-2-oxopropyl]fosfónovej kyseliny

Prípravný postup 18: Dimetyléster (3-naftalen-2-yl-2-oxopropyl)fosfónovej kyseliny

Prípravný postup 19: Dimetyléster (2-oxo-3-tiofén-2-ylpropyl)fosfónovej kyseliny

Prípravný postup 20: Dimetyléster (3-cyklohexyl-2-oxopropyl)fosfónovej kyseliny

Prípravný postup 21: Dimetyléster (2-oxo-3-fenylpropyl)fosfónovej kyseliny

Prípravný postup 22: Dimetyléster (3-benzo[1,3]dioxol-5-yl-2-oxopropyl)fosfónovej kyseliny

Prípravný postup 23: Dimetyléster [2-oxo-3-(3-fenoxyfenyl)-propyl]fosfónovej kyseliny

Prípravný postup 24: Dimetyléster [2-oxo-3-(2-trifluormetyl-fenyl)propyl]fosfónovej kyseliny

P r í p r a v n ý p o s t u p 2 5

Dimetyléster (3-bifenyl-3-yl-2-oxopropyl)fosfónovej kyseliny

Stupeň A: Metylester bifenyl-3-yloctovej kyseliny. Zmes fenylborónovej kyseliny (1,000 g, 8,20 mmol), metyl-3-bromfenylacetátu (1,691 g, 7,38 mmol), uhličitanu sodného (1,738 g, 16,4 mmol), tetrakis(trifenylfosfín)palládia(0) (0,474 g, 0,41 mmol), toluénu (30 ml) a vody (5 ml) sa 20 hodín zahrieva k spätnému toku. Reakčná zmes sa zriedi vodou (20 ml) a za zníženého tlaku sa z ní odstránia prchavé látky. Vodný roztok sa premyje etylacetátom (4x20 ml). Organické roztoky sa spoja, premyjú 1M hydroxidom sodným (15 ml) a potom vodou (15 ml). Organický roztok sa vysuší síranom horečnatým, prefiltruje a filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Po prečistení strednotlakovou chromatografiou (79:1 hexány:etylacetát až 39:1 hexány:etylacetát) sa získa metylester bifenyl-3-yloctovej kyseliny (1,316 g).

Stupeň B: Dimetyléster (3-bifenyl-3-yl-2-oxopropyl)fosfónovej kyseliny. Podobným spôsobom, aký je opísaný v prípravnom postupe 14, sa z metylesteru bifenyl-3-yloctovej kyseliny zo stupňa A pripraví zlúčenina uvedená v nadpise prípravného postupu 25.

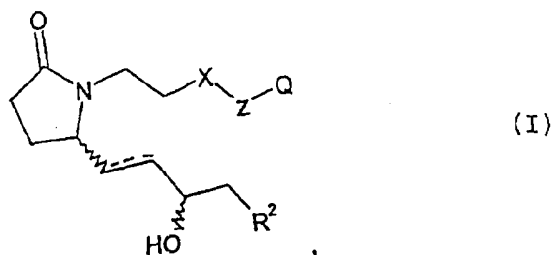
P r í p r a v n ý p o s t u p 2 6

Tetrahydropyrrolizín-3,5-dión

Zlúčenina uvedená v nadpise sa pripraví spôsobom opísaným
v US patente č. 4 663 464.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Zlúčeniny všeobecného vzorca I



kde

prerušovaná čiara predstavuje prípadnú väzbu;

X predstavuje skupinu $-\text{CH}_2-$ alebo kyslík;

Z predstavuje skupinu $-(\text{CH}_2)_3-$, tienylskupinu, tiazolylskupinu alebo fenylskupinu, pričom keď X predstavuje kyslík, potom Z predstavuje fenylskupinu;

Q predstavuje karboxyskupinu, (C_1-C_4) alkoxylkarbonylskupinu alebo tetrazolylskupinu;

R^2 predstavuje skupinu $-\text{Ar}$ alebo $-\text{Ar}^1-\text{V}-\text{Ar}^2$;

V predstavuje väzbu alebo skupinu $-\text{O}-$, $-\text{OCH}_2-$ alebo $-\text{CH}_2\text{O}-$;

Ar predstavuje sčasti nasýtený, celkom nasýtený alebo celkom nenasýtený päť- až osemčlenný kruh, ktorý prípadne obsahuje 1 až 4 heteroatómy nezávisle zvolené z kyslíka, síry a dusíka alebo bicyklický kruh pozostávajúci z dvoch

anelovaných nezávisle sčasti nasýtených, celkom nasýtených alebo celkom nenasýtených päť- alebo šesťčlenných kruhov, brané nezávisle, ktoré prípadne obsahujú 1 až 4 heteroatómy nezávisle zvolené z dusíka, síry a kyslíka; pričom uvedený čiastočne alebo celkom nasýtený kruh alebo bicyklický kruh prípadne obsahuje jednu alebo dve oxoskupiny, ako substituenty na uhlíku, alebo jednu alebo dve oxoskupiny, ako substituenty na síre;

Ar¹ a Ar² predstavuje každý nezávisle sčasti nasýtený, celkom nasýtený alebo celkom nenasýtený päť- až osemčlenný kruh, ktorý prípadne obsahuje 1 až 4 heteroatómy nezávisle zvolené z kyslíka, síry a dusíka, pričom čiastočne alebo celkom nasýtený kruh prípadne obsahuje jednu alebo dve oxoskupiny, ako substituenty na uhlíku, alebo jednu alebo dve oxoskupiny, ako substituenty na síre;

pričom uvedený zvyšok Ar je prípadne substituovaný na uhlíku alebo dusíku jedného kruhu, pokiaľ je monocyklický, alebo jedného alebo oboch kruhov, pokiaľ je bicyklický, až tromi substituentami, vzťahnuté na kruh, z ktorých každý je nezávisle zvolený zo súboru pozostávajúceho z hydroxyskupiny, halogénu, karboxyskupiny, (C₁-C₇)alkoxyskupiny, (C₁-C₄)-alkoxy(C₁-C₄)alkylskupiny, (C₁-C₇)alkylskupiny, (C₂-C₇)-alkenylskupiny, (C₃-C₇)cykloalkylskupiny, (C₃-C₇)cykloalkyl(C₁-C₄)alkylskupiny, (C₃-C₇)cykloalkyl(C₁-C₄)-alkanoylskupiny, formylskupiny, (C₁-C₃)alkanoylskupiny, (C₁-C₆)alkanoyl(C₁-C₆)alkylskupiny, (C₁-C₄)alkanoylamínoskupiny, (C₁-C₄)alkoxykarbonylamínoskupiny, hydroxysulfonylskupiny, aminokarbonylamínoskupiny a mono-N-, di-N,N-, di-N,N'-

alebo tri-N,N,N'-(C₁-C₄)alkylsubstituovanej
 aminosulfonylamínoskupiny, sulfonamidoskupiny, (C₁-C₄)-
 alkylsulfonamidoskupiny, aminoskupiny, mono-N- a di-N,N-
 -(C₁-C₄)alkylamínoskupiny, karbamoylskupiny, mono-N- a di-
 -N,N-(C₁-C₄)alkylkarbamoylskupiny, kyanoskupiny, tiólu,
 (C₁-C₆)alkyltioskupiny, (C₁-C₆)alkylsulfinylskupiny,
 (C₁-C₄)alkylsulfonylskupiny a mono-N- a di-N,N-(C₁-C₄)-
 alkylamínosulfinylskupiny, pričom alkylové a alkoxylové
 substituenty v definícii Ar sú prípadne substituované na
 uhľiku až 3 atómami fluóru; a

zvyšky Ar¹ a Ar² sú nezávisle prípadne substituované na
 uhľiku alebo na dusíku až tromi substituentami, z ktorých
 každý je nezávisle zvolený zo súboru pozostávajúceho z
 hydroxyskupiny, halogénu, karboxyskupiny, (C₁-C₇)alkoxy-
 skupiny, (C₁-C₄)alkoxy(C₁-C₄)alkylskupiny, (C₁-C₇)alkyl-
 skupiny, (C₂-C₇)alkenylskupiny, (C₃-C₇)cykloalkylskupiny,
 (C₃-C₇)cykloalkyl(C₁-C₄)alkylskupiny, (C₃-C₇)cykloalkyl-
 (C₁-C₄)alkanoylskupiny, formylskupiny, (C₁-C₈)alkanoyl-
 skupiny, (C₁-C₆)alkanoyl(C₁-C₆)alkylskupiny, (C₁-C₄)alka-
 noylamínoskupiny, (C₁-C₄)alkoxykarbonylamínoskupiny,
 hydroxysulfonylskupiny, aminosulfonylamínoskupiny a
 mono-N-, di-N,N-, di-N,N'- a tri-N,N,N'-(C₁-C₄)alkylsub-
 stituovanej aminosulfonylamínoskupiny,
 sulfonamidoskupiny, (C₁-C₄)-alkylsulfonamidoskupiny,
 aminoskupiny, mono-N- a di-N,N-(C₁-C₄)alkylamínoskupiny,
 karbamoylskupiny, mono-N- a di-N,N-(C₁-
 C₄)alkylkarbamoylskupiny, kyanoskupiny, tiólu, (C₁-
 C₆)alkyltioskupiny, (C₁-C₆)alkylsulfinylskupiny, (C₁-
 C₄)alkylsulfonylskupiny a mono-N- a di-N,N-(C₁-C₄)-
 alkylamínosulfinylskupiny, pričom alkylové a alkoxylové
 substituenty v definícii Ar¹ a Ar² sú prípadne substi-
 tuované na uhľiku až 3 atómami fluóru;

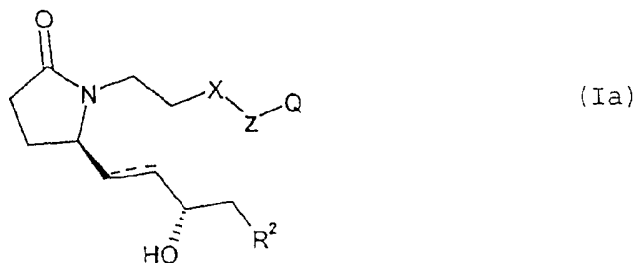
s tou podmienkou, že

(a) keď X predstavuje skupinu $-(CH_2)-$ a Z predstavuje skupinu $-(CH_2)_3-$, potom R^2 nepredstavuje tienylskupinu, fenylskupinu alebo fenylskupinu monosubstituovanú chlóróm, fluórom, fenylskupinou, metoxyskupinou, trifluormetylskupinou alebo (C_1-C_4) alkylskupinou; a

(b) keď X predstavuje skupinu $-(CH_2)-$, Z predstavuje skupinu $-(CH_2)_3-$, a Q predstavuje karboxyskupinu alebo (C_1-C_4) -alkoxykarbonylskupinu, potom R^2 nepredstavuje (i) (C_5-C_7) cykloalkylskupinu alebo (ii) fenylskupinu, tienylskupinu alebo furylskupinu, z ktorých každá je prípadne monosubstituovaná alebo disubstituovaná jedným alebo dvoma substituentami nezávisle zvolenými zo súboru pozostávajúceho z atómov halogénu, alkylskupín s 1 až 3 atómami uhlíka, ktoré sú prípadne substituované jedným alebo viacerými atómami halogénu, a alkoxykupín s 1 až 4 atómami uhlíka;

ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereoméne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

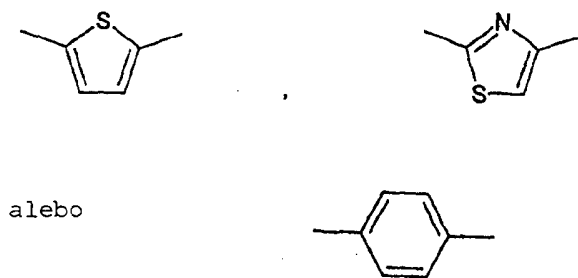
2. Zlúčeniny podľa nároku 1 všeobecného vzorca Ia



kde

X predstavuje skupinu $-\text{CH}_2-$;

Z predstavuje skupinu $-(\text{CH}_2)_3-$ alebo skupinu vzorca



alebo

a

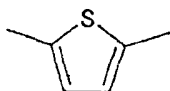
R^2 predstavuje zvyšok $-\text{Ar}$; pričom zvyšok $-\text{Ar}$ je prípadne substituovaný na uhlíku alebo dusíku jedného kruhu, pokiaľ je monocyklický, alebo jedného alebo oboch kruhov, pokiaľ je bicyklický, až tromi substituentami, vzťahnuté na kruh, z ktorých každý je nezávisle zvolený zo súboru pozostávajúceho z hydroxyskupiny, halogénu, karboxyskupiny, (C_1-C_7) alkoxyskupiny, (C_1-C_4) alkoxy (C_1-C_4) alkylskupiny, (C_1-C_7) alkylskupiny, (C_2-C_7) -alkenylskupiny, (C_3-C_7) cykloalkylskupiny, (C_3-C_7) cykloalkyl (C_1-C_4) alkylskupiny, (C_3-C_7) cykloalkyl (C_1-C_4) alkanoylskupiny, formylskupiny, (C_1-C_8) alkanoylskupiny, (C_1-C_6) alkanoyl (C_1-C_6) alkylskupiny, (C_1-C_4) alkanoylamínoskupiny, (C_1-C_4) alkoxykarbonylamínoskupiny, hydroxysulfonylskupiny, aminokarbonylamínoskupiny a mono-N-, di-N,N-, di-N,N'- a tri-N,N,N'- (C_1-C_4) alkylsubstituovanej aminokarbonylamínoskupiny, sulfonamidokupiny, (C_1-C_4) alkylsulfonamidokupiny, aminokupiny, mono-N- a di-N,N- (C_1-C_4) alkylaminokupiny, karbamoylskupiny, mono-N- a di-N,N- (C_1-C_4) alkylkarbamoylskupiny, kyanoskupiny,

tiólu, (C_1-C_6) alkyltioskupiny, (C_1-C_6) alkylsulfinylskupiny, (C_1-C_4) alkylsulfonylskupiny a mono-N- a di-N,N- (C_1-C_4) alkylamínosulfinylskupiny, pričom alkylové a alkoxylové substituenty v definícii Ar sú prípadne substituované na uhlíku až 3 atómami fluóru;

ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

3. Zlúčeniny podľa nároku 2, kde Ar predstavuje cyklohexylskupinu, 1,3-benzodioxolylskupinu, tienylskupinu, naftylskupinu alebo fenylskupinu prípadne substituovanú jednou alebo dvoma skupinami zvolenými z (C_1-C_4) alkylskupiny, (C_1-C_4) alkoxyskupiny, (C_1-C_4) alkoxy (C_1-C_4) alkylskupiny, chlóru, fluóru, trifluormetylskupiny a kyanoskupiny, pričom alkylové a alkoxylové substituenty v definícii Ar sú prípadne substituované až 3 atómami fluóru; ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

4. Zlúčeniny podľa nároku 3, kde prerušovaná čiara nepredstavuje väzbu; Q predstavuje karboxyskupinu alebo (C_1-C_4) alkoxykarbonylskupinu; a Z predstavuje skupinu vzorca



;

ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

5. Zlúčeniny podľa nároku 4, kde Q predstavuje karboxyskupinu a Ar predstavuje fenylskupinu prípadne substituovanú jednou (C₁-C₄)alkylskupinou, (C₁-C₄)alkoxyskupinou, (C₁-C₄)alkoxy(C₁-C₄)alkylskupinou, chlóróm, fluórom, trifluormetylskupinou alebo kyanoskupinou, pričom alkylové a alkoxylové substituenty v definícii Ar sú prípadne substituované až 3 atómami fluóru, ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

6. Zlúčeniny podľa nároku 5, kde Ar predstavuje m-trifluormetylfenylskupinu, ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

7. Zlúčeniny podľa nároku 5, kde Ar predstavuje m-chlorfenylskupinu, ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

8. Zlúčeniny podľa nároku 5, kde Ar predstavuje m-trifluormetoxifenylskupinu, ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

9. Zlúčeniny zvolené zo súboru pozostávajúceho z

5-(3-(2S-(3R-hydroxy-4-(3-trifluormetylfenyl)butyl)-5-oxo-pyrrolidin-1-yl)propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny;

5-(3-(2S-(3R-hydroxy-4-(3-trifluormetoxifenyl)butyl)-5-oxo-pyrrolidin-1-yl)propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny; a

5-(3-(2S-(4-(3-chlorfenyl)-3R-hydroxybutyl)-5-oxopyrrolidin-1-yl)propyl)tiofén-2-karboxylovej kyseliny.

10. Zlúčeniny podľa nároku 2, kde X predstavuje skupinu $-\text{CH}_2-$, Z predstavuje skupinu $-(\text{CH}_2)_3-$, Q predstavuje karboxyskupinu alebo (C_1-C_4) alkoxykarbonylskupinu a Ar predstavuje fenylskupinu nezávisle substituovanú jednou až tromi skupinami zvolenými z kyanoskupiny, (C_1-C_7) alkoxyskupiny substituovanej 1 až 3 atómami fluóru a (C_1-C_4) alkoxy (C_1-C_4) alkylskupiny; ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

11. Zlúčeniny podľa nároku 3, kde prerušovaná čiara nepredstavuje väzbu; Q predstavuje karboxyskupinu alebo (C_1-C_4) alkoxykarbonylskupinu; a Z predstavuje skupinu vzorca



ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

12. Zlúčeniny podľa nároku 11, kde Q predstavuje karboxyskupinu a Ar predstavuje fenylskupinu prípadne substituovanú jednou (C_1-C_4) alkylskupinou, (C_1-C_4) alkoxyskupinou, (C_1-C_4) alkoxy (C_1-C_4) alkylskupinou, chlóróm, fluórom, trifluor-metylskupinou alebo kyanoskupinou, pričom alkylové a alkoxylové substituenty v definícii Ar sú prípadne substituované až 3 atómami fluóru, ich preliečivá, farmaceuticky vhodné soli

týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizoméry a diastereomérne zmesi týchto zlúčenín, preliečiv a solí.

13. Použitie zlúčenín podľa nároku 1, ich preliečiv, farmaceuticky vhodných solí týchto zlúčenín a preliečiv a stereoizomérov a diastereomérmých zmesí týchto zlúčenín, preliečiv a solí na výrobu liečiva na liečenie stavu, ktorý sa prejavuje nízkou kostnou hmotou cicavcov.

14. Použitie podľa nároku 13, kde stavom je osteoporóza, krehkosť, osteoporotická fraktúra, kostný defekt, juvenilný idiopatický úbytok kostného tkaniva, úbytok alveolárnej kosti, úbytok mandibulárnej kosti, fraktúra kosti, osteotómia, úbytok kosti spojený s periodontitis a prerastanie protézy.

15. Farmaceutická kompozícia, **vyznačujúca sa tým**, že obsahuje zlúčeninu podľa nároku 1, jej preliečivo, farmaceuticky vhodnú soľ tejto zlúčeniny alebo preliečiva alebo stereoizomér alebo diastereomérmu zmes tejto zlúčeniny, preliečiva alebo solí.