

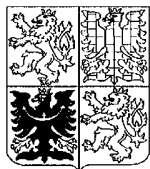
# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

**1999 - 1423**

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **20.11.1997**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **22.11.1996**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1996/755334**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **17.01.2001**  
(Věstník č. 1/2001)

(86) PCT číslo: **PCT/US97/18704**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO98/22493**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>:

**C 07 K 5/06**

**A 61 K 38/00**

**A 61 P 25/28**

(71) Přihlašovatel:

ELAN PHARMACEUTICALS, INC., South Francisco,  
CA, US;  
ELI LILLY AND COMPANY, Indianapolis, IN, US;

(72) Původce:

Audia James E., Indianapolis, IN, US;  
Folmer Beverly K., Newark, DE, US;  
John Varghese, San Francisco, CA, US;  
Latimer Lee H., Oakland, CA, US;  
Nissen Jeffrey S., Indianapolis, IN, US;  
Porter Warren J., Indianapolis, IN, US;  
Thorsett Eugene D., Moss Beach, CA, US;  
Wu Jing, San Mateo, CA, US;

(74) Zástupce:

Švorčík Otakar JUDr., Háfkova 2, Praha 2, 12000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Deriváty N-(ARYL/HETEROARYL)  
aminokyselin, farmaceutické kompozice s jejich  
obsahem a způsoby inhibice uvolňování β-  
AMYLOIDOVÉHO PEPTIDU a/nebo jejich  
syntézy použitím těchto sloučenin**

(57) Anotace:

Sloučeniny inhibují uvolňování β-amyloidového peptidu a/nebo jeho syntézu, a proto jsou použitelné při léčení Alzheimerovy nemoci. Farmaceutické kompozice, obsahující sloučeniny, které inhibují uvolňování β-amyloidového peptidu a/nebo jeho syntézu a léčení Alzheimerovy nemoci jak profylakticky, tak terapeuticky pomocí takových farmaceutických kompozic.

CZ 1999 - 1423 A3

JUDr. Otakar Švorčík  
advokát  
Hálkova 2, 120 00 Praha 2

08.11.99

PV 1994-1423  
č.j. 76337

**Deriváty N-(aryl/heteroaryl)aminokyselin, farmaceutické kompozice s jejich obsahem a způsoby inhibice uvolňování  $\beta$ -amyloidového peptidu a/nebo jeho syntézy použitím takových sloučenin**

Křížové reference na vztahující se přihlášky

Tato přihláška se vztahuje k U.S. předběžné přihlášce č. 60/ vytvořené na základě ustanovení 37 C.F.R. §1,53(b)(2)(ii) z U.S. Patentové přihlášky č. 08/755,334, podané 22. listopadu 1996, která je zahrnuta ve své celistvosti jako reference.

#### **Oblast techniky**

Předložený vynález se týká sloučenin, které inhibují uvolňování  $\beta$ -amyloidového peptidu a/nebo jeho syntézu a proto jsou použitelné při léčení Alzheimerovy nemoci. Předložený vynález se také týká farmaceutických kompozic, obsahujících takové sloučeniny stejně tak jako způsobů inhibice uvolňování  $\beta$ -amyloidového peptidu.

#### **Reference**

Následující publikace, patenty a patentové přihlášky jsou v této přihlášce citovány pod čísla, uvedenými jako horní indexy:

<sup>1</sup> Glenner a kol. "Alzheimer's Disease: Initial Report of the Purification a Characterization of a Novel

Cerebrovascular Amyloid Protein", Biochem. Biophys. Res. Commun., 120:885- 890 (1984).

<sup>2</sup> Glenner a kol. "Polypeptide Marker for Alzheimer's Disease a its Use for Diagnosis". U. S. Patent No. 4,666,829 issued May 19. 1987.

<sup>3</sup> Selkoe, „The Molecular Pathology of Alzheimer's Disease", Neuron. 6:481-498 (1991).

<sup>4</sup> Goate a kol., "Segregation of a Missense Mutation in the Amyloid Precursor Protein Gene with Familial Alzheimer's Disease", Nature, 349:704-106 (1990).

<sup>5</sup> Chartier-Harlan a kol., "Early-Onset Alzheimer's Disease Caused by Mutations at Codon 711 of the  $\beta$ -Amyloid Precursor Protein Gene", Nature, 353:844-846 (1989).

<sup>6</sup> Murrell a kol., "A Mutation in the Amyloid Precursor Protein Associated with Hereditary Alzheimer's Disease", Science, 254:97-99 (1991).

<sup>7</sup> Mullan a kol., "A Pathogenic Mutation for Probable Alzheimer's Disease in the APP Gene at the N-Terminus of  $\beta$ -Amyloid, Nature Genet., 1:345-341 (1992).

<sup>8</sup> Schenk a kol., „Methods a Compositions for the Detection of Soluble  $\beta$ -amyloid Peptide", International Patent ApplicationPublication No. WO 94/10,569. published 11 May 1994.

<sup>9</sup> Selkoe, "Amyloid Protein a Alzheimer's Disease", Scientific American, pp. 2-8, November, 1991.

<sup>10</sup> Yates a kol., „N,N-Disubstituted Amino Acid Herbicides“, U.S. Patent No. 3,598,859, vydán 10. října 1971.

<sup>11</sup> Citron a kol., "Mutation of the  $\beta$ -Amyloid Precursor Protein in Familial Alzheimer's Disease Increases  $\beta$ -Protein Production, Nature, 360:672-674 (1992j).

<sup>12</sup> Hansen a kol., „Reexamination a Further Development of a Precise a Rapid Dye Method for Measuring Cell Growth/Cell Kill“, J. Immun. Meth., 119:203-210 (1989).

Všechny výše uvedené publikace, patenty a patentové přihlášky jsou zde zahrnuty ve své celistvosti jako reference stejným způsobem, jak kdyby každá jednotlivá publikace, patent nebo patentová přihláška byly specificky a individuálně uvedeny jako reference, zahrnuté ve své celistvosti.

### **Dosavadní stav techniky**

Alzheimerova nemoc (AD) je degenerativní mozková porucha, charakterizovaná klinicky progresivní ztrátou paměti, poznávacích schopností, myšlení, úsudku a emoční stability, které postupně vedou k hlubokému mentálnímu poškození a nakonec k smrti. Alzheimerova nemoc je velmi obvyklou příčinou progresivního duševního selhání (dementia) starých lidí a má se za to, že představuje čtvrtou nejrozšířenější

příčinu smrti ve Spojených státech. Alzheimerova nemoc byla pozorována u různých ras a etnických skupin po celém světě a představuje jeden z nejzávažnějších současných a budoucích veřejných zdravotních problémů. Odhaduje se, že tato nemoc v současné době zasahuje dva až tři miliony osob jen v samotných Spojených státech. Alzheimerova nemoc je v současné době neléčitelná. V současné době není znám žádný způsob léčení, který by účinně předcházel Alzheimerově nemoci nebo zamezoval jejím symptomům.

Mozky osob, postižených Alzheimerovou nemocí vykazují charakteristické léze, které jsou nazývány senilní (nebo amyloidní) plaky, amyloidovou angiopatií (amyloid deponovaný v krevních cévách) a neurofibrilární zauzlení. U pacientů s Alzheimerovou nemocí se obecně nachází velký počet těchto lézí, obzvláště amyloidní plaky a neurofibrilární zauzlení, v řadě oblastí lidského mozku, které jsou důležité pro paměťové a poznávací funkce. Menší množství těchto lézí s omezenějším anatomickým rozložením se také nachází v mozku většiny starých lidí, kteří nemají klinickou Alzheimerovu nemoc. Amyloidní plaky a amyloidová angiopatie také charakterizuje mozek osob s onemocněním Trisomy 21 (Downův syndrom) a dědičnou mozkovou hemoragií s amyloidózou holandského typu (HCHWA-D). V současné době definitivní diagnóza Alzheimerovy nemoci obvykle vyžaduje pozorování výše uvedených lézí v mozkové tkáni pacientů, kteří na chorobu zemřeli a nebo, řidčeji, v malých bioptických vzorcích mozkové tkáně odebrané v průběhu invazivní neurochirurgické procedury.

Základní chemická složka amyloidních plaků a vaskulárních amyloidových depozitů (amyloidová angiopatie),

charakteristických pro Alzheimerovu nemoc a další výše uvedené poruchy, je protein o molekulové hmotnosti přibližně 4,2 kilodaltonů (kD) skládající se z přibližně 39-43 aminokyselin, který je označován jako  $\beta$ -amyloidový peptid ( $\beta$ AP) nebo někdy  $A\beta$ ,  $A\beta$ P nebo  $\beta/A4$ .  $\beta$ -amyloidový peptid byl nejprve vyčištěn a jeho částečná sekvence aminokyselin byla určena Glennerem a kol.<sup>1</sup> Způsob izolace a údaje o sekvenci prvních 28 aminokyselin jsou popsány v U.S. Patentu č. 4,666,829<sup>2</sup>.

Molekulárně biologické a proteinově chemické analýzy ukázaly, že  $\beta$ -amyloidový peptid je malý fragment daleko většího prekurzorového proteinu (APP), který je normálně produkován buňkami v mnoha tkáních různých zvířat, v to počítaje člověka. Znalost struktury genového kódu APP prokázaly, že  $\beta$ -amyloidový peptid vzniká jako peptidový segment, které je odštěpen od APP proteázovým enzymem nebo enzymy. Přesný biochemický mechanismus, kterým je  $\beta$ -amyloidový peptidový fragment odštěpen od APP a následně uložen ve formě amyloidních plaků v mozkové tkáni a ve stěnách cerebrálních a meningeálních krevních cév, je v současné době neznámý.

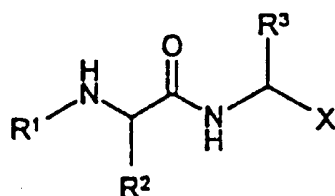
Řada důkazů naznačuje, že cerebrální ukládání  $\beta$ -amyloidového peptidu hraje ústřední roli v patogenezi Alzheimerovy nemoci a může předcházet kognitivním symptomům o roky nebo desetiletí, viz například Selkoe<sup>3</sup>. Nejdůležitějším důkazem je objev, že DNA mutace s chybným smyslem v aminokyselině 717 izoformy APP o 770 aminokyselinách může být nalezena u postižených členů, ale ne u nezasažených členů řady rodin s geneticky určenou

(familiární) formou Alzheimerovy nemoci (Goate a kol.<sup>4</sup>; Chartier-Harlan a kol.<sup>5</sup>; a Murrell a kol.<sup>6</sup>) a je označována jako Švédská varianta. Dvojitá mutace, která spočívá v mutaci lysinu<sup>595</sup>-methioninu<sup>596</sup> na asparagin<sup>595</sup>-leucin<sup>596</sup> (s odvoláním na izoformu 695) a byla nalezena ve švédské rodině, byla popsána v roce 1992 (Mullan a kol.<sup>7</sup>). Analýzy genetické vazby prokázaly, že tyto mutace, stejně tak jako jisté další mutace v genu APP, jsou specifickou molekulární příčinou Alzheimerovy nemoci u postižených členů takových rodin. Kromě toho mutace aminokyseliny 693 v izoformě APP o 770 aminokyselinách byly identifikovány jako příčina choroby, spočívající v ukládání  $\beta$ -amyloidového peptidu, HCHWA-D a změna alaninu na glycin v aminokyselině 692 se zdá být příčinou fenotypu, který připomíná Alzheimerovu nemoc u některých pacientů, ale HCHWA-D u jiných. Objev těchto a dalších mutací APP v geneticky způsobených případech Alzheimerovy nemoci dokazují, že změna APP a následné ukládání fragmentu  $\beta$ -amyloidového peptidu může způsobit Alzheimerovu nemoc.

I přes pokrok, kterého bylo dosaženo v pochopení mechanismu, který je základem Alzheimerovy nemoci a dalších nemocí spojených s  $\beta$ -amyloidovým peptidem přetrvává potřeba vyvinout způsoby a kompozice pro léčbu nemoci nebo nemocí. Ideálně by způsoby léčení byly založeny na látkách, které by byly schopny inhibice uvolňování  $\beta$ -amyloidového peptidu a/nebo jeho syntézy.

#### Předmět vynálezu

Předložený vynález se týká objevu třídy sloučenin, které inhibují uvolňování  $\beta$ -amyloidového peptidu a/nebo jeho syntézy a proto jsou použitelné při prevenci Alzheimerovy nemoci u pacientů, náchylných k Alzheimerově nemoci a/nebo pro léčbu pacientů trpících Alzheimerovou nemocí, aby se zabránilo dalšímu zhoršování jejich stavu. Třída sloučenin, které mají uvedené vlastnosti, je definována obecným vzorcem I, který následuje:



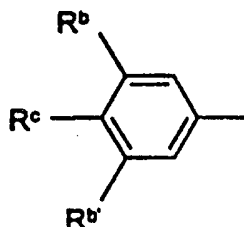
I

ve kterém:

$\text{R}^1$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího

(a) fenyl,

(b) substituovanou fenylovou skupinu obecného vzorce II:



II

ve kterém  $\text{R}^c$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny acyl, alkyl, alkoxy, alkylalkoxy, azido, kyano, atom

halogenu, atom vodíku, skupiny nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy a kde  $R^b$  a  $R^c$  jsou k sobě kondenzovány a vytvářejí heteroaryl nebo heterocyklický kruh s fenylovým kruhem,

$R^b$  a  $R^{b'}$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu, skupiny nitro, kyano, trihalogenmethyl, alkoxy a thioalkoxy s tou podmínkou, že pokud  $R^c$  je atom vodíku, potom  $R^b$  a  $R^{b'}$  jsou buď oba atom vodíku nebo oba substituenty jiné než atom vodíku

(c) 2-naftyl,

(d) 2-naftyl substituovaný v polohách 4, 5, 6, 7 a/nebo 8 pomocí 1 až 5 substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkoxy, atom halogenu, skupiny kyano, nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy, aryl a heteroaryl,

(e) heteroaryl, a

(f) substituovaný heteroaryl, nesoucí 1 až 3 substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího skupiny alkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, kyano, atom halogenu, skupiny nitro, heteroaryl, thioalkoxy a thioaryloxy, za předpokladu, že uvedené substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení heteroarylu ke skupině -NH ;

$R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylthioalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, aryl, heteroaryl, substituovaný aryl a substituovaný heteroaryl, za předpokladu, že substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení arylového nebo heteroarylového atomu k atomu uhlíku;

$R^3$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkenyl, alkinyl, aryl, cykloalkyl, cykloalkenyl, heteroaryl, substituovaný alkyl, substituovaný alkenyl, substituovaný alkinyl a heterocyklický systém;

X představuje  $-C(O)Y$ , kde Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího

- (a) alkyl,
- (b) substituovaný alkyl s tou podmínkou, že substituce na uvedeném substituovaném alkylu nezahrnuje skupiny  $\alpha$ -halogenalkyl,  $\alpha$ -diazalkyl nebo  $\alpha$ -OC(O)alkyl,
- (c) alkoxy nebo thioalkoxy,
- (d) substituovanou skupinu alkoxy nebo substituovanou skupinu thioalkoxy,
- (e) hydroxy,
- (f) aryl,
- (g) heteroaryl,
- (h) heterocyklický systém,
- (i)  $-NR'R''$ , kde R' a R'' jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyklický systém a kde R' a R'' jsou spojeny, aby vytvářely cyklickou skupinu, která má 2 až 8 atomů uhlíku a popřípadě obsahuje 1 až 2 další heteroatomy, zvolené ze souboru, zahrnujícího atom kyslíku, atom síry a atom dusíku a s popřípadnou substitucí jednou nebo více alkylovými nebo alkoxy skupinami, a pokud R<sup>3</sup> obsahuje alespoň 3 atomy uhlíku, X může také být  $-CR^4R^4Y'$ ,

kde každý R<sup>4</sup> je nezávisle zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém a Y' je zvolen ze souboru, zahrnujícího hydroxyl, amino, thiol,  $-OC(O)R^5$ ,  $-SSR^5$ ,  $-SSC(O)R^5$ , kde R<sup>5</sup> je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém,

a s touto podmínkou, že pokud  $R^1$  představuje 3,4-dichlorfenyl,  $R^2$  představuje methyl a  $R^3$  představuje benzyl, odvozený od D-fenylalaninu, potom X nepředstavuje  $-C(O)OCH_3$ .

V souladu s tím se jeden ze způsobových předmětů předloženého vynálezu týká způsobu inhibice uvolňování  $\beta$ -amyloidového peptidu a/nebo jeho syntézy v buňce, přičemž způsob zahrnuje podávání do takové buňky takového množství sloučeniny nebo směsi sloučenin obecného vzorce I uvedeného výše, které je účinné pro inhibici buněčného uvolňování a/nebo syntéza  $\beta$ -amyloidového peptidu.

Protože in vivo vytváření  $\beta$ -amyloidového peptidu je spojeno s patogenezi Alzheimerovy nemoci<sup>8,9</sup>, sloučeniny obecného vzorce I mohou být také použity spolu s farmaceutickou kompozicí pro profylaktickou a/nebo terapeutickou prevenci a/nebo léčbu Alzheimerovy nemoci. V souladu s tím se ve svém dalším předmětu předložený vynález týká profylaktického způsobu prevence vzniku Alzheimerovy nemoci u pacienta s rizikem vzniku Alzheimerovy nemoci, přičemž uvedený způsob zahrnuje podávání uvedenému pacientovi farmaceutické kompozice, obsahující farmaceuticky inertní nosič a účinné množství sloučeniny nebo směsi sloučenin obecného vzorce I uvedeného výše.

Ve svém dalším předmětu se předložený vynález týká terapeutického způsobu léčení pacienta trpícího Alzheimerovou nemocí pro inhibici dalšího zhoršování stavu uvedeného pacienta, přičemž uvedený způsob zahrnuje podávání uvedenému pacientovi farmaceutické kompozice,

obsahující farmaceuticky inertní nosič a účinné množství sloučeniny nebo směsi sloučenin obecného vzorce I uvedeného výše.

V obecném vzorci I uvedeném výše,  $R^1$  substituovaný fenyl jsou výhodně 4-substituované, 3,5-disubstituované nebo 3,4-disubstituované fenylové substituenty, kde substituenty v poloze 3 a/nebo 5 jsou definovány pomocí  $R^b$ ,  $R^b$  výše uvedeným způsobem a substituent v poloze 4 je definován  $R^c$  definovaným výše. Obzvláště výhodné 3,5-disubstituované fenyly zahrnují, uvedeno jako příklad, 3,5-dichlorfenyl, 3,5-difluorfenyl, 3,5-di(trifluormethyl)fenyl, 3,5-dimethoxyfenyl a podobně. Obzvláště výhodné 3,4-disubstituované fenyly zahrnují, uvedeno jako příklad, 3,4-dichlorfenyl, 3,4-difluorfenyl, 3-(trifluormethyl)-4-chlorfenyl, 3-chlor-4-kyanofenyl, 3-chlor-4-jodfenyl, 3,4-methylenedioxyfenyl a podobně. Obzvláště výhodné 4-substituované fenyly zahrnují, uvedeno jako příklad, 4-azidofenyl, 4-bromfenyl, 4-chlorfenyl, 4-kyanofenyl, 4-ethylfenyl, 4-fluorfenyl, 4-jodfenyl, 4-(fenylkarbonyl)fenyl, 4-(1-ethoxy)ethylfenyl a podobně.

Další výhodné substituenty  $R^1$  zahrnují, uvedeno jako příklad, 2-naftyl, chinolin-3-yl, 2-methylchinolin-6-yl, benzothiazol-6-yl, benzothiazol-2-yl, 5-indolyl, fenyl, 2-naftyl a podobně.

Výhodně  $R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylthioalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, aryl, heteroaryl, substituovaný aryl a substituovaný heteroaryl, za předpokladu, že substituenty

nejdou ortho k místu připojení atomu arylu nebo heteroarylu k atomu uhlíku. Obzvláště výhodné substituenty  $R^2$  zahrnují, uvedeno jako příklad, methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, iso-butyl,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ , fenyl a podobně.

Výhodné substituenty  $R^3$  zahrnují alkylové skupiny jako je methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, iso-butyl, sek.-butyl a podobně; substituované alkylové skupiny jako je  $\alpha$ -hydroxyethyl,  $-\text{CH}_2$ -cyklohexyl, benzyl, p-hydroxybenzyl, 3-jod-4-hydroxybenzyl, 3,5-dijod-4-hydroxybenzyl,  $-\text{CH}_2$ -indol-3-yl, fenyl,  $-(\text{CH}_2)_4\text{-NH-BOC}$ ,  $-(\text{CH}_2)_4\text{-NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2$ -(1-N-benzyl-imidazol-4-yl),  $-\text{CH}_2$ -imidazol-4-yl,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC(O)(CH}_2)_4\text{CH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_y\text{C(O)OR}^5$ , kde y je rovno 1 nebo 2 a  $R^5$  představuje atom vodíku, methyl, terc.-butyl, fenyl a podobně.

Výhodné X substituenty zahrnují  $-\text{C(O)Y}$  skupiny, kde Y je methoxy, ethoxy, n-propoxy, iso-propoxy, n-butoxy, iso-butoxy, terc.-butoxy, amino ( $-\text{NH}_2$ ), N-(iso-butyl)amino, N-methylamino, N, N-dimethylamino, N-benzylamino a podobně stejně tak jako X představuje  $-\text{CH}_2\text{OH}$  a podobně.

Předložený vynález se také týká nových farmaceutických kompozic, obsahujících farmaceuticky inertní nosič a sloučeninu obecného vzorce I uvedeného výše .

Obzvláště výhodné sloučeniny pro použití ve způsobech a kompozicích podle předloženého vynálezu zahrnují, uvedeno jako příklad, následující sloučeniny, kde stereochemie  $R^2$  a  $R^3$  skupin je výhodně odvozena od L-aminokyseliny:

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, N-iso-butylamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]threonin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, ethylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, terc.-butylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, amid

N-(3,4-dichlorfenyl)alanin, N-(1-hydroxy-3-methyl-2-butyl)  
amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, N,N-dimethylamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, N-methylamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]alanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]leucin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]fenylalanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]isoleucin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminopentanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]tryptophan, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]aspartová kyselina,  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]aspartová kyselina,  $\beta$ -(terc.-butylester)  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-N-BOC-lysin, methylester

N-[N-benzothiazol-6-yl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]lysin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]tyrosin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]alanin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminopentanová kyselina, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]fenylalanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]aspartová kyselina,  $\beta$ -(methylester)  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-1-benzylhistidin, methylester

08.11.99

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]glutamová kyselina,  $\gamma$ -(terc.-butylester)  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]leucin, amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]glutamová kyselina,  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-(3,5-dijod)tyrosin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-(3-jod)tyrosin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)glycyl]-2-aminopentanová kyselina, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-N $\epsilon$ -(hexanoyl)lysin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]fenylalanin, amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N-methyl)-amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]- $\beta$ -cyklohexylalanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N,N-dimethyl)-amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]methionin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N,N-dimethyl)-amid

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanamid

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N-methyl)-amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]histidin, methylester

N-[N-(chinolin-3-yl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina, methylester

N-[N-(benzothiazol-2-yl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina, methylester

N-[N-(3,5-difluorfenyl)alanyl]alanin, methylester

N-[N-(3,5-difluorfenyl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N-benzyl)-amid

N-IN-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-amino-2-fenylethanol

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)fenylglyciny]alanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanol

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-amino-2-fenylethanol

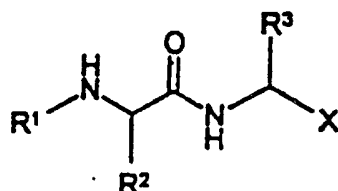
N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-fenylglycin, terc.-butylester

N-[N-(3,5-di-(trifluormethyl)fenyl)alanyl]-fenylglycin, terc.-butylester

N-[N-(3,5-dimethoxyfenyl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina, methylester

a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Ještě dále se předložený vynález týká nových sloučenin obecného vzorce III:



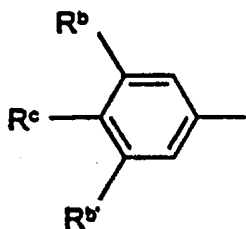
III

ve kterém:

R<sup>1</sup> je zvolen ze souboru, zahrnujícího

(a) fenyl,

(b) substituovanou fenylovou skupinu obecného vzorce II:



## II

ve kterém  $R^c$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny acyl, alkyl, alkoxy, alkylalkoxy, azido, kyano, atom halogenu, atom vodíku, skupiny nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy a kde  $R^b$  a  $R^c$  jsou k sobě kondenzovány a vytvářejí heteroaryl nebo heterocyklický kruh s fenylovým kruhem,

$R^b$  a  $R^{b'}$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu, skupiny nitro, kyano, trihalogenmethyl, alkoxy a thioalkoxy s tou podmínkou, že pokud  $R^c$  je atom vodíku, potom  $R^b$  a  $R^{b'}$  jsou buď oba atom vodíku nebo oba substituenty jiné než atom vodíku

(c) 2-naftyl,

(d) 2-naftyl substituovaný v polohách 4, 5, 6, 7 a/nebo 8 pomocí 1 až 5 substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkoxy, atom halogenu, skupiny kyano, nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy, aryl a heteroaryl,

(e) heteroaryl, a

(f) substituovaný heteroaryl, nesoucí 1 až 3 substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího skupiny alkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, kyano, atom halogenu, skupiny nitro, heteroaryl, thioalkoxy a thioaryloxy, za předpokladu, že uvedené substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení heteroarylu ke skupině  $-NH$  ;

$R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylthioalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, aryl, heteroaryl, substituovaný aryl a substituovaný heteroaryl, za předpokladu, že substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení arylového nebo heteroarylového atomu k atomu uhlíku;

$R^3$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, cykloalkyl, cykloalkenyl, heteroaryl, substituovaný alkyl, substituovaný alkenyl, substituovaný alkynyl a heterocyklický systém;

X představuje  $-C(O)Y$ , kde Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího

- (a) alkyl,
- (b) substituovaný alkyl s tou podmínkou, že substituce na uvedeném substituovaném alkyly nezahrnuje skupiny  $\alpha$ -halogenalkyl,  $\alpha$ -diazalkyl nebo  $\alpha$ -OC(O)alkyl,
- (c) alkoxy nebo thioalkoxy,
- (d) substituovanou skupinu alkoxy nebo substituovanou skupinu thioalkoxy,
- (e) hydroxy,
- (f) aryl,
- (g) heteroaryl,
- (h) heterocyklický systém,
- (i)  $-NR'R''$ , kde  $R'$  a  $R''$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyklický systém a kde  $R'$  a  $R''$  jsou spojeny, aby vytvářely cyklickou skupinu, která má 2 až 8 atomů uhlíku a popřípadě obsahuje 1 až 2 další heteroatomy, zvolené ze souboru, zahrnujícího atom

kyslíku, atom síry a atom dusíku a s popřípadnou substitucí jednou nebo více alkylovými nebo alkoxy skupinami, a pokud  $R^3$  obsahuje alespoň 3 atomy uhlíku, X může také být  $-CR^4R^4Y'$ ,

kde každý  $R^4$  je nezávisle zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém a  $Y'$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího hydroxyl, amino, thiol,  $-OC(O)R^5$ ,  $-SSR^5$ ,  $-SSC(O)R^5$ , kde  $R^5$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém,

a s tou podmínkou, že pokud  $R^1$  představuje 3,4-dichlorfenyl,  $R^2$  představuje methyl a  $R^3$  představuje benzyl, odvozený od D-fenylalaninu, potom X nepředstavuje  $-C(O)OCH_3$

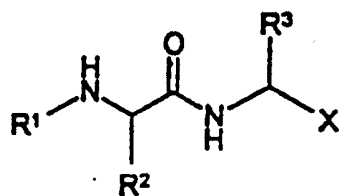
a navíc také s podmínkou, že jsou vyloučeny následující známé sloučeniny:

pokud  $R^1$  představuje fenyl,  $R^2$  představuje methyl, X představuje  $-C(O)NH\Phi$ , potom  $R^3$  nepředstavuje methyl, isopropyl, iso-butyl; a

pokud  $R^1$  představuje fenyl,  $R^2$  představuje methyl, X představuje  $-C(O)NH_2$ , potom  $R^3$  nepředstavuje benzyl.

Výhodné sloučeniny obecného vzorce III uvedeného výše zahrnují sloučeniny, které jsou uvedeny v Tabulce I, která následuje:

08.11.99



III

Tabulka I

| R <sup>1</sup>    | R <sup>2</sup>   | R <sup>3</sup>                                       | X                                                        |
|-------------------|------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                   | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                   | -C(O)NHCH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH(OH)CH <sub>3</sub>                               | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                   | -C(O)OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                   | -C(O)OC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>                   |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                   | -C(O)NH <sub>2</sub>                                     |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                   | -CH <sub>2</sub> OH                                      |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                   | -C(O)N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                   | -C(O)NHCH <sub>3</sub>                                   |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>3</sub>                                     | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>   | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> -φ                                  | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH(CH <sub>3</sub> )CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>     | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>     | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> -indol-3-yl                         | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> COOH                                | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> C(O)O- <i>tert</i> -butyl           | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -NH-BOC             | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| benzothiazol-6-yl | -CH <sub>3</sub> | -(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>     | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> NH <sub>2</sub>     | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | <i>p</i> -hydroxybenzyl                              | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,5-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>3</sub>                                     | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |
| 3,5-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>     | -C(O)OCH <sub>3</sub>                                    |

| R <sup>1</sup>    | R <sup>2</sup>   | R <sup>3</sup>                                                                         | X                                     |
|-------------------|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 3,5-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> -φ                                                                    | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> C(O)OCH <sub>3</sub>                                                  | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> -(1-N-benzyl-imidazol-4-yl)                                           | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> C(O)O- <i>tert</i> -Bu                                | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                                     | -C(O)NH <sub>2</sub>                  |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH                                                  | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> -(3,5-dijod-4-hydroxyfenyl)                                           | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> -(3-jod-4-hydroxyfenyl)                                               | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| 3,4-dichlorfenyl  | H                | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>                                       | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> NC(O)-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> -φ                                                                    | -C(O)NH <sub>2</sub>                  |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>                       | -C(O)NHCH <sub>3</sub>                |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> -cyklohexyl                                                           | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>                                       | -C(O)NH <sub>2</sub>                  |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>3</sub>                                       | -C(O)N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> SCH <sub>3</sub>                                      | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| 3,5-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>                       | -C(O)N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> |
| 3,5-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>                       | -C(O)NH <sub>2</sub>                  |
| 3,5-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>                       | -C(O)NHCH <sub>3</sub>                |
| 3,4-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> -imidazol-4-yl                                                        | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| chinolin-3-yl     | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>                       | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| benzothiazol-2-yl | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>                       | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |
| 3,5-dichlorfenyl  | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>3</sub>                                                                       | -C(O)OCH <sub>3</sub>                 |

| R <sup>1</sup>                | R <sup>2</sup>   | R <sup>3</sup>                                                   | X                                      |
|-------------------------------|------------------|------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 3,5-difluorfenyl              | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | -C(O)OCH <sub>3</sub>                  |
| 3,4-dichlorfenyl              | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | -C(O)NH <sub>2</sub>                   |
| 3,4-dichlorfenyl              | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | -C(O)NHCH <sub>2</sub> -φ              |
| 3,4-dichlorfenyl              | -CH <sub>3</sub> | -φ                                                               | -CH <sub>2</sub> OH                    |
| 3,5-dichlorfenyl              | -φ               | -CH <sub>3</sub>                                                 | -C(O)OCH <sub>3</sub>                  |
| 3,4-dichlorfenyl              | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> OH                    |
| 3,5-dichlorfenyl              | -CH <sub>3</sub> | -φ                                                               | -CH <sub>2</sub> OH                    |
| 3,5-dichlorfenyl              | -CH <sub>3</sub> | -φ                                                               | -C(O)OC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> |
| 3,5-di-(trifluor-methyl)fenyl | -CH <sub>3</sub> | -φ                                                               | -C(O)OC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> |
| 3,5-dimethoxy-fenyl           | -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | -C(O)OCH <sub>3</sub>                  |

#### Detailní popis předloženého vynálezu

Jak bylo uvedeno výše předložený vynález se týká sloučeniny, které inhibují uvolňování β-amyloidového peptidu a/nebo jeho syntézy a v souladu s tím je možné je použít při léčení Alzheimerovy nemoci. Předtím, než bude předložený vynález dále detailněji popsán, budou nejprve definovány následující výrazy.

#### Definice

Výraz "β-amyloidový peptid" se vztahuje k peptidu o 39-43 aminokyselinách, který má molekulovou hmotnost přibližně 4,2 kD přičemž tento peptid je v zásadě homologický té formě proteinu, kterou popsal Glenner a kol.<sup>1</sup>, v to počítaje mutace a post-translační modifikace normálního β-amyloidového peptidu. Ať se nachází v jakékoli podobě, β-amyloidový peptid je fragment většího transmembránového

glykoproteinu s přibližně 39-43 aminokyselinami, který je označován jako  $\beta$ -amyloidový prekursorový protein (APP). Jeho sekvence 43-aminokyselin je následující:

1

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr

11

Glu Val His His Gln Lys Leu Val Phe Phe

21

Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala

31

Ile Ile Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val

41

Ile Ala Thr (SEQ ID NO: 1)

nebo sekvence, která je této sekvenci v zásadě homologická.

"Alkyl" se vztahuje k monovalentním alkylovým skupinám, které výhodně obsahují od 1 do 10 atomů uhlíku a výhodněji 1 až 6 atomů uhlíku. Jako příklady tohoto výrazu je možno uvést skupiny jako jsou methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, iso-butyl, n-butyl a podobně.

"Substituovaný alkyl" se vztahuje k alkylové skupině, výhodně obsahující od 1 do 10 atomů uhlíku, která má 1 až 3 substituenty zvolené ze souboru, zahrnujícího alkoxy, substituovanou skupinu alkoxy, acyl, acylamino, acyloxy, amino, aminoacyl, aminoacyloxy, skupinu kyano, halogen,

hydroxyl, karboxyl, karboxylalkyl, cykloalkyl, oxyacylamino, thiol, thioalkoxy, substituovanou skupinu thioalkoxy, aryl, heteroaryl, heterocyklický systém, skupinu nitro a mono- a di-alkylamino, mono- a di-(substituovaný alkyl)amino, mono- a di-cykloalkylamino, mono- a di-arylamino, mono- a di-heteroaryl-amino, mono- a di-heterocyklickou aminovou skupinu a nesymetrické di-substituované aminy, které mají různý počet substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém.

"Alkylen" se vztahuje k divalentním alkylenovým skupinám, které výhodně obsahují od 1 do 10 atomů uhlíku a výhodněji 1 do 6 atomů uhlíku. Tento výraz je představován skupinami jako je methylen ( $-\text{CH}_2-$ ), ethylen ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ), isomery propylenu (například  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$  a  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ ) a podobně.

"Alkaryl" se vztahuje k -alkylen-arylovým skupinám, které výhodně obsahují od 1 do 10 atomů uhlíku v alkylenové části a od 6 do 10 atomů uhlíku v arylové části. Takové alkarylovy skupiny jsou například benzyl, fenethyl a podobně.

"Alkoxy" se vztahuje ke skupině "alkyl-O-". Výhodné alkoxy skupiny zahrnují, uvedeno jako příklad, methoxy, ethoxy, n-propoxy, iso-propoxy, n-butoxy, terc.-butoxy, sek.-butoxy, n-pentoxy, n-hexoxy, 1,2-dimethylbutoxy a podobně.

"Substituovanou skupinu alkoxy skupina" se vztahuje ke skupině "substituovaný alkyl-O-", kde substituovaný alkyl má stejný význam, jaký byl definován výše.

"Alkylalkoxy" se vztahuje ke skupině "-alkylen-O-alkyl", kde alkylen a alkyl mají význam, který byl definován výše. Takové skupiny zahrnují, uvedeno jako příklad, methylenmethoxy ( $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), ethylenmethoxy ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ ), n-propylen-iso-propoxy ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ ), methylen-terc.-butoxy ( $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ) a podobně.

"Alkylthioalkoxy" se vztahuje ke skupině "-alkylen-S-alkyl", kde alkylen a alkyl mají význam, který byl definován výše. Takové skupiny zahrnují, uvedeno jako příklad, methylenthioethoxy ( $-\text{CH}_2\text{SCH}_3$ ), ethylenthioethoxy ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ ), n-propylen-iso-thiopropoxy ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}(\text{CH}_3)_2$ ), methylenthio-terc.-butoxy ( $-\text{CH}_2\text{SC}(\text{CH}_3)_3$ ) a podobně.

"Alkenyl" se vztahuje k alkenylovým skupinám, které výhodně obsahují od 2 do 10 atomů uhlíku a výhodněji 2 do 6 atomů uhlíku a mají alespoň 1 a výhodně 1-2 místa alkenylového nenasycení. Výhodné alkenylové skupiny zahrnují ethenyl ( $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ), n-propenyl ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), iso-propenyl ( $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$ ) a podobně.

"Substituovaný alkenyl" se vztahuje k alkenylové skupině jako bylo definováno výše, která má od 1 do 3 substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího alkoxy, substituovanou skupinu alkoxy, acyl, acylamino, acyloxy, amino, aminoacyl, aminoacyloxy, skupinu kyano, cykloalkyl, oxyacylamino, halogen, hydroxyl, karboxyl, karboxylalkyl, thiol, thioalkoxy, substituovanou skupinu thioalkoxy, aryl, heteroaryl, heterocyklický systém, skupinu nitro a mono- a di-alkylamino, mono- a di-(substituovaný alkyl)amino, mono-

a di-cykloalkyl, mono- a di-arylamino, mono- a di-heteroarylamino, mono- a di-heterocyklickou aminovou skupinu a nesymetrické di-substituované aminy, které mají různé substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém.

"Alkynyl" se vztahuje k alkynylovým skupinám, které výhodně obsahují od 2 do 10 atomů uhlíku a výhodněji 2 do 6 atomů uhlíku a mají alespoň 1 a výhodně 1-2 místa alkynylového nenasycení. Výhodný alkynylové skupiny zahrnují ethynyl ( $\text{C}\equiv\text{CH}$ ), propargyl ( $\text{-CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ) a podobně.

"Substituovaný alkynyl" se vztahuje k alkynylové skupině jako bylo definováno výše, která má 1 do 3 substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího alkoxy, substituovanou skupinu alkoxy, acyl, acylamino, acyloxy, amino, aminoacyl, aminoacyloxy, skupinu kyano, cykloalkyl, oxyacylamino, halogen, hydroxyl, karboxyl, karboxylalkyl, thiol, thioalkoxy, substituovanou skupinu thioalkoxy, aryl, heteroaryl, heterocyklický systém, skupinu nitro a mono- a di-alkylamino, mono- a di-(substituovaný alkyl)amino, mono- a di-cykloalkylamino, mono- a di-arylamino, mono- a di-heteroarylamino, mono- a di-heterocyklická aminová skupina a nesymetrické di-substituované aminy, které mají různé substituenty zvolené ze souboru, zahrnujícího alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém.

"Acyl" se vztahuje ke skupinám alkyl-C(O)-, substituovaný alkyl-C(O)-, cykloalkyl-C(O)-, aryl-C(O)-, heteroaryl-C(O)- a heterocykl-C(O)-, kde alkyl, substituovaný alkyl,

cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém mají význam, který byl definován výše.

"Acylamino" se vztahuje ke skupině  $-C(O)NRR$ , kde každý R je nezávisle atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém a kde každý alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém mají význam, který byl definován výše.

"Aminoacyl" se vztahuje ke skupině  $-NRC(O)R$ , kde každý R je nezávisle atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém a kde každý alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém mají význam, který byl definován výše.

"Acyloxy" se vztahuje ke skupinám  $-OC(O)$ -alkyl,  $-OC(O)$ -substituovaný alkyl,  $-OC(O)$ -cykloalkyl,  $-OC(O)$ -aryl,  $-C(O)O$ -heteroaryl- a  $-C(O)O$ -heterocyklický systém, kde alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém mají význam, který byl definován výše.

"Aminoacyloxy" se vztahuje ke skupinám  $-NRC(O)O$ -alkyl,  $-NRC(O)O$ -substituovaný alkyl,  $-NRC(O)O$ -cykloalkyl,  $-NRC(O)O$ -aryl,  $-NRC(O)O$ -heteroaryl- a  $-NRC(O)O$ -heterocyklický systém, kde R je atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém a kde každý alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém mají význam, který byl definován výše .

"Oxyacylamino" se vztahuje ke skupinám  $\text{-OC(O)NR-alkyl}$ ,  $\text{-OC(O)NR-}$  substituovaný alkyl,  $\text{-OC(O)NR-aryl}$ ,  $\text{-OC(O)NR-heteroaryl-}$  a  $\text{-OC(O)NR-}$  heterocyklický systém, kde R je atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém a kde každý alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém mají význam, který byl definován výše.

"Aryl" se vztahuje k nenasycené aromatické karbocyklické skupině, která obsahuje od 6 do 14 atomů uhlíku, které mají jednoduchý kruh (například fenyl) nebo více kondenzovaných kruhů (například naftyl nebo anthryl). Výhodné aryly zahrnují fenyl, naftyl a podobně.

Pokud není jinak omezeno definicí arylového substituentu, pak takové arylové skupiny mohou být popřípadě substituovány 1 až 3 substituenty, zvolenými ze souboru, zahrnujícího hydroxy, acyl, acyloxy, alkyl, substituovaný alkyl, alkoxy, substituovanou skupinu alkoxy, alkenyl, substituovaný alkenyl, alkinyl, substituovaný alkinyl, amino, aminoacyl, acylamino, aminoacyloxy, oxyacylamino, aryl, aryloxy, karboxyl, karboxylalkyl, skupinu kyano, atom halogenu, skupinu nitro, heteroaryl, trihalogenmethyl, thioalkoxy, substituovanou skupinu thioalkoxy, mono- a di-alkylamino, mono- a di-(substituovaný alkyl)amino, mono- a di-cykloalkylamino, mono- a di-arylamino, mono- a di-heteroarylamino, mono- a di-heterocyklickou aminovou skupinu a nesymetrické di-substituované aminy, které mají různé substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a

heterocyklický systém, a podobně. Výhodné substituenty zahrnují alkyl, alkoxy, atom halogenu, skupinu kyano, skupinu nitro, trihalogenmethyl a thioalkoxy. Pokud jsou takto substituované, takové arylové skupiny jsou někdy označovány jako "substituovaný aryl".

"Aryloxy" se vztahuje ke skupině aryl-O-, kde arylová skupina je jako bylo definováno výše, v to počítaje popřípadě substituované arylové skupiny jako bylo také definováno výše.

"Karboxyalkyl" se vztahuje ke skupinám -C(O)O-alkyl a -C(O)O-substituovaný alkyl, kde alkyl a substituovaný alkyl mají význam, který byl definován výše .

"Cykloalkyl" se vztahuje k cyklickým alkylovým skupinám, obsahujícím od 3 do 20 atomů uhlíku, které mají jednoduchý cyklický kruh nebo více kondenzovaných kruhů (v to počítaje aromatické kruhy kondenzované k cykloalkylovému kruhu), které mohou být popřípadě substituovány 1 až 3 alkylovými skupinami. Takové cykloalkylové skupiny zahrnují, uvedeno jako příklad, jednoduché kruhové struktury jako je cyklopropyl, cyklobutyl, cyklopentyl, cyklooktyl, 1-methylcyklopropyl, 2-methylcyklopentyl, 2-methylcyklooktyl a podobně nebo vícenásobné kruhové struktury jako je dibenzosuberan, adamantanyl a podobně.

"Cykloalkenyl" se vztahuje k cyklickým alkenylovým skupinám, obsahujícím od 4 do 8 atomů uhlíku, které mají jednoduchý cyklický kruh nebo více kondenzovaných kruhů a alespoň jedno místo vnitřního nenasycení, které mohou být popřípadě substituovány 1 až 3 alkylovými skupinami.

Příklady vhodných cykloalkenylové skupiny zahrnují například cyklobut-2-enyl, cyklopent-3-enyl, cyklookt-3-enyl a podobně.

"Halo" nebo "halogen" se vztahuje k atomu fluoru, atomu chloru, atomu bromu a atomu jodu a výhodně buď k atomu chloru nebo atomu bromu.

"Heteroaryl" se vztahuje k monovalentní aromatic skupině od 2 do 10 atomů uhlíku a 1 až 4 heteroatomů, zvolených ze souboru, zahrnujícího atom kyslíku, atom dusíku a atom síry, uvnitř kruhu.

Pokud není jinak omezeno definicí heteroarylového substituentu, takové heteroarylové skupiny mohou být popřípadě substituovány 1 až 3 substituenty, zvolenými ze souboru, zahrnujícího hydroxy, acyl, acyloxy, alkyl, substituovaný alkyl, alkoxy, substituovanou skupinu alkoxy, alkenyl, substituovaný alkenyl, alkinyl, substituovaný alkinyl, amino, aminoacyl, acylamino, aminoacyloxy, oxyacylamino, aryl, aryloxy, karboxyl, karboxylalkyl, skupinu kyano, atom halogenu, skupinu nitro, heteroaryl, trihalogenmethyl, thioalkoxy, substituovanou skupinu thioalkoxy, mono- a di- alkylamino, mono- a di- (substituovaný alkyl)amino, mono- a di- cykloalkylamino, mono- a di-arylamino, mono- a di-heteroarylamino, mono- a di-heterocyklickou aminovou skupinu a nesymetrické di-substituované aminy, které mají různé substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém, a podobně. Takové heteroarylové skupiny mohou mít jednoduchý kruh (například pyridyl, furyl a podobně) nebo více

kondenzovaných kruhů (například indoliziny nebo benzothienyl). Výhodné heteroaryly zahrnují pyridyl, pyrrolyl a furyl. Pokud jsou takto substituovány, takové heteroarylové skupiny jsou někdy označovány jako "substituovaný heteroaryl".

"Heterocykl" nebo "heterocyklický systém" se vztahuje k monovalentní nasycené nebo nenasycené skupině, která má jednoduchý kruh nebo více kondenzovaných kruhů, od 1 do 12 atomů uhlíku a od 1 do 4 heteroatomů, zvolených ze souboru, zahrnujícího atom dusíku, atom síry nebo atom kyslíku, uvnitř kruhu.

Pokud není jinak omezeno definicí heterocyklického substituentu, takové heterocyklické skupiny mohou být popřípadě substituovány 1 až 3 substituenty, zvolenými ze souboru, zahrnujícího hydroxy, acyl, acyloxy, alkyl, substituovaný alkyl, alkoxy, substituovanou skupinu alkoxy, alkenyl, substituovaný alkenyl, alkinyl, substituovaný alkinyl, amino, aminoacyl, acylamino, aminoacyloxy, oxyacylamino, aryl, aryloxy, karboxyl, karboxylalkyl, skupinu kyano, atom halogenu, skupinu nitro, heteroaryl, trihalogenmethyl, thioalkoxy, substituovanou skupinu thioalkoxy, mono- a di-alkylamino, mono- a di-(substituovaný alkyl)amino, mono- a di-arylamino, mono- a di-heteroarylamino, mono- a di-heterocyklickou aminovou skupinu a nesymetrické di-substituované aminy, které mají různé substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém, a podobně. Takové heterocyklické skupiny mohou mít jednoduchý kruh nebo více kondenzovaných

kruhů. Výhodné heterocyklické systémy zahrnují morfolino, piperidiny a podobně.

Příklady heterocyklů a heteroarylů zahrnují, aniž by tím byly omezeny, furan, thiofen, thiazol, oxazol, pyrrol, imidazol, pyrazol, pyridin, pyrazin, pyrimidin, pyridazin, indolizin, isoindol, indol, indazol, purin, chinolizin, isochinolin, chinolin, ftalazin, naftylpyridin, chinoxalin, chinazolin, cinnolin, pteridin, karbazol, karbolin, fenanthridin, akridin, fenanthrolin, isothiazol, fenazin, isoxazol, fenoxazin, fenothiazin, imidazolidin, imidazolin, piperidin, piperazin, indolin, ftalimide, 1,2,3,4-tetrahydroisochinolin, 4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]thiofen, thiazol, thiazolidin, thiofen, benzo[b]thiofen, morfolino, piperidiny, pyrrolidin, tetrahydrofuran a podobně.

"Thiol" se vztahuje ke skupině -SH.

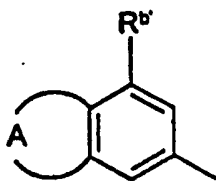
"Thioalkoxy" se vztahuje ke skupině -S-alkyl.

"Substituovaná skupina thioalkoxy" se vztahuje ke skupině -S-substituovaný alkyl.

"Thioaryloxy" se vztahuje ke skupině aryl-S-, kde arylová skupina je jako bylo definováno výše, v to počítaje popřípadě substituované arylové skupiny jako bylo také definováno výše.

"Thioheteroaryloxy" se vztahuje ke skupině heteroaryl-S-, kde heteroarylová skupina je jako bylo definováno výše, v to počítaje popřípadě substituované arylové skupiny jako bylo také definováno výše.

Ve sloučeninách obecného vzorce I,  $R^b$  a  $R^c$  mohou být kondenzovány a vytvářet heteroarylový nebo heterocyklický kruh Kondenzace tohoto typu vede ke kondenzované bicyklické kruhové struktuře obecného vzorce:



ve kterém  $R^b$  je jako bylo definováno výše a A je kondenzovaná heteroarylová nebo heterocyklická skupina v tom smyslu, ve kterém tyto výrazy byly definováno výše, kde dva atomy fenylového kruhu jsou zahrnuty mezi atomy přítomné v heteroarylové nebo heterocyklické skupině. Příklady takových kondenzovaných systémů kruhů zahrnují například indol-5-yl, indol-6-yl, thionaftern-5-yl, thionaftern-6-yl, isothionaftern-5-yl, isothionaftern-6-yl, indoxazin-5-yl, indoxazin-6-yl, benzoxazol-5-yl, benzoxazol-6-yl, anthranil-5-yl, anthranil-6-yl, chinolin-6-yl, chinolin-7-yl, isochinolin-6-yl, isochinolin-7-yl, cinnolin-6-yl, cinnolin-7-yl, chinazolin-6-yl, chinazolin-7-yl, benzofuran-5-yl, benzofuran-6-yl, isobenzofuran-5-yl, isobenzofuran-6-yl a podobně.

"Farmaceuticky přijatelné sůl" se vztahuje k farmaceuticky přijatelné soli sloučeniny obecného vzorce I, kde soli jsou odvozeny od řady organických a anorganických iontů dobře známých ze stavu techniky a zahrnují, uvedeno pouze jako

příklad, ionty sodíku, draslíku, vápníku, hořčíku, amonium, tetraalkylamonium a podobně; a pokud molekula obsahuje bázeckou funkční skupinu, soli organických nebo anorganických kyselin, jako je hydrochlorid, hydrobromid, tartarát, mesylát, octan, maleát, oxalát a podobně.

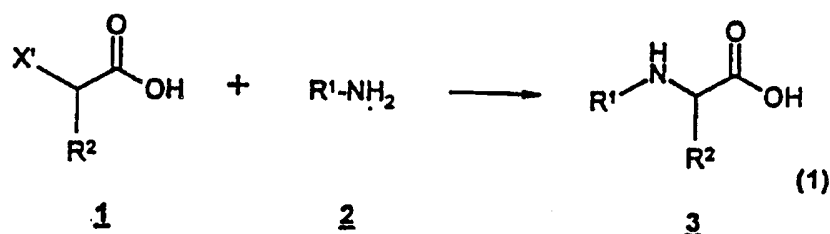
#### Příprava sloučenin

Sloučeniny obecného vzorce I uvedeného výše je možné snadno připravit několika divergentními syntetickými cestami, přičemž konkrétní cesta je zvolena vzhledem k obtížnosti přípravy sloučeniny, komerční dostupnosti výchozích materiálů a podobně.

V jednom způsobu syntézy se  $R^1$  skupina aminokyseliny  $NH_2CH(R^2)COOH$  nebo jejího esteru nejprve uvede do molekuly. Potom se konvenční kopulací první sloučeniny  $R^1NHCH(R^2)COOH$  nebo jejího esteru s aminem  $NH_2CH(R^3)C(O)Y$  získají sloučeniny obecného vzorce I, ve kterém X představuje  $-C(O)Y$ .

Podobně konvenční redukce skupiny  $-C(O)Y$  vede na skupiny  $-CH_2OH$  a podobně.

Zavedení  $R^1$  skupiny do aminokyseliny  $NH_2CH(R^2)COOH$  nebo jejího esteru může být dosaženo použitím řady způsobů. Například konvenční kopulace halogenované octové kyseliny s primárním aminem vytvoří aminokyselinu, jak je znázorněno v reakci (1), která následuje:



ve kterém  $\text{R}^1$  a  $\text{R}^2$  mají význam, který byl definován výše a  $\text{X}'$  představuje výhodně halogenovou skupinu jako je atom chloru nebo atom bromu. Alternativně mohou být použity jiné odštěpitelné skupiny než atom halogenu, jako je triflát, mesylát, tosylát a podobně. Kromě toho mohou být v této reakci použity vhodné estery sloučeniny 1.

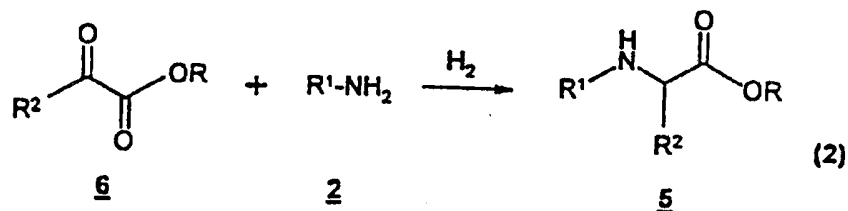
Reakce (1) zahrnuje kopulaci vhodného haloderivátu 1 octové kyseliny s primárním arylem/heteroarylamínem 2 za podmínek, které vedou k získání aminokyseliny 3. Tato reakce je popsána například v Yates a kol.<sup>10</sup> a postupuje tak, že se zkombinují přibližně stechiometrické ekvivalenty halogenoctové kyseliny 1 s primárním arylem/heteroarylamínem 2 ve vhodném inertním ředidle jako je voda, dimethylsulfoxid (DMSO) a podobně. Reakce používá přebytek vhodné báze jako je hydrogenuhličitan sodný, hydroxid sodný a podobně pro vychytávání kyseliny generované reakcí. Reakce je výhodně prováděna při teplotě od přibližně 25 °C do přibližně 100 °C až do ukončení reakce, což obvykle nastává po uplynutí doby od 1 do přibližně 24 hodin. Tato reakce je dále popsána v U.S. Patenta č. 3,598,859, který je zde zahrnut ve své celistvosti jako reference. Po ukončení reakce se N-aryl/N-

heteroarylová aminokyselina 1 izoluje obvyklými způsoby, v to počítaje precipitaci, chromatografii, filtraci a podobně.

V reakci (1) je každý z reagentů (halogenoctová kyselina 1, primární aryl/heteroarylamin 2 a alkohol 3) dobře známý ze stavu techniky a mnoho z nich je komerčně dostupných.

V alternativním provedení předloženého vynálezu může být skupina  $R^1$  kopulována k alaninesteru (nebo jinému vhodnému esteru aminokyseliny) konvenční N-arylací. Například může být rozpuštěn stechiometrický ekvivalent nebo mírný přebytek esteru aminokyseliny ve vhodném ředidle jako je DMSO a kopulován s haloarylovou sloučeninou,  $X-R^1$ , kde X představuje halogenovou skupinu jako je atom fluoru, atom chloru nebo atom bromu a  $R^1$  má význam definovaný výše. Reakce je prováděna v přítomnosti přebytku báze jako je hydroxid sodný pro vychytávání kyseliny generované reakcí. Reakce typicky postupuje při teplotě od 15 °C do přibližně 250 °C a je dokončena za přibližně 1 až 24 hodin. Po ukončení reakce se N-aryl ester aminokyseliny izoluje obvyklými způsoby, v to počítaje chromatografii, filtraci a podobně.

V ještě dalším alternativním provedení předloženého vynálezu, může být esterifikovaná aminokyselina obecného vzorce I uvedeného výše připravena redukční aminací vhodného esteru 2-oxokarboxylové kyseliny (jako je pyruvátový ester) způsobem znázorněným v reakci (2), která následuje:



ve kterém  $\text{R}^1$  a  $\text{R}^2$  mají význam, který byl definován výše.

V reakci (2) se přibližně stechiometrické ekvivalenty esteru 6 2-oxokarboxylové kyseliny a arylaminu 2 kombinují v inertním ředidle jako je methanol, ethanol a podobně a reakční roztok se zpracovává za podmínek, které vedou k vytvoření iminu (není znázorněno). Vytvořený imin je potom redukován za obvyklých podmínek vhodným redukčním činidlem jako je kyanoborohydrid sodný,  $\text{H}_2$ /paládium na aktivním uhlí a podobně pro vytvoření N-arylesteru 5 aminokyseliny. V obzvláště výhodném provedení předloženého vynálezu je redukčním činidlem  $\text{H}_2$ /paládium na aktivním uhlí, které je přidáno do výchozího reakčního prostředí, což umožňuje redukcí iminu in situ v jedné in situ proceduře a tím se získá N-aryl ester 5 aminokyseliny.

Reakce se výhodně provádí při teplotě od přibližně 20 °C do přibližně 80 °C při tlaku od 1 do 10 atmosfér až do ukončení reakce, což obvykle nastává po uplynutí doby od 1 do přibližně 24 hodin. Po ukončení reakce se N-arylester 5 aminokyseliny je izoluje obvyklými způsoby, v to počítaje chromatografií, filtraci a podobně.

Následná hydrolýza esteru 5 vede k získání odpovídající derivátu karboxylové kyseliny.

Další provedení předloženého vynálezu pro přípravu N-arylových aminokyselin zahrnuje aromatickou nukleofilní substituci fluorbenzenů aminovou skupinou aminokyseliny.

Derivát 5 karboxylové kyseliny je potom kopulován za obvyklých podmínek dobře známých ze stavu techniky se sloučeninou obecného vzorce  $\text{NH}_2\text{CH}(\text{R}^3)\text{C}(\text{O})\text{Y}$ , kde  $\text{R}^3$  a Y mají význam, který byl definován výše. Taková kopulace vede k vytvoření sloučenin obecného vzorce I. Následné modifikace (například redukce) vedou k vytvoření dalších sloučenin obecného vzorce I.

Pokud Y je esterová skupina, konvenční transesterifikační techniky mohou být použity pro přípravu mnoha různých esterových skupin na sloučeninách obecného vzorce I. Četné techniky jsou známy ze stavu techniky pro provádění transesterifikace a každý takový způsob pouze nahrazuje esterovou skupinu odlišnou esterovou skupinou odvozenou od odpovídajícího alkoholu nebo thioalkoholu a v některých případech je použit katalyzátor jako je iso-propoxid titaničitý pro usnadnění dokončení reakce. V jednom způsobu se alkohol nebo thioalkohol nejprve zpracovává hydridem sodným ve vhodném ředidle jako je toluen pro vytvoření odpovídajícího sodného alkoxidu nebo thioalkoxidu, který je potom použit pro provedení transesterifikace. Účinnost této techniky ji tvoří obzvláště užitečnou při použití vysokovroucích a/nebo drahých alkoholů.

V jiné transesterifikační technice se ester, který má být transesterifikován, umístí do velkého přebytku alkoholu nebo thioalkoholu, který provádí transesterifikaci. Potom se přidá katalytické množství hydridu sodného a reakce postupuje za obvyklých podmínek rychle a tím se získá požadovaný transesterifikovaný produkt. Protože tento protokol vyžaduje použití velkého přebytku alkoholu nebo thioalkoholu, tato procedura je obzvláště užitečná, pokud alkohol je laciný.

Transesterifikace přináší snadný prostředek, jak získat množství různých esterových substituentů na sloučeninách obecného vzorce I uvedeného výše. Ve všech případech jsou alkoholy a thioalkoholy, použité k provádění transesterifikace, dobře známé ze stavu techniky a velké množství z nich je komerčně dostupných.

Další způsoby přípravy esterů podle předloženého vynálezu zahrnuje, uvedeno jako příklad, nejprve hydrolýzu esteru na volnou kyselinu, následovanou O-alkylací například halogenalkylové skupiny v přítomnosti báze jako je uhličitán draselný.

Další způsoby přípravy sloučenin obecného vzorce I jsou podány v příkladech uvedených níže.

Sloučeniny, kde X představuje  $-CR^4R^4Y'$  se snadno připraví kopulací například aminoalkoholu  $H_2NCHR^3CR^4R^4OH$  ke karboxylové skupině sloučeniny  $R^1NHCHR^2C(O)OH$  za standardních kopulačních podmínek dobře známých v peptidové kopulační chemii, které mohou používat dobře známých kopulačních reagentů, jako jsou karbodiimidy, se současným

použitím dobře známých aditiv, jako je N-hydroxysukcinimid, 1-hydroxybenzotriazol a podobně. Je-li to nutné, mohou být použity dobře známé blokuující skupiny na Y' pro ochranu této skupiny v průběhu kopulace. Takové blokuující skupiny jsou obzvláště žádoucí, pokud Y' je aminová skupina.

Reakce se běžně provádí v inertním aprotickém ředidle jako je dimethylformamid, dichlormethan, chloroform, acetonitril, tetrahydrofuran a podobně. Po ukončení reakce se všechny blokuující skupiny na Y' selektivně odstraní a tím se získá požadovaná sloučenina.

Pokud Y' představuje -OH nebo -SH, post-syntetická přeměna těchto skupin na odpovídající estery (to jest  $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^5$ ), disulfidy (to jest  $-\text{SSR}^5$ ) a  $-\text{SSC}(\text{O})\text{R}^5$  skupiny docáhne použitím dobře známých chemických postupů. Například syntéza esteru vyžaduje pouze reakci s vhodnou kyselinou jako je octová kyselina ( $\text{R}^7 = \text{methyl}$ ), kyselý halid (například kyselý chlorid) nebo anhydrid kyseliny za vhodných esterifikačních podmínek.

Pokud jedna ze skupin  $\text{R}^4$  je atom vodíku, post-syntetická oxidace skupiny  $-\text{CHR}^4\text{OH}$  vede k vytvoření ketonových derivátů. Alternativně mohou být takové ketony připraveny kopulací vhodného aminoketonu . HCl sůl s koncovou karboxylovou skupinou aminokyseliny.

V těchto způsobech syntézy mohou výchozí materiály zahrnovat chirální centrum (například alanin) a pokud je použit racemický výchozí materiál, výsledný produkt je směs diastereomerů nebo R,S enantiomerů. Alternativně může být použit chirální isomer výchozího materiálu a jestliže

použitý reakční protokol neracemizuje tento výchozí materiál, získá se chirální produkt. Takové reakční protokoly mohou zahrnovat inverzi chirálního centra v průběhu syntézy.

V souladu s tím, pokud není uvedeno jinak, produkty podle předloženého vynálezu jsou směsí diastereomerů (jestliže jsou přítomna dvě nebo více chirálních center) nebo R,S enantiomerů (jestliže pouze jedno chirální centrum je přítomno). Pokud je však požadován chirální produkt, pak chirální produkt výhodně odpovídá L-aminokyselinovému derivátu. Alternativně chirální produkty mohou být získány purifikačními způsoby, které separují diastereomery nebo enantiomery z R,S směsi a tím se získá jeden nebo druhý stereoisomer. Takové techniky jsou dobře známy ze stavu techniky.

#### Farmaceutické přípravky

Pokud jsou používány farmaceuticky, jsou sloučeniny obecného vzorce I obvykle podávány ve formě farmaceutických kompozic. Tyto sloučeniny mohou být podávány řadou různých cest, které zahrnují cestu orální, rektální, transdermální, subkutánní, intravenózní, intramuskulární a intranasální. Tyto sloučeniny jsou účinné jako injektovatelné i jako orální kompozice. Takové kompozice mohou být připraveny způsobem dobře známým ve farmaceutickém oboru a obsahují alespoň jednu účinnou sloučeninu.

Tento vynález se také týká farmaceutických kompozic, které obsahují jako účinnou složku jednu nebo více sloučenin obecného vzorce I uvedeného výše spolu s farmaceuticky

přijatelným nosičem. Při vytváření kompozic podle předloženého vynálezu se účinná složka obvykle smísí s excipientem, zředí excipientem nebo se obklopí takovým nosičem, který může být ve formě kapslí, oplatek, sáčků nebo jiných obalů. Pokud excipient slouží jako ředidlo, může být představován pevným, polotuhým nebo kapalným materiálem, který slouží jako vehikulum, nosič nebo médium pro účinnou složku. Kompozice tedy může být ve formě tablet, pilulek, prášků, pastilek, sáčků, oplatek, elixírů, suspenzí, emulzí, roztoků, sirupů, aerosolů (ve formě pevné látky nebo v kapalném médiu), mastí, obsahujících například až do 10% hmotnostních účinné sloučeniny, měkkých a tvrdých želatinových kapslí, čípků, sterilních injektovatelných roztoků a sterilně balených prášků.

Při přípravě přípravku může být nutné rozemlít účinnou sloučeninu, aby bylo dosaženo odpovídající velikosti částic před jejich kombinací s dalšími složkami. Pokud je účinná sloučenina v zásadě nerozpustná, je obvykle rozemleta na velikost částic menší než 200 mesh. Jestliže je účinná sloučenina v zásadě rozpustná ve vodě, velikost částic se normálně upraví mletím na takovou velikost, aby bylo dosaženo v zásadě stejnoměrného rozptýlení v přípravku, například na velikost přibližně 40 mesh.

Některé příklady vhodných excipientů zahrnují laktózu, dextrózu, sacharózu, sorbitol, manitol, škroby, arabskou gumu, fosforečnan vápenatý, algináty, tragacant, želatinu, křemičitan vápenatý, mikrokrytalickou celulózu, polyvinylpyrrolidon, celulózu, sterilní vodu, sirup a methylcelulózu. Přípravky mohou dále obsahovat: lubrifikační činidla jako je talek, stearan hořečnatý a

minerální olej; smáčedla; emulsifikační a suspenzní činidla; konzervační činidla jako je methyl- a propylhydroxybenzoát; sladidla a ochucovadla. Kompozice podle předloženého vynálezu mohou být připraveny tak, aby poskytovaly okamžité, trvalé nebo zpožděné uvolňování účinné složky po jejím podání pacientovi, použitím procedur známých ze stavu techniky.

Kompozice jsou výhodně připraveny jako jednotková dávka, přičemž každá dávka obsahuje od přibližně 5 do přibližně 100 mg, obvykleji od přibližně 10 do přibližně 30 mg, účinné složky. Výraz „jednotková dávka“ znamená fyzicky diskretní jednotku, vhodnou jako jedna dávka pro člověka nebo další savce, každá jednotka přitom obsahuje předem stanovené množství účinné látky, vypočtené tak, aby vyvolalo požadovaný terapeutický účinek, spolu s vhodným farmaceutickým excipientem. Výhodně se sloučenina obecného vzorce I uvedeného výše používá tak, že nečiní více než 20 hmotnostních procent farmaceutické kompozice, výhodně ne více než 15 hmotnostních procent, zatímco zbývající část je tvořena farmaceuticky inertním nosičem nebo nosiči.

Účinná sloučenina působí v širokém rozmezí dávek a je obecně podávána ve farmaceuticky účinném množství. Je však zřejmé, že množství sloučeniny, které bude skutečně podáváno, bude určeno lékařem v závislosti na relevantních okolnostech, které zahrnují stav, který má být léčen, zvolený způsob podávání, sloučeninu, která je podávána, věk, váhu a odezvu individuálního pacienta, závažnost pacientových symptomů a podobně.

Pro přípravu pevných kompozic jako jsou tablety se hlavní účinná složka smíchá s farmaceutickým excipientem, aby vytvořila pevnou předběžně zpracovanou kompozici, obsahující homogenní směs sloučenin podle předloženého vynálezu. Pokud se o této předběžně zpracované kompozici mluví jako o homogenní, míní se tím, že účinná složka je dispergována stejnoměrně v celé kompozici, tak aby kompozice mohla být snadno rozdělena do účinných jednotkových dávek, jako jsou tablety, pilulky a kapsle, které obsahují totéž množství účinné látky. Tato pevná předběžně zpracovaná kompozice se potom rozděluje na jednotkové dávky typu, který byl popsán výše a které obsahují například od přibližně 0,1 do přibližně 500 mg účinné složky podle předloženého vynálezu.

Tablety nebo pilulky podle předloženého vynálezu mohou být potahované nebo mít jiné složení, aby se vytvořila dávková forma, která poskytuje výhodu prodlouženého působení. Například mohou tablety nebo pilulky obsahovat vnitřní dávku složky a vnější dávku složky, přičemž vnější dávka vytváří obal vnitřní dávky. Tyto dvě složky dávkové formy mohou být odděleny enterickou vrstvou, která slouží k tomu aby zabránila desintegraci v žaludku a dovolila vnitřní složce projít neporušena do dvanácterníku a nebo aby bylo dosaženo jejího zpožděného uvolňování. Pro vytvoření takové enterické vrstvy nebo povlaku lze použít množství materiálů, jako jsou materiály obsahující řadu polymerických kyselin a směsí polymerických kyselin s materiály jako je šelak, ketylalkohol a acetát celulózy.

Kapalně formy, ve kterých mohou být obsaženy nové kompozice podle předloženého vynálezu, mohou být vytvořeny pro

podávání orálním způsobem nebo ve formě injekce a zahrnují vodné roztoky vhodně ochucených sirupů, vodné nebo olejové suspenze a ochucené emulze s jedlými oleji jako je olej bavlníkového semene, sezamový olej, kokosový olej nebo podzemnicový olej, stejně tak jako elixíry a podobná farmaceutická vehikula.

Kompozice pro inhalaci nebo vdechování zahrnují roztoky a suspenze ve farmaceuticky přijatelných vodných nebo organických rozpouštědlech nebo jejich směsi a prášky. Kapalně a pevně kompozice mohou obsahovat vhodné farmaceuticky přijatelné excipienty jaké byly popsány výše. Výhodně jsou takové kompozice podávány orální nebo nasální respirační cestou pro vyvolání lokálního nebo systemického účinku. Kompozice ve výhodně farmaceuticky přijatelných rozpouštědlech mohou být rozprašovány použitím inertních plynů. Atomizované roztoky mohou být přímo vdechovány z rozprašovacího zařízení nebo může být rozprašovací zařízení připevněno k obličejové masce nebo dýchacímu přístroji s přerušovaným přetlakem. Roztoky, suspenze nebo práškové kompozice mohou být podávány, výhodně orálně nebo nasálně, ze zařízení, které podávají přípravek vhodným způsobem.

Následující příklady přípravků ilustrují farmaceutické kompozice podle předloženého vynálezu.

#### Příklad přípravku 1

Byly připraveny tvrdé želatinové kapsle, obsahující následující složky.

| Složka | Množství<br>(mg/kapsle) |
|--------|-------------------------|
|--------|-------------------------|

|                   |       |
|-------------------|-------|
| Účinná složka     | 30,0  |
| Škrob             | 305,0 |
| Stearan hořečnatý | 5,0   |

Výše uvedené složky byly smíchány a plněny do tvrdých želatinových kapslí v množství 340 mg.

#### Příklad přípravku 2

Byly připraveny tablety, používající složky uvedené níže:

| Složka | Množství<br>(mg/tableta) |
|--------|--------------------------|
|--------|--------------------------|

|                           |       |
|---------------------------|-------|
| Účinná složka             | 25,0  |
| Celulóza, mikrokrytalická | 200,0 |
| Koloidní oxid křemičitý   | 10,0  |
| Kyselina stearová         | 5,0   |

Složky byly smíchány a lisovány do tvaru tablet, z nichž každá měla hmotnost 240 mg.

## Příklad přípravku 3

Byl připraven suchý práškový inhalační přípravek s obsahem následujících složek:

| Složka        | Hmotn. % |
|---------------|----------|
| Účinná složka | 5        |
| Laktóza       | 95       |

Účinná složka je míchána s laktózou a směs je vložena do inhalačního zařízení se suchým práškem.

## Příklad přípravku 4

Tablety, každá obsahující 30 mg účinné složky, byly připraveny následujícím způsobem:

| Složka                                                    | Množství<br>(mg/tablet) |
|-----------------------------------------------------------|-------------------------|
| Účinná složka                                             | 30,0 mg                 |
| Škrob                                                     | 45,0 mg                 |
| Mikrokrystalická celulóza                                 | 35,0 mg                 |
| Polyvinylpyrrolidon<br>(jako 10% roztok ve sterilní vodě) | 4,0 mg                  |
| Sodný karboxymethylový škrob                              | 4,5 mg                  |
| Stearan hořečnatý                                         | 0,5 mg                  |
| Talek                                                     | 1,0 mg                  |

Celkově 120 mg

Účinná složka, škrob a celulóza se prosívají sítem s velikostí ok 20 U.S. mesh a pečlivě se smíchají. Roztok polyvinylpyrrolidonu se smíchá se vzniklým práškem, a prosívá sítem s velikostí ok 16 U.S. mesh. Takto vytvořené granule se suší při teplotě 50 až 60 °C a prosívají sítem s velikostí ok 16 U.S. mesh. Sodný karboxymethylový škrob, stearan hořečnatý a talek, předem prosívané sítem s velikostí ok 30 U.S. mesh, byly potom přidány ke granulím, a po smíchání se látka lisovala na tabletovacím stroji a tím se získaly tablety, které každá vážila 120 mg.

#### Příklad přípravku 5

Kapsle, každá obsahující 40 mg léku, byly vytvořeny následujícím způsobem:

| Množství                 |               |
|--------------------------|---------------|
| Složka                   | (mg/kapsle)   |
| Účinná složka            | 40,0 mg       |
| Škrob                    | 109,0 mg      |
| <u>Stearan hořečnatý</u> | <u>1,0 mg</u> |
| Celkově                  | 150,0 mg      |

Účinná složka, škrob a stearan hořečnatý byly smíchány, prosívány sítem s velikostí ok 20 U.S. mesh a plněny do tvrdých želatinových kapslí v množství 150 mg.

08.11.99

## Příklad přípravku 6

Čípky, každý obsahující 25 mg účinné složky, byly vytvořeny následujícím způsobem:

| Složka                                   | Množství |
|------------------------------------------|----------|
| Účinná složka                            | 25 mg    |
| Glyceridy nasycených mastných kyselin do | 2,000 mg |

Účinná složka byla prosívána sítím s velikostí ok 60 U.S. mesh a suspendována v glyceridech nasycených mastných kyselin, které byly předtím roztaveny použitím minimálního množství tepla. Směs byla potom vlita do čípkové formy o nominální kapacitě 2,0 g a ponechána ochladnout.

## Příklad přípravku 7

Suspenze, obsahující 50 mg léku v dávce 5,0 ml, byly vytvořeny následujícím způsobem:

| Složka                            | Množství |
|-----------------------------------|----------|
| Účinná složka                     | 50,0 mg  |
| Xanthanová guma                   | 4,0 mg   |
| Sodná karboxymethylcelulóza (11%) |          |
| Mikrokrystalická celulóza (89%)   | 50,0 mg  |
| Sacharóza                         | 1,75 g   |
| Benzoát sodný                     | 10,0 mg  |
| Ochucovadlo a barvivo             | q.v.     |
| Purifikovaná voda do              | 5,0 ml   |

Účinná složka, sacharóza a xanthanová guma byly smíchány, prosívány sítím s velikostí ok 10 U.S. mesh a potom smíchány s předem vytvořeným roztokem mikrokrystalické celulózy a sodné karboxymethylcelulózy ve vodě. Benzoát sodný, ochucovadlo a barvivo byly rozpuštěny v malém množství vody a byly přidány za míchání. Potom bylo přidáno dostatečné množství vody pro dosažení požadovaného objemu.

## Příklad přípravku 8

| Složka                   | Množství<br>(mg/kapsle) |
|--------------------------|-------------------------|
| Účinná složka            | 15,0 mg                 |
| Škrob                    | 407,0 mg                |
| <u>Stearan hořečnatý</u> | <u>3,0 mg</u>           |
| Celkově                  | 425,0 mg                |

Účinná složka, škrob a stearan hořečnatý byly smíchány, prosívány sítem s velikostí ok 20 U.S. mesh a plněny do tvrdých želatinových kapslí v množství 560 mg.

## Příklad přípravku 9

Subkutánní přípravek může být připraven následujícím způsobem:

| Složka         | Množství |
|----------------|----------|
| Účinná složka  | 5,0 mg   |
| Kukuřičný olej | 1 ml     |

## Příklad přípravku 10

Topický přípravek může být připraven následujícím způsobem:

| Složka | Množství |
|--------|----------|
|--------|----------|

|                       |        |
|-----------------------|--------|
| Účinná složka         | 1-10 g |
| Emulsifikační vosk    | 30 g   |
| Tekutý parafín        | 20 g   |
| Měkký bílý parafín do | 100 g  |

Měkký bílý parafín byl zahříván až do roztavení. Byl přidán kapalný parafín a emulsifikační vosk a směs byla míchána do rozpuštění. Byla přidána účinná složka a míchání pokračovalo do vytvoření disperze. Směs byla potom chlazena, dokud neztuhla.

Další výhodné přípravky, využívající způsobu podle předloženého vynálezu používají transdermální podávací zařízení („náplasti“). Takové transdermální náplasti mohou být používány za účelem dosažení kontinuální nebo diskontinuální infuze sloučenin podle předloženého vynálezu v řízených množstvích. Konstrukce a použití transdermálních náplastí pro podávání farmaceutického činidla je dobře známá ze stavu techniky. Viz například U.S. Patent 5,023,252, vydaný 11. června 1991, který je zde zahrnut jako reference. Takové náplasti mohou být konstruovány pro podávání farmaceutického činidla kontinuálním nebo nárazovým způsobem nebo v případě potřeby.

Často je žádoucí nebo nutné dopravit farmaceutické kompozice do mozku, buď přímo nebo nepřímo. Přímé techniky obvykle zahrnují umístění katetru pro podávání léku do příjemcova ventrikulárního systému, který obejde hematoencefalickou bariéru. Jeden takový implantovatelný

podávací systém, použitý pro transport biologických faktorů do specifických anatomických oblastí těla je popsán v U.S. Patentu č. 5,011,472, který je zde zahrnut jako reference.

Nepřímé techniky, kterým je obecně dávana přednost, obvykle zahrnují přípravu kompozice tak, aby poskytovala latenciaci léku přeměnou hydrofilního léku na lipidově rozpustný lék. Latenciace je obvykle dosažena blokováním hydroxylové, karbonylové, sulfátové a primární aminové skupiny, která se ve sloučenině nachází, aby se látka stala více rozpustnou v lipidech a tím i vhodnější k přenosu přes hematoencefalickou bariéru. Alternativně může být dodávání hydrofilního léku zesíleno intra-arteriální infuzí hypertonických roztoků, které přechodně otevrou hematoencefalickou bariéru.

Další vhodné přípravky pro použití podle předloženého vynálezu mohou být nalezeny v Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, PA, 17th ed. (1985).

#### Použitelnost

Sloučeniny a farmaceutické kompozice podle předloženého vynálezu jsou použitelné pro inhibici uvolňování  $\beta$ -amyloidového peptidu a/nebo jeho syntézy a na základě toho mohou být použity pro léčení Alzheimerovy nemoci u savců, v to počítaje člověka.

Jak již bylo uvedeno výše, sloučeniny které byly popsány výše jsou vhodné pro použití v množství systémů podávání léků, které byly uvedeny výše. Kromě toho, za účelem

zvýšení poločasu pobytu podávané sloučeniny v séru mohou být sloučeniny enkapsulovány, vloženy do lumenálních liposomů, připraven jako koloid nebo upraveny další obvyklou technikou, která dosahuje prodloužení poločasu pobytu sloučeniny v séru. Řada způsobů, které jsou použitelné pro přípravu liposomů, jsou popsány například v patentech Szoka a kol., U.S. Patenty č. 4,235,871, 4,501,728 a 4,837,028, které jsou zde všechny zahrnuty jako reference.

Množství sloučeniny, podávané pacientovi, se mění v závislosti na podávané látce, cíli podávání, jako je profylaxe nebo terapie, stavu pacienta, způsobu podávání a podobně. Při terapeutickém podávání jsou kompozice podávány pacientovi, který již trpí Alzheimerovou nemocí, v množství dostatečném k alespoň částečnému zastavení dalšího vzniku symptomů nemoci a jejích komplikací. Množství vhodné pro dosažení tohoto cíle je zde označováno jako „terapeuticky účinná dávka“. Množství, které je účinné pro toto použití, závisí na úsudku ošetřujícího lékaře a vychází z faktorů jako je stupeň nebo závažnost Alzheimerovy nemoci u pacienta, věk, váha a celkový stav pacienta a podobně. Výhodně, při použití jako terapeutické látky, jsou sloučeniny podle předloženého vynálezu podávány v dávkách, které jsou v rozmezí od přibližně 1 do přibližně 500 mg/kg/den.

V případě profylaktického podávání jsou kompozice podávány pacientovi, u kterého je riziko vývinu Alzheimerovy nemoci (určené například genetickým vyhledáváním nebo na základě rodinné anamnézy), v množství dostatečném k inhibici nástupu symptomů nemoci. Množství vhodné pro dosažení

tohoto cíle je zde označováno jako „profylakticky účinná dávka.“ Množství, které je účinné pro toto použití, závisí na úsudku ošetřujícího lékaře a vychází z faktorů jako je stupeň nebo závažnost Alzheimerovy nemoci u pacienta, věk, váha a celkový stav pacienta a podobně. Výhodně, při použití jako profylaktické látky, jsou sloučeniny podle předloženého vynálezu podávány v dávkách, které jsou v rozmezí od přibližně 1 do přibližně 500 mg/kg/den.

Jak bylo uvedeno výše, sloučeniny jsou podávány pacientovi ve formě farmaceutických kompozic popsaných výše. Tyto kompozice mohou být sterilizovány obvyklými sterilizačními technikami nebo mohou být sterilně filtrovány. Pokud jsou používány vodné roztoky, pak mohou být baleny pro použití tak jak byly získány nebo mohou být lyofilizovány, přičemž lyofilizovaný přípravek může být kombinován se sterilním vodným nosičem před podáváním. pH přípravku sloučeniny je typicky mezi 3 a 11, výhodněji od 5 do 9 a nejvýhodněji od 7 do 8. Je zřejmé, že použití některých z uvedených excipientů, nosičů nebo stabilizátorů povede k vytvoření farmaceutických solí.

Následující syntetické a biologické příklady jsou podány pro ilustraci předloženého vynálezu a není jejích cílem jakýmkoli způsobem omezit rozsah předmětu předloženého vynálezu. Pokud není uvedeno jinak, všechny teploty jsou udávány ve stupních Celsia.

#### **Příklady provedení vynálezu**

V příkladech uvedených níže mají následující zkratky níže uvedené významy. Pokud je použita zkratka, která není definována, má svůj obecně přijímaný význam.

BOC = terc.-butoxykarbonyl

bd = široký doublet

bs = široký singlet

Cbz = karbobenzyloxy

cc = kubický centimetr

CDI = 1, 1'-karbonyldiimidazol

d = doublet

dd = doublet doubletů

DMF = dimethylformamid

DMSO = dimethylsulfoxid

EDC = 1-(3-dimetyaminopropyl)-ethylkarbodiimid,  
hydrochlorid

EDTA = ethylen diamin tetraoctová kyselina

eq. = ekvivalent

ether = diethylether

g = gram

l = litr

m = multiplet

M = molární

max = maximum

mg = miligram

min = minuta

ml = mililitr

mM = milimolární

mmol = milimol

N = normální

ng = nanogram

nm = nanometr  
OD = optická hustota (optical density)  
pg = pikogram  
pM = picomolární  
psi = liber na čtvereční palec  
q = kvartet  
quint = kvintet  
rpm = otáček za minutu  
rt = teplota okolí  
s = singlet  
sept = septet  
t = triplet  
THF = tetrahydrofuran  
tlc = chromatografie na tenké vrstvě  
μg = mikrogram  
μL = mikrolitr  
UV = ultrafialový  
w/v = hmotnost k objemu (weight to volume)

Kromě toho,

výraz "Aldrich" označuje, že sloučenina nebo reagent, použitá v následujících příkladech, je dodávána společností Aldrich Chemical Company, Inc., 1001 West Saint Paul Avenue, Milwaukee, WI 53233 USA;

výraz "Bachem" označuje, že sloučenina nebo reagent je dodávána společností Bachem Biosciences Inc., 3700 Horizon Drive, Renaissance at Gulph Mills, King of Prussia, PA 19406 USA;

výraz "Fluka" označuje, že sloučenina nebo reagent je dodávána společností Fluka Chemical Corp., 980 South 2nd Street, Ronkonkoma, NY 11779 USA;

výraz "Lancaster" označuje, že sloučenina nebo reagent je dodávána společností Lancaster Synthesis, Inc., P.O. Box 100, Windham, NH 03087 USA;

výraz "Sigma" označuje, že sloučenina nebo reagent je dodávána společností Sigma, P.O. Box 14508, St. Louis, MO 63178 USA; a

výraz "Sennchem" označuje, že sloučenina nebo reagent je dodávána společností Senn Chemicals AG, P.O. Box 267, CH-9157 Dielsdorf, Switzerland.

V příkladech uvedených níže jsou všechny teploty jsou uvedeny ve stupních Celsia (pokud není uvedeno jinak) a byly použity následující obecné procedury pro přípravu uvedených sloučenin.

#### Obecná procedura A

##### Redukční aminace

Do roztoku arylaminu v ethanolu v hydrogenační baňce byl přidán 1 ekvivalent esteru 2-oxokarboxylové kyseliny (například pyruvátový ester), následovaný 10 % paládium na aktivním uhlí (25 hmotnostních procent, vztaženo k arylaminu). Reakční směs byla hydrogenována při tlaku 20 psi  $H_2$  v Parrově přístroji dokud nebylo uončení reakce indikováno chromatografií na tenké vrstvě (30 minut až 16 hodin). Reakční směs byla potom filtrována přes vrstvu Celitu 545 (dodáván společností Aldrich Chemical Company, Inc.) a zbavena rozpouštědla v rotační odparce. Surové residuum produktu bylo potom dále čištěn pomocí chromatografie.

#### Obecná procedura B

#### N-Heteroarylace alaninu

Roztok 1,1 ekvivalentů L-alaninu a 2 ekvivalentů NaOH v DMSO byl míchán při teplotě okolí po dobu 1 hodiny, potom byl přidán 1 ekvivalent 2- chlorbenzothiazolu. Směs byla zahřívána na teplotu 100 °C po dobu 4 hodin, potom ochlazena na teplotu okolí a vlita na led. pH výsledného vodného roztoku bylo upraveno na přibližně 2 a precipitovaná pevná látka byla odstraněna filtrací. Tato pevná látka byla potom rozpuštěna v 1N NaOH a výsledný roztok byl filtrován přes vrstvu Celitu 545. pH filtrátu bylo upraveno na přibližně 2 a bílý precipitát byl odstraněn filtrací a promýván vodou a tím se získal produkt.

#### Obecná procedura C

##### Hydrolýza esteru na volnou kyselinu

Hydrolýza esteru na volnou kyselinu byla prováděna obvyklými způsoby. Nížejsou uvedeny dva příklady takových konvenčních deesterifikačních způsobů.

Ke sloučenině, tvořené esterem karboxylové kyseliny (připravené například redukční aminací pomocí obecné procedury A, kterou se získal N-arylester aminokyseliny) v 1:1 směsi  $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$  bylo přidáno 2-5 ekvivalentů  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . Směs byla zahřívána na teplotu 50 °C po dobu 0,5 to 1,5 hodin dokud chromatografie na tenké vrstvě neukázala ukončení reakce. Reakční směs byla ochlazena na teplotu okolí a methanol byl odstraněn v rotační odparce. Zbývající vodný roztok byl upraven na pH-2 a byl přidán ethylacetát pro extrakci produktu. Organická fáze byla potom promývána nasyceným vodným NaCl a sušena nad  $\text{MgSO}_4$ . Roztok byl zbaven rozpouštědla v rotační odparce a tím se získal produkt.

Ester aminokyseliny byl rozpuštěn ve směsi dioxan/voda (4:1), do které byl přidán LiOH ( ~ 2 ekviv.), který byl rozpuštěn ve vodě tak, aby veškeré rozpouštědlo po přidání bylo přibližně 2: 1 dioxan:voda. Reakční směs byla míchána do ukončení reakce a dioxan byl odstraněn za sníženého tlaku. Residuum bylo zředěno EtOAc, vrstvy byly odděleny a vodná vrstva okyselena na pH 2. Vodná vrstva byla zpětně extrahována EtOAc, sloučené organické látky byly sušeny nad Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku po filtraci. Residuum bylo čištěno obvyklými způsoby (například rekrystalizace).

Následující postup je příkladem naúposledy uvedeného způsobu. 9,27 g methylesteru 3-NO<sub>2</sub> fenylacetylalaninu (0,0348 molů) bylo rozpuštěno v 60 ml dioxanu a 15 ml H<sub>2</sub>O a byl přidán LiOH (3,06 g, 0,0731 molů), který byl rozpuštěn v 15 ml H<sub>2</sub>O. Po míchání po dobu 4 hodin byl dioxan odstraněn za sníženého tlaku a residuum bylo zředěno EtOAc, vrstvy byly odděleny a vodná vrstva byla okyselena na pH 2. Vodná vrstva byla zpětně extrahována EtOAc (4 X 100 ml), sloučené organické látky byly sušeny nad Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a rozpouštědlo bylo odstraněno za sníženého tlaku po filtraci. Residuum bylo rekrystalizováno ze směsi EtOAc/isooktan a to dalo 7,5 g (85 %).

C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> dává C, 52,38 H, 4,80 N, 11,11.

Analýzou nalezeno C, 52,54 H, 4,85 N, 11,08.

[α]<sub>23</sub> = - 29,9 @ 559 nm.

Obecná procedura D

První EDC kopulační procedura

Do 1:1 směsi požadované kyseliny a amino esteru/amidu v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  při teplotě  $0\text{ }^\circ\text{C}$  bylo přidáno 1,5 ekvivalentů triethylaminu, následovaných 2,0 ekvivalenty monohydrátu hydroxybenzotriazolu, potom 1,25 ekvivalentů ethyl-3-(3-dimethylamino)-propyl karbodiimidu.HCl (EDC). Reakční směs byla míchána přes noc při teplotě okolí, potom přenesen do separační nálevky a promývána vodou, nasyceným vodným  $\text{NaHCO}_3$ , 1N HCl a nasyceným vodným NaCl a byla potom sušena nad  $\text{MgSO}_4$ . Roztok byl zbaven rozpouštědla v rotační odparce a tím se získal surový produkt.

#### Obecná procedura E

##### Druhá EDC kopulační procedura

Karboxylová kyselina byla rozpuštěna v methylenchloridu. Ester aminokyseliny/amidu (1 ekviv.), N-methylmorpholin (5 ekviv.) a monohydrát hydroxybenzotriazolu (1,2 ekviv.) byly přidány v tomto pořadí. Na baňku s kulatým dnem byla použita chladicí lázeň, dokud teplota roztoku nedosáhla  $0\text{ }^\circ\text{C}$ . V tomto okamžiku bylo přidáno 1,2 ekvivalentů hydrochloridu 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylkarbodiimidu (EDC). Roztok byl ponechán za míchání přes noc a vrátil se na na teplotu okolí pod tlakovou dusíkovou atmosférou. Reakční směs byla nakonec zpracována promýváním organické fáze nasyceným vodným uhličitánem sodným, 0,1M citronovou kyselinou a solankou před sušením nad síran sodný. Rozpouštědla byla potom odstraněna a tím se získal surový produkt. Čisté produkty byly získány mžikovou chromatografií ve vhodném rozpouštědle.

#### Obecná procedura F

##### Procedure pro odstranění BOC a terc.-butylesteru

BOC- nebo terc.-butylesterová sloučenina byla přidána do 1:1 směsi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a trifluoroctové kyseliny a byla míchána, dokud chromatografie na tenké vrstvě neukázala úplnou přeměnu, typicky po uplynutí 2 hodin. Roztok byl potom stripován do sucha a residuum bylo vyjmuto v ethylacetátu. V případě BOC chráněných sloučenin byl roztok promýván zředěným  $\text{HCl}$ . Vodná fáze byla upravena na báze pH, potom extrahována ethylacetátem. V případě terc.-butylesterových sloučenin byl roztok promýván nasyceným vodným  $\text{NaHCO}_3$ . Vodná fáze byla potom upravena na pH 2 a extrahována ethylacetátem. Organická fáze v obou případech byla potom promývána nasyceným vodným  $\text{NaCl}$  a sušena nad  $\text{MgSO}_4$ . Roztok byl zbaven rozpouštědla v rotační odparce a tím se získal produkt.

#### Obecná procedura G

##### N-Alkylace

Do roztoku 3-aminochinolinu v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  bylo přidán 1,10 ekvivalentů triethylaminu, následovaných  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  roztokem p-nitrobenzenesulfonyl (nosyl) chloridu. Reakční směs byla míchána při teplotě okolí po dobu 5 hodin, potom byl dinosylovaný aminochinolin izolován filtrací a byl promýván ethylacetátem. Tento materiál byl potom přidán do 1:1 směsi dioxanu a 1N  $\text{NaOH}$  a tento roztok byl zahříván na teplotu  $60^\circ\text{C}$  po dobu 4 hodin, po jejímž uplynutí se všechna pevná látka rozpustila. Reakční směs byla ochlazená na teplotu okolí, potom bylo pH upraveno na přibližně 4. Precipitovaný mono-nosylovaný aminochinolin byl odstraněn filtrací a promýván  $\text{H}_2\text{O}$ . Roztok této sloučeniny v THF byl potom přidán do suspenze  $\text{NaH}$  v THF o teplotě  $-78^\circ\text{C}$ , potom byl přidán ethyl-2-brompropionát. Reakční směs byla ohřáta na teplotu zpětného toku, potom zahřívána na teplotu

zpětného toku po dobu 4 dní. Surová reakční směs byla zbavena rozpouštědla v rotační odparce a alkylovaný, nosylovaný aminochinolin byl získán chromatografií. Tento produkt byl potom rozpuštěn v DMF a byly přidány 3 ekvivalenty  $K_2CO_3$ , následované 1,2 ekvivalenty thiofenolu. Reakční směs byla míchána přes noc při teplotě okolí. Reakce byl potom zastavena vodou a etherová a organická fáze byly promývány nasyceným vodným  $NaHCO_3$  a nasyceným vodným  $NaCl$ , potom sušeny nad  $MgSO_4$ . Roztok byl zbaven rozpouštědla v rotační odparce a tím se získal surový produkt, který byl potom čištěn chromatografií.

#### Obecná procedura H

##### Výměna ester/amid

Do roztoku 3 ekvivalentů požadovaného aminu v 1,2-dichlorethanu byly přidány 5,2 ekvivalenty trimethylaluminia, přičemž uvedená adice byla prováděna pod povrchem roztoku stříkačkou. Po míchání po dobu 30 minut při teplotě okolí byl přidán roztok požadovaného esteru, rozpuštěného v 1,2-dichlorethanu. Reakční směs byla zahříván na teplotu zpětného toku, dokud chromatografie na tenké vrstvě neukázala úplnou přeměnu, typicky po uplynutí 3 hodin. Reakční směs byla potom ochlazená na teplotu  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  a zastavena 10 %  $HCl$  (Poznámka: kyselina by měla být přidávána pomalu, nebo v průběhu přidávání dochází k pění). U těch produktů, které nejsou rozpustné ve vodné kyselině byla směs přenesena do separační nálevky a vrstvy byly odděleny. Vodná fáze byla promývána ethylacetátem a organické fáze byly promývány nasyceným vodným  $NaCl$ , sušeny nad  $MgSO_4$  a koncentrovány za sníženého tlaku což zanechalo surový produkt.

U produktů rozpustných ve vodných kyselinách byl po zastavení reakce objem reakční směsi redukován za sníženého tlaku na přibližně 1/3 původního objemu. Do výsledného roztoku byl přidán 20 % vodný vínán draselno-sodný (Rochellova sůl) a ethylacetát. pH roztoku bylo upraveno na přibližně 13 a hlinité soli byly rozpuštěny ve vodném roztoku. Organická fáze byla oddělena a vodná fáze byla extrahována ethylacetátem. Sloučené organické roztoky byly promývány nasyceným vodným NaCl, sušeny nad  $\text{MgSO}_4$  a koncentrovány za sníženého tlaku což zanechalo surový produkt.

#### Obecná procedura I

##### Redukce esteru na alkohol

Do 0 °C roztok výchozího esteru v bezvodém THF byl přidán 1,0 ekvivalent  $\text{LiBH}_4$  v THF. Reakční směs byla míchána při teplotě okolí přes noc a reakce byla potom zastavena vodou. THF byl odstraněn v rotační odparce a byl přidán ethylacetát a fázes byly odděleny. Organická fáze byla promývána nasyceným vodným NaCl, sušena nad  $\text{MgSO}_4$  a koncentrována za sníženého tlaku, což zanechalo produkt.

#### Obecná procedura J

##### Přemístění triflátu

Do 0 °C roztoku isobutyl-R-(+)-laktátu v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  byly přidány 1,1 ekvivalenty anhydridu kyseliny trifluormethansulfonové. Po míchání při teplotě okolí po dobu 20 minut, byly přidány 1,1 ekvivalenty 2,6-lutidinu a míchání pokračovalo po dobu 10 minut. Tento roztok byl potom přenesen do baňky, obsahující 1 ekvivalent arylaminu a 1 ekvivalent diisopropylethylaminu v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  nebo  $\text{CH}_3\text{NO}_2$

při teplotě 0 °C. Reakční směs byla udržována přes noc při teplotě okolí, potom zbavena rozpouštědla v rotační odparce. Residuum bylo rozpuštěno v ethylacetátu, promýváno 5 % citronovou kyselinou, následovanou nasyceným vodným NaCl a potom roztok byl zbaven rozpouštědla v rotační odparce a tím se získal surový produkt, který byl potom čištěn chromatografií.

#### Obecná procedura K

##### Vytváření methylesteru z aminokyseliny

Aminokyselina (aminokyselina nebo hydrochlorid aminokyseliny) byla suspendována v methanolu a ochlazena na 0 °C. Plynný HCl byl probubláván tímto roztokem po dobu 5 minut. Reakční směs byla ponechána zahřát se na teplotu okolí a potom míchána po dobu 4 hodin. Rozpouštědla potom byla odstraněna a takto byla získána požadovaná aminokyselina ve formě hydrochloridu methylesteru. Tento produkt se obvykle používá bez dalšího čištění.

#### Příklad A

##### Syntéza N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu

Použitím způsobu, popsaného v U.S. Patentu č. 3,598,859, jehož předmět je zde zahrnut jako reference ve své celistvosti, byl připraven N-(3,4- dichlorfenyl)-D,L-alanin. Konkrétně byla do roztoku 3,4- dichloranilinu (1 ekvivalent) (Aldrich) v isopropanolu (asi 500 ml na jeden mol 3,4-dichloranilinu) přidána voda (asi 0,06 ml na jeden ml isopropanolu) a kyselina 2-chlorpropionová (2 ekvivalenty) (Aldrich). Tato směs byla ohřáta na teplotu 40 °C a byl přidán hydrogenuhličitán sodný (0,25 ekvivalenty) v postupných dávkách před zahříváním na teplotu zpětného toku po dobu 4-5 dní. Po ochlazení byla reakční směs vlita

do vody a nezreagovaný 3,4-dichloranilin byl odstraněn filtrací. Filtrát byl okyselen na pH 3-4 koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou a výsledný precipitát byl filtrován, promýván a sušen a tím se získala sloučenina z názvu, teplota tání = 148-149 °C.

Alternativně se postupem podle obecné procedury A uvedené výše a použitím 3,4- dichloranilinu (Aldrich) a ethylpyruvátu (Aldrich) připraví ethylester N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu ve formě oleje. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě na silikagelu ( $R_f = 0,4$  v 25 % EtOAc/hexany) a čištění bylo prováděno preparativní deskovou chromatografií (silikagel s použitím směsi 25 % EtOAc/hexany jako vymývacího rozpouštědla) .

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,2$  (d, 1H); 6,7 (d, 1H); 6,4 (dd, 1H); 4,30 (bs, 1H); 4,2 (q, 2H); 4,1 (q, 1H); 1,5 (d, 3H); 1,3 (t, 3H) .

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 175$ ; 146,7; 133; 131; 121; 114,9; 112,6; 72,0; 52,4; 28,3; 19,5.

$\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{NO}_2$  (MW = 262,14); hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$  263) .

Hydrolýza tohoto esteru například pomocí obecné procedury C dává sloučeninu z názvu.

#### Příklad B

Syntéza N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L-alaninu

Použitím procedury popsané v U.S. Patentu č. 3,598,859 (nebo Příkladu A uvedeného výše) byl připraven N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L-alanin použitím 3,5- dichloranilinu (Aldrich) a 2-chlorpropionové kyseliny (Aldrich) .

## Příklad C

## Syntéza N-(3,5-difluorfenyl)-D,L-alanin

Použitím procedury popsané v U.S. Patentu č. 3,598,859 (nebo Příkladu A uvedeného výše) byl připraven N-(3,5-difluorfenyl)-D,L-alanin použitím 3,5-difluoranilinu (Aldrich) a 2-chlorpropionové kyseliny (Aldrich).

## Příklad D

## Syntéza L-Valin N,N-dimethylamidu

Do míchaného roztoku 2,51 mg (10 mmolů) Cbz-L-Valin (Bachem) v 20 ml DMF bylo přidáno 1,46 g (9 mmolů) CDI a směs byla míchána po dobu 50 minut. Do této směsi bylo přidáno 6 ml (12 mmolů) dimethylaminu (Aldrich) v 5 ml THF a reakční směs byla míchána po dobu 18 hodin. Směs byla vyjmuta v 100 ml ethylacetátu, promývána 10 % HCl (3 x 40 ml), 10 ml solanky a 20 % uhličitánem draselným (2 x 50 ml) a sušena nad MgSO<sub>4</sub>. Směs byla filtrována a koncentrována a tím se získal Cbz-L-valin N,N-dimethylamid, který byl hydrogenován za standardních podmínek s 10 % Pd/C jako katalyzátoru pro odstranění Cbz skupiny a získání sloučeniny z názvu ve formě oleje.

NMR data byla následující:

<sup>1</sup>H-nmr (CDCl<sub>3</sub>): δ = 3,47 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 3,03 (s, 3H), 2,96 (s, 3H), 1,83 (m, 1H), 1,60 (s, 2H), 0,95 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,89 (d, J = 6,8 Hz, 3H).

<sup>13</sup>C-nmr (CDCl<sub>3</sub>): δ = 175,1, 56,2, 37,0, 35,7, 32,0, 19,9, 16,8.

## Příklad E

## Syntéza L-Valin N-methylamidu

Sloučenina z názvu byla připravena postupem, který byl popsán v Příkladu D uvedeném výše a použitím methylaminu namísto dimethylaminu. Sloučenina z názvu byla olej.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,27$  (bs, 1H), 3,20 (d,  $J = 3,8$  Hz, 1H), 2,79 (d,  $J = 5,0$  Hz, 3H), 2,27 (m, 1H), 1,40 (bs, 2H), 0,96 (d,  $J = 7,1$  Hz, 3H), 0,79 (d,  $J = 6,8$  Hz, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 175,0$ , 60,1, 30,7, 25,6, 19,7, 15,9.

#### Příklad F

Syntéza BOC-norleucin amidu

Do míchané směsi 3,47 g (15 mmolů) BOC-norleucinu (Bachem), 3,44 g (22,5 mmolů) monohydrátu 1-hydroxybenzotriazolu a 50 ml dichlormethanu při bylo teplotě  $0^\circ\text{C}$  přidáno 3,45 g (1,2 mmolů) EDC. Výsledná směs byla míchána při teplotě  $0^\circ\text{C}$  po dobu 1 hodiny a potom byl směsí probubláván plynný amoniak po dobu 10 minut. Chladicí lázeň byla ponechána zahřát se na teplotu okolí a směs byla míchána po dobu 18 hodin. Směs byla odpařena do sucha, rozetřena s 20 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Výsledná pevná látka byla shromážděna filtrací a promývána vodou a tím se získalo 2,69 g (11,7 mmol, 78 %) sloučeniny z názvu.

#### Příklad G

Syntéza N-[3,5-di(trifluormethyl)fenyl]-L-alaninu

Krok A: Postupem podle obecné procedury J a použitím 3,5-di(trifluormethyl)anilinu (Aldrich) a isobutyl-R-(+)-laktátu (Aldrich) byl iso-butylester N-[3,5-di(trifluormethyl)fenyl]-L-alaninu připraven ve formě oleje. Reakce byla monitorována silikagelovou chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,38$  v 10% směsi

EtOAc/hexany). Čištění bylo prováděno preparativní deskovou chromatografií na tenké vrstvě použitím 10 % směsi EtOAc/hexany jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,13$  (s, 1H), 6,91 (s, 2H), 4,97 (d,  $J = 8,24$  Hz, 1H), 4,18 (m, 1H), 3,93 (d,  $J = 6,59$  Hz, 2H), 1,93 (sept,  $J = 6,71$  Hz, 1H), 1,49 (d,  $J = 7,02$  Hz, 3H), 0,89 (d,  $J = 6,59$  Hz, 6H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 174,4, 147,9, 133,6, 133,2, 132,7, 132,3, 129,4, 125,8, 122,2, 118,6, 112,81, 112,76, 111,42, 111,37, 111,32, 111,27, 111,22, 72,2, 52,0, 32,1, 28,24, 28,17, 23,2, 19,5, 19,3, 19,2, 18,9, 14,6$ .

$\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{F}_6\text{NO}_2$  (MW = 357,30);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 358.

Krok B: N-[3,5-di(trifluormethyl)fenyl]-L-alanin ve formě iso-butylesteru byl potom hydrolyzován postupem podle obecné procedury C použitím hydroxidu lithného v THF.

#### Příklad H

Syntéza N-(3,5-dimethoxyfenyl)-D,L-alaninu

Sloučenina z názvu byla připravena použitím procedury popsané v U.S. Patentu č. 3,598,859 (nebo v Příkladu A uvedeném výše) použitím 3,5-dimethoxyanilinu (Aldrich) a 2-chlorpropionové kyseliny (Aldrich).

#### Příklad I

Syntéza N-(3,4-dichlorfenyl)glycinu

Použitím procedury popsané v U.S. Patentu č. 3,598,859 byl připraven N-(3,4-dichlorfenyl)glycin použitím 3,4-

dichloranilinu (Aldrich) a kyseliny 2-chloroctové (Aldrich).

#### Příklad J

Syntéza N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L-fenylglycinu

3,5-dichloranilin (1 ekviv.) (Aldrich) a methyl- $\alpha$ -bromfenylacetát (1 ekviv.) (Aldrich) byly zahříván na teplotu zpětného toku v ethanolu s N-methylmorfolinem (Aldrich) po dobu 3 dní. Po standardním zpracování bylo residuum krystalizováno ze směsi ethylacetát/hexane/ether/voda a takto byl získán methyl N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L-fenylglycin. Methylester byl potom hydrolyzován použitím směsi 1M NaOH/voda v methanolu a takto byla získána sloučenina z názvu.

#### Příklad 1

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-valinu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1 N HCl) a použitím L-valinu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) a N-(3,4-dichlorfenyl)alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7,20 (m, 1H), 6,92-7,03 (m, 1H), 6,69 (m, 1H), 6,44 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,19 (m, 1H), 3,78 (m, 1H), 3,71 (s, 1,5H), 3,65 (s, 1,5H), 2,12 (m, 1H), 1,50 (d,  $J$  = 7,0 Hz, 3H), 0,80-0,92 (m, 4,5H), 0,71 (d,  $J$  = 6,8 Hz, 1,5H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 173,4, 173,0, 172,2, 171,8, 146,0, 145,8, 132,9, 132,8, 130,7, 130,6, 121,7, 115,1, 114,8,

113,5, 113,1, 56,9, 56,6, 55,1, 54,8, 52,2, 52,1, 31,1,  
31,0, 30,9, 19,6, 19,4, 17,7, 17,4.

#### Příklad 2

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-valinu ve  
formě N-iso-butylamidu

Postupem podle obecné procedury H uvedené výše a použitím  
methylesteru N-[N-(3,4- dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-valinu  
(z Příkladu 1 uvedeného výše) a isobutylaminu (Aldrich)  
byla připravena sloučenina z názvu ve formě oleje. Reakce  
byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,3$   
v 10 % směsi methanol/dichlormethan).

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,2$  (d, 1H), 7,0 (m, 1H), 6,7 (m, 1H),  
6,4 (m, 1H), 4,6 (m, 1H), 3,8 (m, 3H), 1,9 (m, 2H), 1,4 (d,  
3H), 1,1 (m, 6H), 0,9 (m, 6H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 173,8$ , 173,4, 172,9, 146,6, 133,6,  
133,4, 131,3, 122,5, 122,4, 115,8, 113,8, 56,9, 55,7, 38,2,  
25,6, 20, 16, 12,1.

$\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}_2$  (MW = 388,3);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 389.

#### Příklad 3

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-threoninu ve  
formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a  
použitím N- (3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A  
uvedeného výše) a L-threoninu ve formě hydrochloridu  
methylesteru (Sigma) byla připravena sloučenina z názvu ve

formě oleje. Reakční produkt byl čištěn silikagelovou chromatografií použitím 50 % směsi ethylacetát/hexan.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1,06$  (d,  $J = 6,4$ ) a  $1,17$  (d,  $J = 6,3$ ; 3H celkově v poměru 2:1),  $1,53$  (d,  $J = 7$ , 3H),  $2,31$  (d,  $J = 5,6$ ) a  $2,58$  (d,  $J = 4,7$ ; 1H celkově v poměru 2:1),  $3,68$  (s) a  $3,75$  (s) (3H celkově v poměru 1:2),  $3,8-3,9$  (m, 1H),  $4,15-4,25$  (m, 1H),  $4,3-4,45$  (m, 1H),  $4,5-4,6$  (m, 1H),  $6,4-6,5$  (m, 1H),  $6,65-6,7$  (m, 1H),  $7,4-7,55$  (m, 2H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 19,96$ ,  $20,23$ ,  $20,39$ ,  $20,49$ ,  $53,23$ ,  $53,28$ ,  $55,35$ ,  $55,59$ ,  $57,5$ ,  $68,13$ ,  $68,21$ ,  $113,72$ ,  $114,20$ ,  $115,42$ ,  $115,60$ ,  $122,26$ ,  $122,35$ ,  $131,22$ ,  $131,33$ ,  $133,41$ ,  $133,55$ ,  $146,47$ ,  $146,6$ ,  $171,63$ ,  $171,80$ ,  $174,69$ ,  $174,86$ .

$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{Cl}_2$  (MW = 349,22);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 349.

#### Příklad 4

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-valinu ve formě ethylesteru

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a použitím N- (3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) a L-valinu ve formě hydrochloridu ethylesteru byla připravena sloučenina z názvu ve formě oleje. Reakční produkt byl čištěn silikagelovou chromatografií použitím 35 % směsi ethylacetát/hexan.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0,7-1,0$  (překrývající se skupina d,  $J = 7$ , 6H),  $1,19$  a  $1,27$  (pár t,  $J = 7$ , 3H),  $1,5$  (d,  $J = 7$ , 3H),  $2,05-2,2$  (m, 1H),  $3,7-3,9$  (m, 1H),  $4,0-4,3$  (m, 3H),  $4,5-4,6$  (m, 1H),  $6,4-6,5$  (m, 1H),  $6,5-6,6$  (m, 1H),  $6,9-7,1$  (M, 1H),  $7,2-7,3$  (M, 1H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 14,65, 14,77, 17,96, 18,25, 19,56, 20,06, 20,31, 31,77, 31,81, 55,50, 55,73, 57,22, 57,46, 61,88, 61,94, 113,76, 114,01, 115,48, 115,76, 122,40, 122,46, 131,30, 131,33, 133,48, 133,61, 146,41, 146,60, 171,86, 172,36, 173,54, 173,84.$

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 361,27);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 361.

#### Příklad 5

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-valinu ve formě terc.-butylesteru

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a použitím N- (3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) a L-valinu ve formě hydrochloridu terc.-butylesteru (Sigma) byla připravena sloučenina z názvu ve formě oleje. Reakční produkt byl čištěn silikagelovou chromatografií použitím 25 % směsi ethylacetát/hexan.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0,7-1,0$  (překrývající se skupina d, J = 7, 6H), 1,36 (s) a 1,45 (s) (9H), 1,5-1,54 (2 d, J = 7, 3H), 2,0-2,2 (m, 1H), 3,7-3,85 (m, 1H), 4,1-4,2 (m, 1H), 4,3-4,5 (m, 1H), 6,4-6,5 (m, 1H), 6,7 (s, 1H), 6,9-7,1 (m, 1H), 7,15-7,3 (m, 1H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 17,84, 18,25, 19,50, 20,06, 20,29, 28,42, 28,62, 31,96, 32,16, 55,45, 55,65, 57,53, 57,92, 82,72, 113,75, 114,00, 115,43, 115,65, 122,26, 122,32, 131,29, 131,50, 146,46, 146,65, 170,88, 171,48, 173,39, 173,65.$

$\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 389,33);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 389.

## Příklad 6

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-valinamidu  
 Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a  
 použitím N- (3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A  
 uvedeného výše) a L-valinu ve formě hydrochloridu amidu  
 (Sigma) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné  
 látky, která má teplotu tání 156-158 °C. Reakční produkt  
 byl čištěn by silikagelovou chromatografií použitím 90:10:1  
 směsi CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:NH<sub>4</sub>OH.

NMR data byla následující:

<sup>1</sup>H-nmr (DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0,6-0,9 (m, 6H), 1,2-1,4  
 (překrývající se d, 3H), 1,8-2,0 (m, 1H), 3,9-4,2 (m, 2H),  
 6,3-6,4 (m, 1H), 6,35-6,4 (m, 1H), 6,7-6,8 (m, 1H), 7,0-  
 7,15 (m, 1H), 7,2-7,3 (m, 1H), 7,4 (bs, 1H), 7,8 (d, J =  
 10) a 8,0 (d, J = 10) (celkově 1H v poměru 3:2).

<sup>13</sup>C-nmr (DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 17,8, 18,2, 19,00, 19,25, 19,6, 19,7,  
 31,16, 31,20, 51,9, 52,7, 57,11, 57,4, 113,46, 113,58,  
 113,67, 113,85, 117,20, 117,45, 130,64, 130,76, 131,53,  
 131,56, 148,25, 148,45, 173,06, 173,11, 173,38, 173,51.

C<sub>14</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (MW = 331);

hmotová spektroskopie (MH<sup>+</sup>) 332.

## Příklad 7

Syntéza N-(3,4-dichlorfenyl)-L-alaninu ve formě N-(1-  
 hydroxy-3-methyl-2-butyl) amidu

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a  
 použitím N- (3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A  
 uvedeného výše) a valinolu (Sigma) byla připravena  
 sloučenina z názvu ve formě oleje. Reakční produkt byl

čištěn silikagelovou chromatografií použitím 45:55 směsi EtOAc/hexany a 90:10:1 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:NH<sub>4</sub>OH.

NMR data byla následující:

<sup>1</sup>H-nmr (DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 0,86 (d, J = 7, 3H), 0,91 (d, J = 7, 3H), 1,50 (d, J = 7, 3H), 1,8-2,0 (m, 1H), 2,6 (bs, 1H), 3,5-3,8 (m, 4H), 4,1 (bs, 1H), 6,45 (dd, J = 2,8, 8,7, 1H), 6,7 (d, J = 2,8, 1H), 6,8 (bd, 1H), 7,2 (d, J = 5, 1H).

<sup>13</sup>C-nmr (DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 19,3, 20. 1, 20,2, 29,5, 55,8, 57,4, 64,1, 113,7, 115,7, 122,4, 131,4, 133,5, 146,6, 174,6.

C<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (MW = 319,23);

hmotová spektroskopie (MH<sup>+</sup>) 319.

#### Příklad 8

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-valinu ve formě N,N-dimethyl amidu

Postupem podle obecné procedury D a použitím N,N-dimethylamidu valinu (z Příkladu D uvedeného výše) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 145- 160 °C).

NMR data byla následující:

<sup>1</sup>H-nmr (CDCl<sub>3</sub>): δ = 7,38 (m, 1H), 7,14 (m, 1H), 6,66 (m, 1H), 6,41 (m, 1H), 4,78 (m, 1H), 3,88 (m, 1H), 3,10 a 3,09 (s,s, 3H), 2,94 a 2,90 (s,s, 3H), 1,96 (m, 1H), 1,43 (m 3H), 0,88 a 0,67 (m, 6H).

<sup>13</sup>C-nmr (CDCl<sub>3</sub>): δ = 173,6, 173,1, 171,4, 171,3, 146,3, 146,0, 132,7, 132,6, 130,52, 130,46, 120,9, 120,8, 114,5, 113,4, 113,0, 54,25, 54,15, 53,4, 53,2, 37,4, 35,6, 31,4, 31,3, 19,50, 19,46, 19,2, 17,5, 17,0.

C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (MW = 360,29);

hmotová spektroskopie (MH<sup>+</sup>) 360.

## Příklad 9

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-Lvalinu ve formě N-methylamidu

Postupem podle obecné procedury D a použitím N-methylamidu L-valinu (z Příkladu E uvedeného výše) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 145-160 °C).

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  = 8,10 a 7,90 (m, 2H), 7,23 (m, 1H), 6,76 a 6,69 (m, 1H), 6,57 (m, 1H), 6,34 (m, 1H), 3,90-4,14 (m, 2H), 2,57 a 2,56 (s, s, 3H), 1,88 (m, 1H), 1,27 (m, 3H), 0,65-0,86 (m, 6H).

$^{13}\text{C}$ -nmr (DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  = 173,1, 171,2, 171,1, 148,1, 147,9, 131,19, 131,16, 130,4, 130,2, 116,8, 113,5, 113,2, 113,1, 57,5, 57,3, 52,2, 51,5, 30,9, 30,8, 25,4, 19,2, 19,1, 18,8, 18,6, 18,2, 17,9.

$\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}_2$  (MW = 346,26);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 346.

## Příklad 10

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-alaninu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a použitím L-alaninu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě oleje. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké

vrstvě ( $R_f = 0,24$  v 1:1 směsi EtOAc:hexany) a produkt byl čištěn mžikovou chromatografií použitím 1:1 směsi EtOAc:hexany jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,15$  (m, 2H), 6,63 (dd, 1H), 6,40 (m, 1H), 4,50 (m, 2H), 3,75 (m, 1H), 3,67 (s, 1,5H), 3,61 (s, 1,5H), 1,45 (d, 3H), 1,31 (m, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 173,5$ , 173,2, 173,0, 172,8, 146,3, 146,2, 132,6, 130,6, 130,5, 121,2, 114,9, 114,7, 113,3, 113,0, 54,6, 54,5, 52,43, 52,39, 47,9, 47,8, 19,3, 19. 1, 17,9, 17,8.

$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 319,19);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 319.

#### Příklad 11

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-L-alanyl]-L-leucinu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D a použitím L-leucinu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 120-132 °C). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,49$  v 1:1 směsi EtOAc:hexany) a produkt byl čištěn mžikovou chromatografií použitím 1:1 směsi EtOAc:hexany jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,18$  (d, 1H), 6,95 (bd, 1H), 6,69 (d, 1H), 6,43 (dd, 1H), 4,58 (m, 1H), 4,32 (d, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 1,54 (m, 6H), 0,90 (m, 6H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 174.1, 173.4, 146.8, 133.3, 131.2, 122.2, 115.7, 114.1, 55.5, 52.9, 51.1, 41.6, 25.5, 23.4, 22.2, 20.0$ .

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 361,27);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 361,1.

#### Příklad 12

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-L-alanyl]-L-fenylalaninu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D a použitím L-fenylalaninu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 122-124,5 °C). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,47$  v 1:1 směsi EtOAc:hexany) a produkt byl čištěn mžikovou chromatografií použitím 1:1 směsi EtOAc:hexany jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,21$  (m, 4H), 7,05 (m, 2H), 6,91 (d, 1H), 6,64 (d, 1H), 6,38 (dd, 1H), 4,84 (q, 1H), 4,05 (s, 1H), 3,71 (m, 4H), 3,20 (m, 1H), 3,04 (m, 1H), 1,37 (d, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 173,6, 172,1, 146,5, 136,2, 133,4, 131,2, 129,7, 129,1, 127,7, 122,3, 115,6, 113,9, 55,4, 53,3, 53,0, 38,1, 19,9$ .

$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 395,29);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 395.

#### Příklad 13

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl-D,L-alanyl)]-L-isoleucinu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a použitím L-isoleucinu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 95,5-101,5 °C). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,62$  v 1:1 směsi EtOAc:hexany) a produkt byl čištěn mžikovou chromatografií použitím 1:1 směsi EtOAc:hexany jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,21$  (d, 1H), 6,98 (m, 1H), 6,70 (m, 1H), 6,45 (m, 1H), 4,55 (m, 1H), 4,11 (m, 1H), 3,79 (m, 1H), 3,72 (s, 1,5H), 3,67 (s, 1,5H), 1,87 (m, 1H), 1,51 (d, 3H), 1,10 (m, SH).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 173,8, 173,4, 172,9, 172,4, 146,6, 146,4, 133,6, 133,4, 131,30, 131,28, 122,5, 125,4, 115,8, 115,4, 114,1, 113,8, 56,9, 56,8, 55,7, 55,5, 52,8, 52,7, 38,3, 38,2, 25,6, 25,5, 20,2, 20,0, 16,05, 16,03, 12,1, 12,0$ .

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 361,27).

Hmotová spektroskopie ( $M^+$ ) 361,1.

#### Příklad 14

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-L-alanyl]-(S)-2-aminopentanové kyseliny ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a použitím L-norvalinu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sennchem) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A

uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 150-153 °C). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f$  = 0,57 v 1:1 směsi EtOAc:hexany) a produkt byl čištěn mžikovou chromatografií použitím 1:1 směsi EtOAc:hexany jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7,21 (d, 1H), 6,95 (d, 1H), 6,70 (d, 1H), 6,47 (dd, 1H), 4,57 (m, 1H), 4,13 (bd, 1H), 3,78 (m, 1H), 3,67 (s, 3H), 1,81 (m, 1H), 1,62 (m, 1H), 1,51 (d, 3H), 1,30 (m, 2H), 0,9 (t, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 173,8, 173,0, 146,6, 133,4, 131,3, 122,4, 115,7, 114,1, 55,6, 52,9, 52,4, 34,8, 20,2, 19,2, 14,2.

$\text{C} \sim \text{HaeN}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 347,24);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 347.

#### Příklad 15

Syntéza  $\text{N}-[\text{N}-(3,4\text{-dichlorfenyl})\text{-L-alanyl}]\text{-(S)-2-aminohexanové kyseliny ve formě methylesteru}$

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a použitím L norleucinu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) a N-(3,4-dichlorfenyl)alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 163-165 °C). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f$  = 0,55 v 1:1 směsi EtOAc:hexany) a produkt byl čištěn mžikovou chromatografií použitím 1:1 směsi EtOAc:hexany jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,18$  (d, 1H,  $J = 8,7$  Hz),  $6,99$  (bd, 1H,  $J = 8,2$  Hz),  $6,69$  (d, 1H,  $J = 2,7$  Hz),  $6,45$  (dd, 1H,  $J = 8,7$  Hz,  $J = 2,7$  Hz),  $4,53$  (m, 1H),  $4,23$  (d, 1H,  $J = 4,2$  Hz),  $3,77$  (m, 1H),  $3,66$  (s, 3H),  $1,83$  (m, 1H),  $1,62$  (m, 1H),  $1,48$  (d, 3H,  $J = 7,0$  Hz),  $1,27$  (m, 4H),  $0,85$  (t, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 173,9$ ,  $173,1$ ,  $146,7$ ,  $133,4$ ,  $131,2$ ,  $122,3$ ,  $115,7$ ,  $114,1$ ,  $55,5$ ,  $52,9$ ,  $52,6$ ,  $32,4$ ,  $28,0$ ,  $22,8$ ,  $20,1$ ,  $14,4$ .

$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 361,27);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 361.

#### Příklad 16

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-tryptophanu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a použitím L-tryptophanu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání =  $54-66^\circ\text{C}$ ). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,43$  v 1:1 směsi EtOAc:hexany) a produkt byl čištěn mžikovou chromatografií použitím 1:1 směsi EtOAc:hexany jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 8,15$  (s, 0,5H),  $7,98$  (bs, 0,5H),  $7,51$  (d, 0,5H),  $7,12$  (m, 6H),  $6,60$  (d, 0,5H),  $6,53$  (dd, 1H),  $6,24$  (m, 1H),  $4,88$  (m, 1H),  $3,90$  (d, 0,5H),  $3,70$  (m, 4,5H),  $3,32$  (m, 1H),  $3,22$  (m, 1H),  $1,40$  (m, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 173,81$   $173,61$   $172,81$   $172,41$   $146,41$   $146,31$   $136,61$   $133,31$   $133,21$   $131,21$   $131,1$   $128,21$   $127,71$   $123,31$   $122,81$   $122,051$   $122,021$   $120,31$   $120,21$   $119,0$   $118,71$

115,51 115,41 113,81 113,31 112,11 111,91 110,21 109,91  
 55,31 55,11 53,5, 53,1, 53,0t 52,91 27,91 27,71 19,81 19,6.  
 $C_{21}H_{21}N_3O_3Cl_2$  (MW = 434,33);  
 hmotová spektroskopie ( $MH^+$ ) 434.

#### Příklad 17

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-aspartové kyseliny ve formě  $\beta$ -(terc.-butylesteru)  $\alpha$ -methylesteru  
 Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a použitím L-aspartové kyseliny ve formě hydrochloridu  $\beta$ -(terc.-butylesteru)  $\alpha$ -methylesteru (Bachem) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f$  = 0,56 v 1:1 směsi EtOAc:hexany) a produkt byl čištěn mžikovou chromatografií použitím 1:1 směsi EtOAc:hexany jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1H$ -nmr ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 7,52 (d, 0,5H), 7,42 (d, 0,5H), 7,13 (m, 1H), 6,66 (d, 0,5H), 6,60 (d, 0,5H), 6,40 (m, 1H), 4,76 (m, 1H), 4,40 (d, 0,5H), 4,31 (d, 0,5H), 3,75 (m, 1H), 3,69 (s, 1,5H), 3,62 (s, 1,5H), 2,88 (m, 1H), 2,62 (m, 1H), 1,47 (m, 3H), 1,32 (s, 4,5H), 1,21 (s, 4,5H).

$^{13}C$ -nmr ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 174,0, 173,7, 171,7, 171,4, 170,30, 170,27, 146,7, 146,6, 133,4, 133,3, 131,2, 131,1, 122,0, 115,6, 115,1, 114,0, 113,4, 82,4, 55,4, 55,2, 53,24, 53,19, 49,0, 48,7, 37,9, 37,8, 28,4, 28,2, 19,9, 19,8.

$C_{18}H_{24}N_2O_5Cl_2$  (MW = 419,31);

hmotová spektroskopie ( $MH^+$ ) 418.

#### Příklad 18

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-aspartové kyseliny ve formě  $\alpha$ -methylesteru

Terc.-butylesterová skupina N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-aspartové kyseliny ve formě  $\beta$ -(terc.-butylesteru)  $\alpha$ -methylesteru (z Příkladu 17 uvedeného výše) byla odstraněna postupem podle obecné procedury F a tím se získala sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 53,5-56 °C). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f$  = 0,54 v 1:1 směsi EtOAc:hexany).

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7,59 (d, 1H), 7,18 (m, 1H), 6,79 (d, 0,5 H), 6,69 (d, 0,5H), 6,58 (m, 0,5H), 6,47 (m, 0,5H), 4.W (m, 1H), 3,82 (m, 1H), 3,73 (s, 1,5H), 3,68 (s, 1,5H), 3,04 (m, 1H), 2,79 (m, 0,5H), 2,73 (m, 0,5H), 1,49 (m, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 175,7, 175,6, 175,14, 175,07, 171,1, 171,0, 145,0, 144,6, 133,6, 133,5, 131,44, 131,40, 124,2, 123,4, 55,9, 55,4, 53,8, 53,7, 49,05, 49,00, 36,1, 19,2, 19,1.

$\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{Cl}_2$  (MW = 363,20);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 363.

#### Příklad 19

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-N $\epsilon$ -BOC-L-lysinu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D a použitím N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) a N $\epsilon$ -BOC-L-lysinu ve formě hydrochloridu methylesteru (Bachem) byla připravena sloučenina z názvu ve formě oleje.

Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,23$  v 45 % směsi ethylacetát/hexany).

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,22$  (m, 4H), 6,63 (q, 1H), 6,43 (m, 1H), 4,72 (t, 0,5H), 4,63 (t, 0,5H), 4,53 (m, 1H), 4,42 (q, 1H), 3,78 (m, 1H), 3,68 (s, 1,5H), 3,62 (d, 1,5H), 3,00 (m, 2H), 1,90-1,05 (m, 4H), 1,48 (d, 3H), 1,42 (s, 9H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 174,2$ , 173,9, 173,1, 172,8, 156,7, 156,6, 146,8, 146,7, 133,4, 133,3, 131,2, 131,1, 121,9, 121,8, 115,5, 115,1, 114,0, 113,8, 79,7, 79,6, 60,9, 55,2, 55,1, 53,0, 52,9, 52,4, 52,1, 40,6, 40,5, 32,3, 32,2, 30,1, 28,9, 22,8, 21,6, 19,9, 14,7.

#### Příklad 20

Syntéza N-[N-benzothiazol-6-yl)-D,L-alanyl]-(S)-2-aminohexanové kyseliny ve formě methylesteru

#### Krok A: Syntéza N-(N-benzothiazol-6-yl)-D,L-alaninu

Roztok 1 gram 6-aminobenzothiazolu (Lancaster) v 60 ml dichlormethanu byl zpracováván 0,63 gramy pyridinu a potom 2,1 gramy anhydridu kyseliny trifluoroctové při teplotě okolí. Reakční směs byla míchána po dobu 3 hodin a během této doby byla původně horká reakční směs ochlazena na teplotu okolí. Směs byla promývána 5 % vodným roztokem kyseliny citronové, sušena nad  $\text{MgSO}_4$  a rozpouštědla byla odstraněna a tím se získal kvantitativní výtěžek 6-aminobenzotriazol trifluoracetamidu ve formě krémově zabarvené pevné látky, která byla používána okamžite v následující reakci.

Dávka 300 mg 6-aminobenzotriazol trifluoracetamidu byla rozpuštěna v 35 ml THF a přidána do 1,2 ekvivalentu KH při teplotě okolí. Roztok byl zahříván na teplotu zpětného toku po dobu 5 hodin, ochlazen a byl přidán krystal 18-koruna-6 (Aldrich) spolu s 331 mg ethyl-2-brompropionátu (Aldrich) a výsledná směs byla zahřívána na teplotu zpětného toku po dobu 36 hodin. Reakční směs byla ochlazená, rozpouštědla byla odstraněna za sníženého tlaku a residuum bylo rozpuštěno v ethylacetátu. Organické složky byly promývány vodou. pH vodné vrstvy bylo upraveno na pH 5 a vrstva byla extrahována ethylacetátem. Organické složky byly sloučeny, sušeny nad  $\text{MgSO}_4$  a rozpouštědla byla odstraněna. Surový materiál byl čištěn preparativní chromatografií na tenké vrstvě použitím směsi dichlormethan/methanol (94:4) a tím se získal N-(benzothiazol-6-yl)-D,L-alanin ve formě ethylesteru ( $R_f = 0,5$ ). Tento materiál byl zpracováván methanolem a 5 ekvivalenty uhličitanu draselného při teplotě zpětného toku a potom byl ochlazen a rozpouštědla byla odstraněna. Residuum bylo vyjmuto ve vodě a ethylacetátu. Vodná vrstva byla upravena na pH 2 a extrahována ethylacetátem. Ethylacetátové extrakty byly sušené a rozpouštědla byla odstraněna a tím se získal N-(benzothiazol-6-yl)-D,L-alanin.

Krok B: Syntéza N-[N-benzothiazol-6-yl)-D,L-alanyl]-(S)-2-aminohexanové kyseliny ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D (použitím DMF jako reakčního rozpouštědla, ethylacetátu pro extrakci a bez promývání 1N HCl) a použitím L-norleucinu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) a N-(benzothiazol-6-yl)-

D,L-alaninu (z Kroku A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,28$  v 1:1 směsi EtOAc:hexany) a produkt byl čištěn mžikovou chromatografií použitím 1:1 směsi EtOAc:hexany jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 8,74$  (s, 1H), 7,91 (s, 1H,  $J = 8,8$  Hz), 7,15 (m, 1H), 7,06 (d, 0,5H,  $J = 2,3$  Hz), 7,00 (d, 0,5H,  $J = 2,3$  Hz), 6,87 (m, 1H), 4,58 (m, 1H), 4,20 (bs, 2H), 3,87 (m, 1H), 3,70 (s, 1,5H), 3,59 (s, 1,5H), 1,30 (m, 10H), 0,84 (t, 1,5H,  $J = 6,9$  Hz), 0,60 (t, 1,5H,  $J = 6,9$  Hz).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 174,3, 174,0, 173,4, 173,0, 151,1, 151,0, 147,2, 145,5, 145,3, 136,2, 136,1, 124,4, 124,2, 116,1, 115,9, 104,6, 103,9, 56,2, 55,69, 53,0, 52,9, 52,5, 52,2, 32,42, 32,36, 28,0, 27,7, 22,8, 22,6, 20,3, 20,1, 14,4, 14,2$ .

$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}_2$  (MW = 349,46);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 350.

#### Příklad 21

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-lysinu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury F a použitím N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-N $\epsilon$ -BOC-L-lysinu ve formě methylesteru (z Příkladu 19 uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě oleje. Reakční produkt byl čištěn silikagelovou chromatografií použitím 89:10:1 směsi  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH: $\text{NH}_4\text{OH}$ .

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ , 2 diastereomery):  $\delta = 7,21$  (d, 1H), 7,09 (bd, 1H), 6,68 (q, 1H), 6,46 (m, 1H), 4,56 (m, 1H), 4,22 (bs, 1H), 3,78 (m, 1H), 3,70 (s, 1,5H), 3,67 (s, 1,5H), 2,66 (t, 1H), 2,54 (t, 1H), 1,80 (m, 1H), 1,62 (m, 1H), 1,51 (d, 1,5H), 1,50 (d, 1,5H), 1,32 (m, 2H), 1,11 (m, 1H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$  - 2 diastereomery):  $\delta = 174,8$ , 174,3, 173,1, 172,8, 171,8, 146,9, 146,7, 133,3, 133,1, 131,2, 131,1, 121,7, 121,5, 115,2, 115,1, 113,9, 113,8, 60,9, 55,0, 54,9, 53,1, 53,0, 52,5, 52,3, 32,1, 32,09, 32,05, 31,8, 23,1, 22,9, 21,6, 19,9, 19,8 a 14,7.

$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 376,28).

#### Příklad 22

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-tyrosinu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D a použitím L-tyrosinu ve formě methylesteru (Sigma) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu jako směs stereoisomerů okolo alaninu. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,29$  v 10 % směsi  $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a čištění bylo prováděno mžikovou chromatografií (10 % směs methanol/methylenchlorid).

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,22 - 7,50$  (m, 7H), 6,36 (dd, 0,5H), 6,28 (dd, 0,5H), 4,83 (m 1H), 4,04 (dd, 1H), 3,73 (s, 1,5H), 3,70 (m, 1H), 3,68 (s, 1,5H), 3,14 (dd, 0,5H), 2,97 (m, 1,5H), 1,43 (d, 1,5H), 1,35 (d, 1,5H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 174,20$ , 174,08, 172,75, 172,26, 156,10, 155,99, 146,45, 146,32, 133,50, 133,38, 131,39, 131,26, 130,81, 130,67, 127,43, 127,00, 122,41, 122,22, 116,15,

116,12, 115,68, 115,39, 113,94, 113,46, 55,47, 55,08,  
53,54, 53,18, 37,62, 37,44, 19,91, 19,87.

$C_{19}H_{20}N_2O_4Cl_2$  (MW = 411,28).

#### Příklad 23

Syntéza N-[N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-alaninu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D a použitím N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu B uvedeného výše) a L-alaninu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) byla připravena sloučenina z názvu ve formě oleje. Reakční produkt byl čištěn silikagelovou chromatografií použitím 50 % ethylacetát/hexan.

NMR data byla následující:

$^1H$ -nmr ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 1,3-1,55 (tři soubory doubletů při 1,34, 1,39 a 1,48, všechny J = 7, celkově 6H), 3,7-3,9 (m se singlety na 3,67 a 3,72, 4H), 4,3-4,4 (m, 1H), 4,5-4,65 (m, 1H), 6,4-6,6 (m, 2H), 6,73 (s, 1H), 6,95-7,1 (m, 1H).

$^{13}C$ -nmr ( $CDCl_3$ ):  $\delta$  = 15,52, 15,59, 16,75, 16,87, 45,29, 45,39, 50,02, 51,89, 51,99, 108,9, 109,2, 109,5, 116,14, 116,19, 132,96, 133,96, 133,05, 145,67, 145,76, 170,13, 170,32, 170,40, 170,63.

$C_{13}H_{16}N_2O_3Cl_2$  (MW = 319,19).

Hmotová spektroskopie ( $M^+$ ) 319.

#### Příklad 24

Syntéza N-[N-(3,5-dichlorfenyl)-L-alanyl]-(S)-2-aminopentanové kyseliny ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D a použitím N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L- alaninu (z Příkladu B uvedeného výše) a L-norvalinu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sennchem) byla připravena sloučenina z názvu. Reakční produkt byl čištěn silikagelovou chromatografií použitím 50 % směsi ethylacetát/hexan.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0,92$  (t,  $J = 7$ , 3H), 1,2-1,4 (m, 2H), 1,50 (d,  $J = 7$ , 3H), 1,5-1,7 (m, 1H), 1,75-1,9 (m, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,75-3,9 (m, 1H), 4,2 (bs, 1H), 4,5-4,65 (m, 1H), 6,5 (bs, 2H), 6,73 (s, 1H), 6,85 (bs, 1H) .

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 14,2$ , 19,25, 20,13, 34,8, 52,4, 53,0, 55,2, 112,7, 119,5, 136,1, 148,7, 173,0, 173,5.

$\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 347,24).

Hmotová spektroskopie ( $\text{M}^+$ ) 346.

#### Příklad 25

Syntéza N-[N-(3,5-dichlorfenyl)-L-alanyl]-L-fenylalaninu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D a použitím N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L- alaninu a L-fenylalaninu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) byla připravena sloučenina z názvu. Reakční produkt byl čištěn silikagelovou chromatografií použitím 50 % směsi ethylacetát/hexan.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1,40$  (d,  $J = 7$ , 3H), 3,10 (dd,  $J = 7,14$ , 1H), 3,23 (dd,  $J = 5,14$ , 1H), 3,74 (s, 3H), 3,75-3,9 (m, 1H), 4,0 (bs, 1H), 4,8- 4,95 (m, 1H), 6,45 (bs, 2H), 6,73 (s, 2H), 7,0-7,2 (m, 2H), 7,2-7,3 (m, 5H) .

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 19,4, 37,5, 52,4, 52,7, 54,5, 112,0, 118,9, 127,1, 128,5, 129,1, 135,5, 135,6, 148,0, 171,4, 172,6$ .

$\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 395,29);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 394.

#### Příklad 26

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-aspartové kyseliny ve formě  $\beta$ -(methylester)  $\alpha$ -methylesteru

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a použitím L- aspartové kyseliny ve formě  $\beta$ -(methylester)  $\alpha$ -methylesteru (Sigma) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 113,5-118 °C). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,29$  v 1:1 směsi EtOAc:hexany) a produkt byl čištěn mžikovou chromatografií použitím 1:1 směsi EtOAc:hexany jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,47$  (bd, 1H), 7,20 (m, 1H), 6,69 (d, 0,5H), 6,60 (d, 0,5H), 6,44 (m, 1H), 4,83 (m, 1H), 4,25 (bs, 0,5H), 4,18 (bs, 0,5H), 3,79 (m, 1H), 3,72 (s, 1,5H), 3,67 (s, 1,5H), 3,65 (s, 1,5H), 3,48 (s, 1,5H), 3,00 (m, 1H), 2,79 (m, 1H), 1,50 (m, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 174,0, 173,6, 172,0, 171,7, 171,4, 171,3, 146,6, 146,4, 133,43, 133,37, 131,22, 131,20, 122,2, 122,0, 115,5, 115,0, 114,1, 113,6, 55,4, 55,2, 53,46, 53,44, 52,7, 52,5, 48,8, 48,7, 36,4, 36,3, 19,9, 19,7$ .

$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{Cl}_2$  (MW = 377,23);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 377.

## Příklad 27

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-(N'-1-benzyl)-L-histidin ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a použitím 1-benzyl-L-histidinu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 49-51 °C). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f$  = 0,21 v 5 % směsi methanol/methylenchlorid) a produkt byl čištěn mžikovou chromatografií použitím 5 % směsi methanol:methylenchlorid jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 8,22 (d, 0,5H), 7,88 (d, 0,5H), 7,29 (m, 3H), 7,08 (m, 4H), 6,65 (d, 0,5H), 6,44 (m, 2,5H), 4,90 (s, 1H), 4,86 (s, 1H), 4,62 (m, 1H), 4,47 (m, 1H), 3,72 (m, 1H), 3,61 (s, 1,5H), 3,47 (s, 1,5H), 2,95 (m, 2H), 1,42 (d, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 174,0, 173,9, 172,4, 172,0, 146,9, 138,1, 137,9, 137,6, 136,7, 136,5, 133,1, 133,0, 131,0, 130,9, 129,6, 129,5, 128,84, 128,79, 127,74, 127,71, 121,1, 121,0, 117,3, 115,3, 115,1, 113,9, 113,6, 54,9, 54,8, 53,2, 52,9, 52,8, 52,7, 51,3, 51,2, 30,2, 29,8, 19,8.

$\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 475,38);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 475.

## Příklad 28

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-glutamové kyseliny ve formě  $\beta$ -(methylester)  $\alpha$ -methylesteru

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a použitím L- glutamové kyseliny ve formě hydrochloridu  $\beta$ -

(methylester)  $\alpha$ -methylesteru (Bachem) a N- (3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě oleje. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,52$  a  $0,59$  v 1:1 směsi EtOAc:hexany) a produkt byl čištěn mžikovou chromatografií použitím 1:1 směsi EtOAc:hexany jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,25$  (m, 2H), 6,69 (m, 1H), 6,45 (m, 1H), 4,54 (m, 1H), 3,78 (m, 1H), 3,70 (s, 1,5H), 3,65 (s, 1,5H), 2,10 (m, 4H), 1,49 (d, 3H), 1,40 (s, 9H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 174,2$ , 173,9, 172,8, 172,7, 172,5, 172,3, 146,6, 146,5, 133,5, 133,3, 131,3, 131,2, 122,16, 122,14, 115,7, 115,4, 114,0, 113,6, 81,6, 81,5, 55,4, 55,2, 53,1, 53,0, 52,3, 51,9, 32,0, 31,7, 28,6, 27,6, 27,3, 20,0, 19,8.

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5\text{Cl}_2$  (MW = 433,34);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 432.

#### Příklad 29

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-glutamové kyseliny ve formě  $\alpha$ -methylesteru

Terc.-butylesterová skupina N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]glutamové kyseliny ve formě  $\beta$ -(methylester)  $\alpha$ -methylesteru (z Příkladu 28 uvedeného výše) byla odstraněna postupem podle obecné procedury F ( $\text{NaHCO}_3$  promývání bylo vynecháno a produkt byl získán z ethylacetátové fáze) a tím se získala sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání =  $42-45^\circ\text{C}$ ). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,42$  a  $0,50$  v 10 % směsi methanol/methylenchlorid).

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7,57 (bs, 1H), 7,25 (d, 1H), 6,75 (d, 1H), 6,51 (m, 1H), 4,67 (m, 1H), 3,91 (m, 1H), 3,76 (s, 1,5H), 3,69 (s, 1,5H), 2,50-2,15 (m, 3H), 2,10-1,85 (m, 1H), 1,51 (bs, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 177,98, 177,73, 175,17, 174,94, 172,64, 172,26, 146,60, 146,45, 133,52, 133,33, 131,41, 131,27, 122,32, 122,28, 115,68, 155,47, 113,98, 113,59, 55,37, 55,17, 53,35, 53,29, 52,20, 51,85, 30,68, 30,26, 227,29, 27,18, 19,86, 19,77.

$\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{Cl}_2$  (MW = 377,23).

#### Příklad 30

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-L-alanyl]-L-leucineamidu  
Postupem podle obecné procedury D a použitím hydrochloridu L-leucinamidu (Sigma) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu. Tato sloučenina byla potom čištěna sloupcovou chromatografií, vymývána nejprve 1:1 směsí EtOAc/hexan, potom 5 % MeOH v methylenchloridu.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7,32 (d, 8,6, 1H), 7,17 (d, 8,7, 1H), 6,66 (d, 2,7, 1H), 6,54 (s, 1H), 6,41 (dd, 2,7, 8,7, 1H), 6,13 (s, 1H), 4,48 (m, 1H), 4,33 (d, 5,3, 1H), 3,83 (kvint., 6,9, 1H), 1,58 (m, 3H), 1,44 (d, 7,0, 3H), 0,89 (d, 6,0, 3H), 0,85 (d, 5,9, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 174,5, 173,9, 146,0, 132,8, 130,7, 121,5, 114,7, 113,3, 54,3, 51,1, 40,8, 24,8, 22,9, 21,7, 19,2.

$\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}_2$  (MW = 346,26).

Hmotová spektroskopie ( $\text{M}^+$ ) 346.

## Příklad 31

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-(3,5-dijod)-L-tyrosinu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D a použitím 3,5-dijod-L-tyrosinu ve formě hydrochloridu methylesteru (Bachem) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu jako směs stereoisomerů okolo alaninu. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,29$  v 10 % směsi  $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) a čištění bylo prováděno mžikovou chromatografií (10 % směs methanol/methylenchlorid).

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$  - částečně čistý diastereomer A)  $\delta = 7,37$  (s, 2H), 7,19 (d, 1H), 6,99 (bd, 1H), 6,65 (d, 1H), 6,40 (m, 1H), 5,78 (s, 1H), 4,73 (q, 1H), 3,72 (m, 1H), 0,70 (s, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$  - dva diastereomers):  $\delta = 173,86, 171,87, 171,41, 171,37, 170,90, 153,48, 150,74, 146,37, 146,30, 141,01, 140,09, 138,39, 133,50, 133,45, 132,14, 131,62, 131,34, 131,28, 122,80, 122,62, 121,82, 115,59, 115,78, 115,72, 115,47, 114,54, 113,79, 113,21, 82,92, 77,08, 61,01, 55,69, 53,32, 53,28, 53,18, 53,14, 52,97, 52,90, 52,76, 36,37, 36,15, 21,67, 20,20, 20,11, 19,76, 14,79$ .

$\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_4\text{Cl}_2\text{I}_2$  (MW = 663,08);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) = 663.

## Příklad 32

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-(3-jod)-L-tyrosinu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D a použitím 3-jod-L-tyrosinu ve formě hydrochloridu methylesteru (připraveného postupem podle obecné procedury K a použitím 3-jod-L-tyrosinu (Aldrich)) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu jako směs stereoisomerů okolo alaninu. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,29$  v 10 % směsi MeOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a čištění bylo prováděno mžikovou chromatografií (10 % methanol/methylenchlorid).

NMR data byla následující:

<sup>1</sup>H-nmr (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 7,37 - 7,20$  (m, 3H), 6,97 - 6,60 (m, 3H), 6,42 (dd, 1,5H), 6,32 (dd, 1,5H), 5,52 (bs, 0,5H), 5,43 (bs, 0,5H), 4,80 (m, 1H), 3,94 (dd, 1H), 3,73 (s, 1,5H), 3,70 (s, 1,5H), 3,12 (dd, 0,5H), 2,94 (m, 1,5H), 1,48 (d, 1,5H), 1,43 (d, 1,5H).

<sup>13</sup>C-nmr (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta = 173,56, 171,80, 171,033, 154,52, 154,47, 145,69, 139,15, 138,74, 132,88, 132,71, 130,83, 130,61, 130,40, 130,26, 129,14, 128,81, 121,76, 121,73, 115,11, 114,97, 114,86, 113,20, 112,71, 84,96, 84,68, 54,85, 54,65, 52,78, 52,60, 52,57, 52,51, 36,29, 36,08, 19,40, 19,27$ .

C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>I (MW = 537,18);

hmotová spektroskopie (MH<sup>+</sup>) = 538.

### Příklad 33

Postupem podle obecných procedure a příkladů uvedených výše může být připravena následující sloučenina:

N-[N-(4-chlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-fenylalaninu ve formě methylesteru

### Příklad 34

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)glycyl]-(S)-2-aminopentanové kyseliny ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D a použitím N-(3,4-dichlorfenyl)glycinu (z Příkladu 1 uvedeného výše) a L-norvalinu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sennchem) byla připravena sloučenina z názvu. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,32$  v 50 % směsi ethylacetát/hexany) a čištění bylo prováděno silikagelovou chromatografií použitím směsi ethylacetát/hexany jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,21$  (d,  $J = 8,7$ , 1H),  $6,94$  (d,  $J = 7,8$ , 1H),  $6,68$  (d,  $J = 2,6$ , 1H),  $6,4$  (m, 1H),  $4,6$  (m, 2H),  $3,79$  (d,  $J = 2,6$ , 2H),  $3,71$  (s, 3H),  $1,7$  (m, 2H),  $1,2$  (m, 2H),  $0,88$  (t,  $J = 7,3$ , 1,3, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 173,3$ ,  $170,2$ ,  $147,2$ ,  $133,6$ ,  $131,3$ ,  $122,2$ ,  $115,0$ ,  $113,6$ ,  $53,0$ ,  $52,3$ ,  $48,8$ ,  $34,8$ ,  $19,2$ ,  $14,1$ .

$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 333,22);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) = 334.

#### Příklad 35

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-Nε-(hexanoyl)-L-lysinu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D a použitím N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-lysinu ve formě methylesteru (z Příkladu 21 uvedeného výše) a hexanové kyseliny (Aldrich) byla připravena sloučenina z názvu. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,38$  v 60 %  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ /10 % hexany/ 27 % EtOAc/ 3 % MeOH) a čištění bylo prováděno mžikovou chromatografií použitím 60 %  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /10 % hexany/ 27 % EtOAc/ 3 % MeOH jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,70$  (d),  $7,25$  (m),  $7,15$  (m),  $6,68$  (m),  $6,42$  (m),  $5,95$  (bs),  $5,79$  (bs),  $4,70$  (bs),  $4,50$  (m),  $3,80$  (m),  $3,78$  (s),  $3,72$  (s),  $3,45$  (m),  $3,20$  (m),  $3,05$  (m),  $2,12$  (m),  $1,98$  (m),  $1,80$  (m),  $1,60$  (m),  $1,45$  (m),  $1,30$  (m),  $1,10$  (m).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 175,6$ ,  $174,4$ ,  $174,0$ ,  $173,9$ ,  $173,7$ ,  $173,1$ ,  $156,6$ ,  $146,9$ ,  $146,8$ ,  $133,5$ ,  $133,2$ ,  $131,2$ ,  $131,1$ ,  $121,7$ ,  $115,4$ ,  $115$ ,  $23$ ,  $115,1$ ,  $114,0$ ,  $113,9$ ,  $79,6$ ,  $55,1$ ,  $54,9$ ,  $54,8$ ,  $53,0$ ,  $52,9$ ,  $52,4$ ,  $52,0$ ,  $42,6$ ,  $40,9$ ,  $39,4$ ,  $37,1$ ,  $32,1$ ,  $31,7$ ,  $30,3$ ,  $29,4$ ,  $28,9$ ,  $28,5$ ,  $26,9$ ,  $25,9$ ,  $25,9$ ,  $23,0$ ,  $19,9$ ,  $19,7$ .

$\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_4\text{Cl}_2$  (MW = 474,43);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) = není k dispozici.

#### Příklad 36

Syntéza  $\text{N}-[\text{N}-(3,4\text{-dichlorfenyl})\text{-D,L-alanyl}]\text{-L-fenylalaninamidu}$

Postupem podle obecné procedury D a použitím fenylalaninamidu (Bachem) a  $\text{N}-(3,4\text{-dichlorfenyl})\text{-D,L-alaninu}$  (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání =  $177\text{-}179^\circ\text{C}$ ). Tato sloučenina byla potom čištěna rozetřením s chlorformem.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta = 8,0\text{-}8,2$  (d, 1H),  $7,45$  (m, 1H),  $7,05\text{-}7,30$  (m, 7H),  $7,65\text{-}7,72$  (m, 1H),  $6,24\text{-}6,51$  (m, 2H),  $4,45$  (m, 1H),  $3,82$  (m, 1H),  $2,95$  (m, 1H),  $2,78$  (m, 1H),  $1,05\text{-}1,25$  (m, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 173,0$ ,  $172,9$ ,  $172,8$ ,  $172,7$ ,  $147,9$ ,  $137,7$ ,  $131,1$ ,  $130,3$ ,  $129,21$ ,  $129,15$ ,  $128,0$ ,  $127,9$ ,  $126,21$ ,

126,19, 116,8, 113,5, 113,0, - 112,6, 53,4, 53,3, 52,0, 51,8, 37,92, 37,86, 18,9, 18,6.

$C_{18}H_{19}N_3O_2Cl_2$  (MW = 380,28);

hmotová spektroskopie ( $MH^+$ ) 380.

#### Příklad 37

Syntéza  $N-[N-(3,4\text{-dichlorfenyl})\text{-D,L-alanyl}]\text{-(S)-2-aminohexan-(N-methyl)-amidu}$

Postupem podle obecné procedury D a použitím N-methyl amidu L-norleucinu (přípraven kopulací BOC-L-norleucinu (Bachem) methylaminem (Aldrich) postupem podle obecné procedury E, následovaným odstraněním BOC skupiny použitím obecné procedury F) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu byla připravena sloučenina z názvu. Tato sloučenina byla potom čištěna promýváním vodným uhličitanem draselným.

NMR data byla následující:

$^1H\text{-nmr}$  ( $CD_3OD$ )  $\delta$  = 6,99 (t, 1H), 6,48 (d, 10,8, 1H), 6,32 (d, 8,7, 1H), 4,09 (m, 1H), 3,68 (q, 7,0, 0,5H), 3,59 (q, 7,1, 0,5H), 2,50 (s, 1,5H), 2,47 (s, 1,5H), 1,28-1,60 (m, 2H), 1,23 (t, 6,5, 3H), 0,80-1,20 (m, 4H), 0,68

$^{13}C\text{-nmr}$  ( $CD_3OD$ ):  $\delta$  = 176,6 (překrývající se), 174,54, 174,51, 148,8, 148,5, 133,6, 133,5, 131,7, 131,6, 121,0, 120,8, 115,2, 115,1, 114,5, 114,2, 55,3, 54,7, 54,3, 54,1, 33,3 (překrývající se), 29,0, 28,8, 26,3, 26,2, 23,4, 23,3, 19,0 (překrývající se), 14,3, 14,2.

$C_{16}H_{23}N_3O_2Cl_2$  (MW = 360,29);

hmotová spektroskopie ( $MH^+$ ) 360.

#### Příklady 38 a 39

Syntéza  $N-[N-(3,4\text{-dichlorfenyl})\text{-D,L-alanyl}]\text{-}\beta\text{-cyklohexylalaninu ve formě methylesteru}$

Postupem podle obecné procedury D a použitím  $\beta$  - cyklohexylalaninu ve formě methylesteru (připraven from  $\beta$  - cyklohexylalaninu (Bachem) použitím obecné procedury K) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu byla sloučenina z názvu, jako směs diastereomerů kolem alaninu, připravena ve formě oleje. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f$  = 0,27 (druhý isomer) a 0,30 (první isomer) v 35 % EtOAc/hexany) a čištění bylo prováděno mžikovou chromatografií (35 % EtOAc/hexany).

NMR data byla následující (první isomer - Příklad 38):

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,21 (d, 1H), 6,81 (bd, 1H), 6,70 (d, 1H), 6,46 (dd, 1H), 4,62 (m, 1H), 4,19 (d, 1H), 3,77 (m, 1H), 3,65 (s, 3H), 1,65 - 0,90 (m, 10H), 1,50 (d, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  = 173,78, 173,48, 146,62, 133,45, 131,26, 122,51, 115,84, 114,17, 55,64, 52,91, 50,47, 40,18, 34,81, 34,04, 32,88, 26,86, 26,71, 26,55, 20,13.

NMR data byla následující (druhý Isomer - Příklad 39):

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,23 (d, 1H), 6,83 (bd, 1H), 6,67 (d, 1H), 6,45 (dd, 1H), 4,63 (m, 1H), 4,10 (d, 1H), 3,69 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 1,65 - 0,90 (m, 10H), 1,51 (d, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  = 173,98, 173,56, 146,38, 133,65, 131,34, 122,49, 115,35, 113,78, 55,39, 52,95, 50,21, 40,26, 34,61, 34,10, 32,68, 26,82, 26,64, 26,41, 19,98.

$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 401,34);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 401.

#### Příklad 40

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-L-alanyl]-(S)-2-aminohexanamidu

Postupem podle obecné procedury D a použitím L-norleucinamidu

získaného z BOC-L-norleucinamidu (z Příkladu F uvedeného výše použitím obecné procedury F) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 156-161 °C).

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 6,49 (m, 1H), 6,32 (m, 1H), 1,14 (m, 1H), 3,54- 3,71 (m, 1H), 0,80-1,62 (m, 9H), 0,68 (m, 1,5H), 0,58 (m, 1,5H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  = 176,63, 176,56, 148,8, 148,5, 133,6, 133,5, 131,7, 131,6, 120,8, 115,2, 115,1, 114,4, 114,2, 55,3, 54,7, 53,9, 53,7, 33,4, 33,3, 29,0, 28,6, 23,4, 23,3, 19,03, 18,99, 14,3, 14,2..

$\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}_2$  (MW = 346,26);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 346.

#### Příklad 41

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-(S)-2-aminohexan-(N, N-dimethyl)-amidu

Postupem podle obecné procedury D a použitím L-norleucin N,N-dimethylamidu (připraven kopulací BOC-L-norleucinu (Bachem) s dimethylaminem (Aldrich) použitím obecné procedury E, následovanou odstraněním BOC skupiny použitím obecné procedury F) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 137-160 °C). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě (0,20 a 0,24 (5 % MeOH v  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) a čištění této sloučeniny bylo prováděno precipitací z vody.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0,77$  (m, 3H), 1,11 (m, 1H), 1,24 (m, 3H), 1,47 (m, 3H), 1,40-1,80 (m, 2H), 2,92 a 2,94 (two s, 3H), 3,07 (s, 3H), 3,84 (m, 1H), 4,32 (d,  $J = 5,3$  Hz, 1H), 4,90 (m, 1H), 6,44 (m, 1H), 6,65 (s, 1H), 7,17 (m, 1H), 7,35 (m, 1H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 13,8, 13,9, 19,3, 19,4, 22,38, 22,45, 27,06, 27,14, 32,3, 32,5, 35,7$  (possibly překrývající se), 37,0, 37,1, 48,6, 48,8, 54,3, 54,5, 113,1, 113,5, 114,4, 114,7, 121,1, 121,3, 130,6 (překrývající se), 132,7, 132,9, 146,0, 146,2, 171,4, 171,5, 172,6, 172.

$\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}_2$  (MW = 374,31);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 374.

#### Příklad 42

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-methioninu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D a použitím L-methioninu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu jako směs diastereomerů. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,35$  v 43 % EtOAc/hexany) a čištění této sloučeniny bylo prováděno mžikovou chromatografií s 43 % směsí EtOAc/hexany.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,21$  (d, 2H), 6,68 (m, 1H), 6,43 (m, 1H), 4,68 (m, 1H), 4,21 (dd, 1H), 3,79 (m, 1H), 3,73 (s, 1,5H), 3,68 (s, 1,5H), 2,46 (m, 1H), 2,31 (t, 1H), 2,23 - 1,88 (m, 2H), 2,06 (s, 1,5H), 1,93 (s, 1,5H), 1,50 (d, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 174,09, 173,81, 172,73, 172,38, 146,60, 146,47, 133,43, 131,37, 131,27, 122,36, 122,33, 115,65,$

115,31, 114,05, 113,65, 55,48, 55,32, 53,19, 53,16, 51,99, 51,68, 31,74, 31,64, 30,62, 30,42, 20,10, 19,92, 16,08, 15,91.

$C_{15}H_{20}N_2O_2Cl_2S$  (MW = 379,31);

hmotová spektroskopie ( $MH^+$ ) 379.

#### Příklad 43

Syntéza  $N-[N-(3,5\text{-dichlorfenyl})\text{-D,L-alanyl}]\text{-(S)-2-aminohexan-(N,N-dimethyl)-amidu}$

Postupem podle obecné procedury E a použitím L-norleucin N,N-dimethylamidu (připraven kopulací BOC-L-norleucinu (Bachem) s dimethylaminem (Aldrich) použitím obecné procedury E, následovanou odstraněním BOC skupiny použitím obecné procedury F) a N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu B uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,25\text{--}0,30$  v 3 % směsi methanol/dichlormethan) a čištění této sloučeniny bylo prováděno chromatografií se 3 % směsí methanol/dichlormethan.

NMR data byla následující:

$^1H\text{-nmr}$  ( $CDCl_3$ ):  $\delta = 0,8\text{--}0,95$  (překrývající se t, 3H), 1,2–1,8 (m, obsahující překrývající se d při 1,45 a 1,48, 9H), 2,95 (s, 3H), 3,10 (s, 3H), – 3,8–3,9 (m, 1H), 4,3–4,4 (m, 1H), 4,8–4,95 (m, 1H), 6,45 (s, 2H), 6,6–6,7 (m, 1H).

$C_{17}H_{25}N_3O_2Cl_2$  (MW = 374,31).

#### Příklad 44

Syntéza  $N-[N-(3,5\text{-dichlorfenyl})\text{-D,L-alanyl}]\text{-(S)-2-aminohexanamidu}$

Postupem podle obecné procedury D a použitím N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu B uvedeného výše) a L-norleucinamidu (z Příkladu F uvedeného výše) byla

připravena sloučenina z názvu. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,15$  v 3 % směsi methanol/dichlormethan) a čištění této sloučeniny bylo prováděno chromatografií na tenké vrstvě s 3 % směsí methanol/ dichlormethan.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta = 0,9$  (t,  $J = 7$ , 3H), 1,2-1,4 (m, 2H), 1,45 (d,  $J = 7$ , 3H), 1,5-1,7 (m, 1H), 1,75-1,9 (m, 1H), 3,9-4,0 (m, 1H), 4,1-4,3 (m, 1H), 4,3-4,4 (m, 1H), 6,5 (bs, 2H), 6,6 (bs, 1H).

$\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}_2$  (MW = 346,26).

#### Příklad 45

Syntéza N-[N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-(S)-2-aminohexan-(N-methyl)- amidu

Postupem podle obecné procedury D a použitím N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L- alaninu a L-norleucin N-methylamidu (připraveného kopulací BOC-L- norleucine (Bachem) s methylaminem (Aldrich) použitím obecné procedury E, následovanou odstraněním BOC skupiny použitím obecné procedury F) byla připravena sloučenina z názvu. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,25$  v 3 % methanol/dichlormethan) a čištění této sloučeniny bylo prováděno chromatografií na tenké vrstvě s 3 % směsí methanol/dichlormethan.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta = 0,9$  (t,  $J = 7$ , 3H), 1,2-1,4 (m, 2H), 1,45 (d,  $J = 7$ , 3H), 1,5-1,7 (m, 1H), 1,75-1,9 (m, 1H), 2,6-2,7 (m with s at 2,7, 4H), 3,8-4,0 (m, 1H), 4,1-4,3 (m, 2H), 6,5 (bs, 2H), 6,6 (bs, 1H).

$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}_2$  (MW = 360,29).

## Příklad 46

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-L-histidinu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a použitím L-histidinu ve formě dihydrochloridu methylesteru (Sigma) a N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alaninu byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 55-60 °C). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,52$  v 10 % směsi methanol/methylenchlorid) a čištění této sloučeniny bylo prováděno mžikovou chromatografií s 50 % směsí EtOAc/hexany.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 8,14$  (bd,  $J = 7,02$  Hz, 0,5H), 7,79 (bd, 7,57 Hz, 0,5H), 7,33 (s, 1H), 7,14 (m, 1H), 6,73 (s, 0,5H), 6,69 (s, 0,5H), 6,59 (m, 1H), 6,47 (m, 0,5H), 6,37 (m, 0,5H), 4,74 (m, 1H), 4,33 (m, 1H), 3,79 (m, 1H), 3,69 (s, 1,5H), 3,62 (s, 1,5H), 3,05 (m, 2H), 1,47 (d,  $J = 7,02$  Hz, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 174,35, 174,15, 172,45, 172,08, 146,80, 146,67, 135,48, 135,07, 134,65, 133,24, 133,12, 131,13, 131,04, 121,54, 121,49, 115,96, 115,78, 115,38, 115,05, 113,90, 113,72, 61,04, 54,98, 53,11, 52,97, 52,71, 29,71, 19,43, 21,68, 19,86, 19,84, 14,77$ .

$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 385,25);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 385.

## Příklad 47

Syntéza N-[N-(chinolin-3-yl)-D,L-alanyl]-(S)-2-aminohexanové kyseliny ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury G, následované hydrolýzou popsanou v obecné proceduře C byl připraven N-(chinolin-3-yl)-D,L-alanin. Tato sloučenina byla potom kopulována s L-norleucinem ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) použitím obecné procedury D a tím se získala sloučenina z názvu ve formě oleje. Poslední reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,76$  v 10 % směsi methanol/methylenchlorid a  $0,07$  v 1:1 směsi EtOAc:hexany) a produkt byl čištěn mžikovou chromatografií použitím 10 % směsi methanol/methylenchlorid jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 8,53$  (t,  $J = 2,8$  Hz, 1H),  $7,95$  (m, 1H),  $7,63$  (m, 1H),  $7,46$  (m, 2H),  $7,20$  (m, 1H),  $7,10$  (d,  $J = 2,75$  Hz, 0,5H),  $7,01$  (d,  $J = 2,75$  Hz, 0,5H),  $4,60$  (m, 2H),  $3,94$  (m, 1H),  $3,71$  (s, 1,5H),  $3,54$  (s, 1,5H),  $1,90-0,80$  (m, 12H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 173,82, 173,50, 173,40, 172,96, 143,65, 143,60, 143,39, 143,32, 140,34, 140,26, 129,57, 129,49, 127,86, 127,78, 126,94, 126,78, 126,54, 113,39, 112,65, 55,69, 55,46, 53,00, 52,86, 52,62, 52,28, 32,42, 32,35, 28,03, 27,79, 22,78, 22,62, 20,22, 20,01, 14,41, 14,12$ .

$\text{C}_{19}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_3$  (MW = 343,43).

#### Příklad 48

Syntéza N-[N-(benzothiazol-2-yl)-L-alanyl]-(S)-2-aminohexanové kyseliny ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury B a použitím 2-chlorbenzothiazolu (Aldrich) a L-alaninu (Aldrich) byl připraven N-(benzothiazol-2-yl)-L-alanin. Tato sloučenina byla potom kopulována s L-norleucinem ve formě

hydrochloridu methylesteru (Sigma) použitím obecné procedury D (bez promývání v HCl) a tím se získala sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 99-120 °C). Poslední reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f$  = 0,42 v 1:1 směsi EtOAc:hexany) a produkt byl čištěn preparativní deskovou chromatografií použitím 1:1 směsi EtOAc:hexany a 5:95 MeOH:dichlormethan jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7,66-7,03 (m, 6H), 4,69 (m, 1H), 4,58 (m, 1H), 3,72 (s, 1,9H), 3,61 (s, 1,1H), 1,91-1,50 (m, 5H), 1,32-1,08 (m, 4H), 0,87-0,65 (m, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 175,8, 170,3, 166,8, 160,2, 152,3, 148,4, 132,1, 131,1, 126,8, 126,5, 124,5, 122,6, 122,0, 121,4, 120,9, 119,4, 54,3, 54,2, 53,0, 52,9, 3,5, 28,1, 28,0, 23,9, 22,9, 19,0, 18,8, 14,2.

$\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$  (MW = 349,46);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$  350).

#### Příklad 49

Syntéza N-[N-(3,5-difluorfenyl)-D,L-alanyl]-L-alaninu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury E a použitím L-alaninu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) a N-(3,5-difluorfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu C uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 93-95 °C). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f$  = 0,4 v 3 % směsi methanol/methylenchlorid) a čištění této sloučeniny bylo prováděno mžikovou chromatografií s 3 % směsí methanol/methylenchlorid.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 6,9$  (q),  $6,25$  (t),  $6,10$  (q),  $5,3$  (s),  $4,6$  (m),  $4,25$  (m),  $33,7-3,8$  (m),  $1,8$  (s),  $1,5$  (d),  $1,4$  (q),  $1,25$  (s).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 173,78$ ,  $173,51$ ,  $173,44$ ,  $173,27$ ,  $166,24$ ,  $166,09$ ,  $163,04$ ,  $162,83$ ,  $149,41$ ,  $149,37$ ,  $97,47$ ,  $97,34$ ,  $97,20$ ,  $97,09$ ,  $96,82$ ,  $95,08$ ,  $95,03$ ,  $94,73$ ,  $94,69$ ,  $94,39$ ,  $94,34$ ,  $55,27$ ,  $55,22$ ,  $53,10$ ,  $53,02$ ,  $48,46$ ,  $48,35$ ,  $19,99$ ,  $19,87$ ,  $18,72$ ,  $18,66$ .

$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3\text{F}_2$  (MW = 286,3);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 287.

#### Příklad 50

Syntéza  $\text{N-[N-(3,5-difluorfenyl)-D,L-alanyl]-(S)-2-aminohexanové kyseliny ve formě methylesteru}$

Postupem podle obecné procedury E a použitím L-norleucinu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) a N-(3,5-difluorfenyl)-D,L-alaninu byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání =  $93-95^\circ\text{C}$ ). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,6$  v 3 % směsi methanol/methylenchlorid) a čištění této sloučeniny bylo prováděno mžikovou chromatografií s 3 % směsí methanol/methylenchlorid.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 6,95$  (d),  $6,85$  (d),  $6,25$  (t),  $6,15$  (t),  $4,6$  (m),  $4,3$  (m),  $3,8$  (m),  $3,75$  (s),  $3,70$  (s),  $1,8$  (m),  $1,65$  (m),  $1,55$  (d),  $1,3$  (m),  $1,1$  (m),  $0,85$  (t),  $0,80$  (t).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 173,64$ ,  $173,42$ ,  $173,35$ ,  $173,04$ ,  $149,38$ ,  $149,23$ ,  $97,52$ ,  $97,21$ ,  $97,14$ ,  $96,83$ ,  $95,10$ ,  $95,05$ ,  $94,75$ ,

94,70, 94,41, 77,61, 77,19, 55,34, 55,25, 52,97, 52,87,  
52,58, 52,25, 32,41, 27,96, 27,74, 22,79, 22,68, 20,05,  
19,87, 14,39, 14,25.

$C_{16}H_{22}N_2O_3F_2$  (MW = 328,3).

Hmotová spektroskopie ( $M^+$ ) 329.

#### Příklad 51

Syntéza  $N$ -[ $N$ -(3,4-dichlorfenyl)- $L$ -alanyl]-( $S$ )-2-aminohexanamidu

Postupem podle obecné procedury D (použitím DMF jako rozpouštědla a ethylacetátu pro extrakci a bez promývání 1N HCl) a použitím  $L$ -norleucinamidu (přípraven z BOC- $L$ -norleucinamide (z Příkladu F uvedeného výše) použitím obecné procedury F) a  $N$ -(3,4-dichlorfenyl)- $L$ -alaninu připraveného z 3,4-dichloranilinu (Aldrich) a isobutyl- $R$ -(+)-laktátu (Aldrich) použitím obecné procedury J, následované hydrolýzou použitím obecné procedury C) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 184-186 °C). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f$  = 0,48 v 12 % směsi methanol/methylenchlorid) a čištění této sloučeniny bylo prováděno preparativní deskovou chromatografií použitím 12 % směsi methanol/methylenchlorid jako vymývacího rozpouštědla.

NMR data byla následující:

$^1H$ -nmr ( $CD_3OD$ ):  $\delta$  = 6,97 (d,  $J$  = 8,79 Hz, 1H), 6,51 (d,  $J$  = 2,68 Hz, 1H), 6,32 (dd,  $J$  = 8,73 Hz,  $J$  = 2,68 Hz, 1H), 4,14 (m, 1H), 3,67 (q,  $J$  = 6,96 Hz, 1H), 1,40 (m, 10H), 0,70 (m, 3H)

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 177,19, 177,11, 149,41, 134,05, 132,13, 121,38, 115,82, 114,96, 55,26, 54,48, 33,92, 29,54, 23,95, 19,58, 14,83$ .

$\text{C}_{15}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2\text{Cl}_2$  (MW = 346,26);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 346.

#### Příklad 52

Syntéza  $\text{N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-(S)-2-aminohexan-(N-benzyl)-amidu}$

Postupem podle obecné procedury H uvedené výše a použitím  $\text{N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-(S)-2-aminohexanové}$  kyseliny ve formě methylesteru (z Příkladu 15 uvedeného výše) a benzylaminu (Aldrich) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání =  $141-146\text{ }^\circ\text{C}$ ). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě na silikagelu ( $R_f = 0,32$  v 5 % směsi methanol/methylenchlorid) a čištění bylo prováděno preparativní deskovou chromatografií (silikagel s použitím směsi 5 % methanol/methylenchlorid jako vymývacího rozpouštědla).

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,6$  (m, 2H),  $7,2$  (m, 6H),  $6,6$  (m, 1H),  $6,3$  (m, 1H),  $4,47$  (m, 4H),  $3,75$  (m, 1H),  $1,28$  (m, 12H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 174,56, 174,50, 172,39, 172,32, 146,78, 146,65, 138,38, 133,43, 133,38, 131,22, 129,21, 128,06, 121,98, 121,72, 121,66, 115,21, 115,08, 113,73, 113,55, 54,94, 54,36, 53,60, 53,22, 43,95, 33,10, 32,98, 28,24, 27,95, 22,96, 22,90, 19,78, 19,70, 14,49, 14,41$ .

$\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_2$  (MW = 436,39);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 436.

#### Příklad 53

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-(S)-2-amino-2-fenylethanolu

Postupem podle obecné procedury E a použitím N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L- alaninu (z Příkladu A uvedeného výše) a (S)-(+)-2-fenylglycinolu (Aldrich) byla připravena sloučenina z názvu ve formě pevné látky (teplota tání = 66-70 °C). Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě na silikagelu ( $R_f = 0,25$  v 5% směsi methanol/methylenchlorid) a čištění bylo prováděno mžikovou sloupcovou chromatografií (silikagel s použitím směsi 5 % methanol/methylenchlorid jako vymývacího rozpouštědla).

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,4-7,1$  (m, 6H), 6,75 (d,  $J = 3$  Hz, 1H), 6,5- 6,4 (m, 1H), 5 (m, 1H), 4,2-4,0 (m,  $J = 4$  Hz, 1H), 3,8 (2H), 1,7 (s, 1H), 1,55 (m, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 174, 146, 139, 134, 131,8, 129,5, 128,5, 127, 123, 116, 114, 112, 67, 56,5, 55,5, 20$ .

$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$  (MW = 341);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 342.

Příklady 54 a 55

Syntéza N-[N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L-fenylglycyl]-L-alaninu ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury E a použitím N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L-fenylglycinu (z Příkladu J uvedeného výše) a L-alaninu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) byla připravena sloučenina z názvu. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,95$  v 3 % směsi methanol/methylenchlorid) a čištění této sloučeniny

bylo prováděno rekrystalizací z EtOAc, hexanu a etheru. Byla získány dvě částečně oddělené diastereomerické směsi. NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$  - 75 % isomer A/25 % isomer B):  $\delta = 7,45\text{--}7,35$  (m, 5H), 6,7 (m, 2H), 6,47 (m, 2H), 5,1-5,0 (dd,  $J = 3$  Hz, 1H), 4,75 (d,  $J = 3,5$  Hz, 1H), 4,65-4,5 (m, 7,2 Hz 1H), 3,75-3,68 (2 s v poměru 3:1, 3H), 1,43-1,3 (2 d v poměru 3:1,  $J = 7,2$  Hz, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$  - 75 % isomer A/25 % isomer B):  $\delta = 173,27$ , 170,24, 148,61, 138,23, 136,07, 136,00, 130,11, 129,60, 129,58, 127,83, 127,69, 119,10, 112,68, 112,56, 78,03, 63,27, 53,20, 48,94, 18,85.

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ , 25 % isomer A/75 % isomer B):  $\delta = 7,45\text{--}7,35$  (m, 5H), 6,7 (m, 2H), 6,47 (m, 2H), 5,1-5,0 (2xd,  $J = 3$  Hz, 1H), 4,75 (d,  $J = 3,5$  Hz, 1H), 4,65-4,5 (m,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 3,75-3,68 (2 s v poměru 1:3, 3H), 1,43-1,3 (2 d v poměru 1:3,  $J = 7,2$  Hz, 3H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$  - 25 % isomer A/75 % isomer B):  $\delta = 173,27$ , 170,24, 148,61, 138,23, 136,07, 136,00, 130,11, 129,60, 129,58, 127,83, 127,69, 119,10, 112,68, 112,56, 78,03, 63,27, 53,20, 48,94, 18,85.

$\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 381,26);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 381.

#### Příklad 56

Syntéza N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-(S)-2-aminohexanol

Postupem podle obecné procedury I uvedené výše a použitím N-[N-(3,4-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-(S)-2-aminohexanové kyseliny ve formě methylesteru (z Příkladu 15 uvedeného výše) byla připravena sloučenina z názvu ve formě oleje.

Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě na silikagelu ( $R_f = 0,16$  a  $0,17$  v 5 % směsi methanol/methylenchlorid) a čištění bylo prováděno preparativní deskovou chromatografií (silikagel s použitím směsi 5 % methanol/methylenchlorid jako vymývacího rozpouštědla)..

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta = 7,20$  (d, 1H),  $6,79$  (m, 1H),  $6,68$  (dd, 1H),  $6,43$  (d, 1H),  $4,42$  (bd, 0,6H),  $4,30$  (bd, 0,4H),  $3,89$  (m, 1H),  $3,75$  (m, 1H),  $3,70$ - $3,40$  (m, 2H),  $1,60$ - $0,95$  (m, 9H),  $0,90$ - $0,70$  (m, 3H)

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta = 174,42$ ,  $174,17$ ,  $146,06$ ,  $145,96$ ,  $132,89$ ,  $132,85$ ,  $130,74$ ,  $130,69$ ,  $121,64$ ,  $121,49$ ,  $114,98$ ,  $114,70$ ,  $113,14$ ,  $113,08$ ,  $65,42$ ,  $65,11$ ,  $55,00$ ,  $54,76$ ,  $51,69$ ,  $51,48$ ,  $30,67$ ,  $30,59$ ,  $28,16$ ,  $28,00$ ,  $22,48$ ,  $22,36$ ,  $19,44$ ,  $13,92$ ,  $13,82$ .

$\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$  (MW = 333,26);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 333.

#### Příklad 57

Syntéza N-[N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L-alanyl]-(S)-2-amino-2-fenylethanol

Postupem podle obecné procedury E a použitím N-(3,5-dichlorfenyl)-D,L- alaninu (z Příkladu B uvedeného výše) a (S)-(+)-2-fenylglycinolu (Aldrich), může být připravena sloučenina z názvu.

#### Příklad 58

Syntéza N-[N-(3,5-dichlorfenyl)-L-alanyl]-L-fenylglycin ve formě terc.-butylesteru

Postupem podle obecné procedury D (bez promývání 1N HCl) a použitím N-(3,5-dichlorfenyl)-L-alaninu (připraven from 3,5-dichloranilinu (Aldrich) a isobutyl-R-(+)-laktátu (Aldrich) použitím obecné procedury J, následované hydrolýzou použitím obecné procedury C) a L-fenylglycinu ve formě hydrochloridu terc.-butylesteru (Bachem) byla připravena sloučenina z názvu. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,39$  v 25 % EtOAc/hexany) a čištění této sloučeniny bylo prováděno preparativní deskovou chromatografií použitím 25 % směsi EtOAc/hexany.

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,55$  (d,  $J = 7,39$  Hz, 1H),  $7,30$  (s, 5H),  $6,73$  (t,  $J = 1,68$  Hz, 1H),  $6,46$  (d,  $J = 1,71$  Hz, 2H),  $5,45$  (d,  $J = 7,45$  Hz, 1H),  $4,47$  (d,  $J = 5,19$  Hz, 1H),  $3,82$  (m, 1H),  $1,40$  (d,  $J = 6,96$  Hz, 3H),  $1,34$  (s, 9H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 173,23, 169,92, 148,93, 137,43, 136,07, 129,40, 128,85, 127,40, 119,11, 112,48, 83,42, 57,37, 54,70, 28,29, 19,79$ .

$\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}_2$  (MW = 423,34);

hmotová spektroskopie ( $\text{MH}^+$ ) 423.

#### Příklad 59

Syntéza N-[N-(3,5-di-(trifluormethyl)fenyl)-L-alanyl]-L-fenylglycinu ve formě terc.-butylesteru

Postupem podle obecné procedury D a použitím N-[3,5-di-(trifluormethyl)fenyl]-L-alaninu (z Příkladu G uvedeného výše) a L-fenylglycinu ve formě hydrochloridu terc.-butylesteru (Bachem) byla připravena sloučenina z názvu. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,46$  v 25 % směsi EtOAc/hexany).

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7,39$  (d,  $J = 7,39$  Hz, 1H),  $7,29$  (s, 5H),  $6,96$  (s, 2H),  $5,45$  (d,  $J = 7,51$  Hz, 1H),  $4,69$  (d,  $J = 5,31$  Hz, 1H),  $3,95$  (m, 1H),  $1,48$  (d,  $J = 6,96$  Hz, 3H),  $1,33$  (s, 9H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 172,7, 169,9, 147,9, 137,3, 132,8, 132,4, 129,42, 129,34, 129,31, 128,9, 127,4, 127,2, 127, 122,1, 113,50, 113,47, 112,34, 112,29, 112,24, 83,5, 57,3, 54,6, 28,34, 28,30, 28,2, 19,8$ .

$\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3\text{F}_6$  (MW = 490,45).

#### Příklad 60

Syntéza N-[N-(3,5-dimethoxyfenyl)-D,L-alanyl]-(S)-2-aminohexanové kyseliny ve formě methylesteru

Postupem podle obecné procedury E (promývání zředěným HCl a extrakcí EtOAc) a použitím N-(3,5-dimethoxyfenyl)-D,L-alaninu (z Příkladu H uvedeného výše) a L-norleucinu ve formě hydrochloridu methylesteru (Sigma) byla připravena sloučenina z názvu ve formě lehce žlutého oleje. Reakce byla monitorována chromatografií na tenké vrstvě ( $R_f = 0,3$  v 30 % směsi EtOAc/hexany).

NMR data byla následující:

$^1\text{H}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 0,6-0,9$  (dva triplety při  $0,72$  a  $0,82$ ,  $J = 7$  Hz, 3H),  $1,0-1,9$  (m, 9H),  $3,6-3,7$  (čtyři singlety při  $3,60, 3,65, 3,66$  a  $3,67$ , 10H),  $3,7-3,8$  (m, 1H),  $4,6-4,7$  (m, 1H),  $5,7-5,95$  (m, 3H),  $7,1-7,3$  (m, 1H).

$^{13}\text{C}$ -nmr ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 14,21, 14,35, 19,8, 20,0, 22,69, 22,74, 27,8, 28,0, 32,20, 32,45, 52,18, 52,57, 52,65, 52,78, 55,31, 55,52, 55,59, 55,63, 91,6, 91,8, 92,86, 93,24, 149,02, 149,27, 162,11, 162,18, 173,02, 173,44, 174,47, 174,82$ .

$C_{18}H_{28}N_2O_5$  (MW = 352,43).

#### Příklad 61

Buněčné prohledávání pro detekci inhibitorů tvorby  $\beta$ -amyloidu

Množství sloučenin obecného vzorce I uvedeného výše bylo testováno na jejich schopnost inhibice vytváření  $\beta$ -amyloidu v buňkách, obsahujících švédskou mutaci. Tato prohledávací analýza používala buňky (K293 = linie lidských ledvinových buněk), které byly stabilně transfektovány genem amyloidového prekursorového proteinu 751 (APP751), obsahujícího dvojitou mutaci Lys<sub>651</sub>Met<sub>652</sub> na Asn<sub>651</sub>Leu<sub>652</sub> (při číslování APP751) způsobem, který byl popsán v publikaci mezinárodní patentové přihlášky č. 94/10569<sup>8</sup> a v Citron a kol.<sup>11</sup>. Tato mutace je obecně nazývána švédskou mutací a buňky, označené jako „293 751 SWE“, byly vloženy na destičky Corning s 96 jamkami v množství 1,5-2,5 x 10<sup>4</sup> buněk na jamku v Dulbeccově minimálním esenciálním mediu s přidavkem 10% fetálního hovězího séra. Počet buněk je důležitý k tomu, aby bylo dosaženo ELISA výsledků pro  $\beta$ -amyloid v lineární oblasti analýzy (přibližně od 0,2 do 2,5 ng na ml).

Po inkubaci přes noc při teplotě 37 °C v inkubátoru ekvilibrovaném 10% oxidem uhličitým byla média odstraněna a nahrazena 200  $\mu$ l sloučeniny obecného vzorce I (lék), obsahující médium, na jamku pro dvouhodinové předběžné působení a buňky byly inkubovány výše uvedeným způsobem. Zásobní roztoky léku byly připraveny v 100%

dimethylsulfoxidu, tak aby při konečné koncentraci léku, použité při zpracování, koncentrace dimethylsulfoxidu nepřekročila 0,5% a byla ve skutečnosti obvykle rovna 0,1%.

Na konci periody předběžného působení byla média opět odstraněna a nahrazena médiem, obsahujícím čerstvý lék výše uvedeným způsobem a buňky byly inkubovány po dobu dalších dvou hodin. Po tomto zpracování byly destičky centrifugovány v přístroji Beckman GPR při 1200 otáčkách za minutu po dobu pěti minut při teplotě okolí na peletové buněčné zbytky ze zpracovaného média. Z každé jamky bylo 100  $\mu$ l zpracovaného média nebo jeho vhodného zředění přeneseno na ELISA destičku pokrytou protilátkou 266 [P. Seubert, Nature (1992), 359: 325-327] proti aminokyselinám 13-28  $\beta$ -amyloidového peptidu, která je popsána v publikaci mezinárodní patentové přihlášky č. 94/10569<sup>8</sup> a uchováváno při teplotě 4 °C přes noc. ELISA test, používající označené protilátky 6C6 [P. Seubert, Nature (1992), 359: 325-327] proti aminokyselinám 1-16  $\beta$ -amyloidového peptidu byl proveden následující den pro určení množství vytvořeného  $\beta$ -amyloidového peptidu.

Cytotoxické účinky sloučenin byly měřeny modifikací způsobu, který popsali Hansen a kol.,<sup>12</sup>. K buňkám, které zůstaly v tkáňové kultuře na destičce bylo přidáno 25  $\mu$ l zásobního roztoku (5 mg/ml) 3, (4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazolium bromidu (MTT) do konečné koncentrace 1 mg/ml. Buňky byly inkubovány při teplotě 37 °C po dobu jedné hodiny a buněčná aktivita byla zastavena přidáním stejného objemu MTT lýzového pufru (20% hmotn./obj. dodecylsulfátu sodného v 50% dimethylformamidu, pH 4,7).

Úplná extrakce byla dosažena protřepáváním přes noc při teplotě okolí. Byl měřen rozdíl  $OD_{562nm}$  a  $OD_{650nm}$  v mikrodestičkové čtečce Molecular Device  $UV_{max}$  jako indikátor buněčné životaschopnosti.

Výsledky ELISA analýzy  $\beta$ -amyloidového peptidu byly upraveny podle standardní křivky a vyjádřeny jako ng/ml  $\beta$ -amyloidového peptidu. Pro normalizaci na cytotoxicitu, byly tyto výsledky děleny výsledky MTT a vyjádřeny jako procento výsledku proti kontrolnímu vzorku bez léku. Všechny výsledky představují střední hodnotu a standardní odchylku z alespoň šesti opakovaných pokusů.

Testované sloučeniny byly analyzovány na aktivitu pro inhibici vytváření  $\beta$ -amyloidového peptidu v buňkách, používající tento test. Výsledky tohoto testu ukazují, že každá ze sloučenin podle předloženého vynálezu, která byla testována, snižuje vytváření  $\beta$ -amyloidového peptidu o alespoň 30% ve srovnání s kontrolním vzorkem.

#### Příklad 62

In vivo potlačení uvolňování a/nebo syntézy  $\beta$ -amyloidu

Tento příklad ilustruje, jak sloučeniny podle předloženého vynálezu mohou být testovány na in vivo potlačení uvolňování a/nebo syntézy  $\beta$ -amyloidu. Pro tyto experimenty byly použity 3 až 4 měsíce staré PDAPP myši [Games a kol., (1995) Nature 373:523-527]. V závislosti na tom, která sloučenina byla testována, byla sloučenina obvykle připravena s koncentrací 5 nebo 10 mg/ml. Vzhledem k nízké rozpustnosti sloučenin, mohly být podávány s různými

08.11.99

vehikuly, jako je kukuřičný olej (Safeway, South San Francisco, CA); 10% EtOH v kukuřičném oleji (Safeway); 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyklodextrin (Research Biochemicals International, Natick MA); a karboxymethyl-celulóza (Sigma Chemical Co., St. Louis MO). Konkrétně pro příklad 141 byla vehikulem karboxymethyl-celulóza (Sigma).

Myšim byla podána dávka subkutánně pomocí jehly velikosti 26 a po 3 hodinách byla zvířata usmrcena CO<sub>2</sub> narkózou a krev byla odebrána srdeční punkcí, používající 1 cc 25G 5/8" tuberkulin stříkačku/jehlu, potřenou roztokem 0,5 M EDTA, pH 8,0. Krev byla vložena do Becton-Dickinsonovy vakuové trubice, obsahující EDTA a odstřeďovány po dobu 15 minut při 1500 g a při teplotě 5 °C. Potom byly odebrány myší mozky a kortex a hippocampus byly disektovány a uloženy na led.

#### 1. Mozkový test

Pro přípravu hippocampální a kortikální tkáně pro enzymově vázaný imunosorbentní test (ELISA) byla každá oblast mozku homogenizována v 10 objemech ledového guanidinového pufru (5,0 M guanidin-HCl, 50 mM Tris-HCl, pH 8,0) používající motorizovaný drtič Kontes (Fisher, Pittsburgh PA). Homogenáty byly jemně homogenizovány na rotující platformě po dobu tří až čtyř hodin při teplotě okolí a uchovávány při teplotě -20 °C kvantitativním stanovením  $\beta$ -amyloidu.

Mozkové homogenáty byly zředěny 1:10 ledovým kaseinovým pufrem [0,25% kaseinu, fosforečnanově pufrovaný fyziologický roztok (PBS), 0,05% azidu sodného, 20  $\mu$ g/ml aprotininu, 5 mM EDTA, pH 8,0, 10  $\mu$ g/ml leupeptinu], čímž

se snížila konečná koncentrace guanidinu na 0,5 M před centrifugací při 16,000 g po dobu 20 minut při teplotě 4 °C. Byly připraveny  $\beta$ -amyloidové standardy (aminokyseliny 1-40 nebo 1-42), takže konečná kompozice se rovnala 0,5 M guanidinu v přítomnosti 0,1% albuminu hovězího séra (BSA).

Totální  $\beta$ -amyloidová sendvičová ELISA, určující jak  $\beta$ -amyloid (aminokyseliny 1-40) tak i  $\beta$ -amyloid (aminokyseliny 1-42) spočívala ve dvou monoklonálních protilátkách (mAb) proti  $\beta$ -amyloidu. Zachycovací protilátka, 266 [P. Seubert, Nature (1992), 359: 325-327], je specifická na aminokyseliny 13 -28  $\beta$ -amyloidu. Protilátka 3D6 [Johnson-Wood a kol., PNAS USA (1997) 94: 1550-1555], která je specifická na aminokyseliny 1-5  $\beta$ -amyloidu, byla biotinylována a sloužila jako druhá (indikační) protilátka v testu. 3D6 biotinylační procedura používá protokol výrobce (Pierce, Rockford IL) pro NHS-biotinové označení imunoglobulinů s výjimkou, že byl použit pufr 100 mM hydrogenuhličitan sodný, pH 8,5. 3D6 protilátka nerozpoznává vylučovaný amyloidový prekursorový protein (APP) nebo APP plné délky, ale detekuje pouze  $\beta$ -amyloidové druhy aspargové kyseliny aminového konce. Test měl dolní mez citlivosti přibližně 50 pg/ml (11 pM) a nevykazoval žádnou křížovou reaktivitu na endogenní myší  $\beta$ -amyloidový peptid v koncentracích až do 1 ng/ml.

Konfigurace sendvičového testu ELISA určujícího hladinu  $\beta$ -amyloidu (aminokyseliny 1-42) používá monoklonální protilátku 21F12 [Johnson-Wood a kol., PNAS USA (1997) 94: 1550-1555] (která rozpoznává aminokyseliny 33-42  $\beta$ -

amyloidu) jako první (zachytávací) protilátku. Biotinylovaná 3D6 je také indikační protilátka v tomto testu, který má dolní mez citlivosti přibližně 125 pg/ml (28 pM).

266 a 21F12 zachytávací monoklonální protilátky byly naneseny v koncentraci 10  $\mu\text{g/ml}$  na 96 jamkové imunotestovací destičky (Costar, Cambridge MA) přes noc při teplotě okolí. Destičky byly potom odsáty a blokovány 0,25% lidským sérovým albuminem v PBS pufru po dobu alespoň 1 hodiny při teplotě okolí, potom uchovávány vysušené při teplotě 4 °C až do použití. Destičky byly před použitím rehydratovány promývacím pufrem (Tris-pufrovaný fyziologický roztok, 0,05% Tween 20). Vzorky a standardy byly přidány na destičky a inkubovány přes noc při teplotě 4 °C. Destičky byly promývány 3 krát promývacím pufrem mezi každým krokem testu. Biotinylované 3D6, zředěné na 0,5  $\mu\text{g/ml}$  v kaseinovém inkubačním pufru (0,25% kasein, PBS, 0,05% Tween 20, pH 7,4) byly inkubovány v jamkách po dobu 1 hodiny při teplotě okolí. Avidin-HRP (Vector, Burlingame CA) zředěný 1:4000 v kaseinovém inkubačním pufru byl přidán do jamek po dobu 1 hodiny při teplotě okolí. Byl přidán kolorimetrický substrát, Slow TM $\beta$ -ELISA (Pierce, Cambridge MA) a ponechán reagovat po dobu 15 minut, poté byla enzymatická reakce zastavena přidáním 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Reakční produkt byl kvantifikován, používající zařízení Molecular Devices V<sub>max</sub> (Molecular Devices, Menlo Park CA), měřením rozdílu absorpce při 450 nm a 650 nm.

## 2. Krevní test

EDTA plasma byla zředěna 1: 1 ve vzorkovacím ředidle (0,2

g/l fosforečnan sodný .  $H_2O$  (monobazický), 2,16 g/l fosforečnan sodný .  $7H_2O$  (dibazický), 0,5 g/l thimerosal, 8,5 g/l chlorid sodný, 0,5 ml TritonX-405, 6,0 g/l hovězí sérový albumin prostý globulinu a voda). Vzorky a standardy ve vzorkovacím ředidle byly testovány používající totální  $\beta$ -amyloidový test (266 zachytávací protilátky /3D6 indikační protilátky), popsany výše pro mozkový test s výjimkou že bylo použito vzorkovací ředidlo namísto kaseinového ředidla.

Ve srovnání s výše uvedeným popisem mohou být odborníky provedeny různé modifikace a změny kompozic a způsobů. Všechny takové modifikace spadají do rozsahu připojených patentových nároků.

#### SEZNAM SEKVENCÍ

##### (1) OBECNÉ INFORMACE:

(i) PŘIHLAŠOVATELÉ: ATHENA NEUROSCIENCES, INC.

ELI LILLY & COMPANY

JAMES E. AUDIA

BEVERLY K. FOLMER

VARGHESE JOHN

LES H. LATIMER

JEFFREY S. NISSEN

WARREN J. PORTER

EUGENE D. THORSETT

JING WU

08.11.99

(ii) NÁZEV VYNÁLEZU: ESTERY N-(ARYL/HETEROARYL)  
AMINOKYSELIN, FARMACEUTICKÉ  
KOMPOZICE, KTERÉ JE OBSAHUJÍ A  
ZPŮSOBY INHIBICE UVOLŇOVÁNÍ  $\beta$ -AMYLOIDOVÉHO  
PEPTIDU A/NEBO JEHO  
SYNTÉZY POUŽITÍM TAKOVÝCH SLOUČENIN

(iii) POČET SEKVENCÍ: 1

(iv) ADRESA PRO KORESPONDENCI:

(A) ADRESÁT: Burns, Doane, Swecker &  
Mathis, LLP

(B) ULICE: P.O. Box 1404

(C) MĚSTO: Alexandria

(D) STÁT: Virginia

(E) ZEMĚ: U.S.A.

(F) PSČ: 22313-1404

(v) POČÍTAČOVĚ ZPRACOVATELNÁ FORMA:

(A) DRUH MÉDIA: Pružný disk

(B) POČÍTAČ: IBM PC compatible

(C) OPERAČNÍ SYSTÉM: PC-DOS/MS-DOS

(D) SOFTWARE: PatentIn Release #1,0, Version  
#1.30

(vi) DATA SOUČASNÉ PŘIHLÁŠKY:

(A) PŘIHLÁŠKA ČÍSLO: Nepřiděleno

(B) DATUM PODÁNÍ: Nepřiděleno

(C) KLASIFIKACE:

(vii) DATA PŘEDCHOZÍ PŘIHLÁŠKY:

08.11.99

(A) U.S. PATENTOVÁ PŘIHLÁŠKA Č. 08/755,334

(B) DATUM PODÁNÍ: 22. listopad 1996

(viii) INFORMACE O PATENTOVÉM ZÁSTUPCI:

(A) JMÉNO: Swiss, Gerald F.

(B) REGISTRAČNÍ ČÍSLO: 30,113

(C) REFERENCE/ČÍSLO DOKUMENTU: 002010-057

(ix) TELEKOMUNIKAČNÍ INFORMACE:

(A) TELEFON: 650-77467-854-7400

(B) TELEFAX: 650-77467-854-8275

(2) INFORMACE PRO SEQ ID NO:1:

(i) VLASTNOSTI SEKVENCE:

(A) DÉLKA: 43 aminokyselin

(B) TYP: peptid

(D) TOPOLOGIE: lineární

(ii) TYP MOLEKULY: peptid

08.11.99

(xi) POPIS SEKVENCE: SEQ ID NO 1:

Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His  
1 5 10

Gln Lys Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys  
15 20 25

Gly Ala Ile Ile Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala  
30 35 40

Thr

Zastupuje:

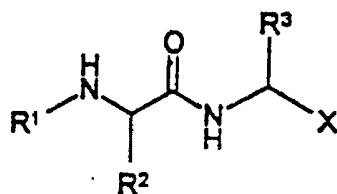
Dr. O. Švorčík

26.09.00

PV 1999-1423  
Č.J. 68071

P A T E N T O V É   N Á R O K Y

1. Sloučenina obecného vzorce III:



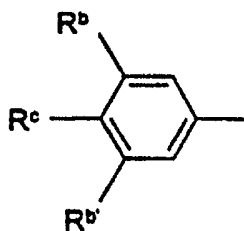
III

ve kterém:

$\text{R}^1$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího

(a) fenyl,

(b) substituovanou fenylovou skupinu obecného vzorce II:



II

ve kterém  $\text{R}^c$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny acyl, alkyl, alkoxy, alkylalkoxy, azido, kyano, atom halogenu, atom vodíku, skupiny nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy a kde  $\text{R}^b$  a  $\text{R}^c$  jsou k sobě kondenzovány a

vytvářejí heteroaryl nebo heterocyklický kruh s fenylovým kruhem,

$R^b$  a  $R^{b'}$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu, skupiny nitro, kyano, trihalogenmethyl, alkoxy a thioalkoxy s tou podmínkou, že pokud  $R^c$  je atom vodíku, potom  $R^b$  a  $R^{b'}$  jsou buď oba atom vodíku nebo oba substituenty jiné než atom vodíku

(c) 2-naftyl,

(d) 2-naftyl substituovaný v polohách 4, 5, 6, 7 a/nebo 8 pomocí 1 až 5 substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkoxy, atom halogenu, skupiny kyano, nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy, aryl a heteroaryl,

(e) heteroaryl, a

(f) substituovaný heteroaryl, nesoucí 1 až 3 substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího skupiny alkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, kyano, atom halogenu, skupiny nitro, heteroaryl, thioalkoxy a thioaryloxy, za předpokladu, že uvedené substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení heteroarylu ke skupině -NH ;

$R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylthioalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, aryl, heteroaryl, substituovaný aryl a substituovaný heteroaryl, za předpokladu, že substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení arylového nebo heteroarylového atomu k atomu uhlíku;

$R^3$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkenyl, alkinyl, aryl, cykloalkyl, cykloalkenyl, heteroaryl, substituovaný alkyl, substituovaný alkenyl, substituovaný alkinyl a heterocyklický systém;

X představuje -C(O)Y, kde Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího

25.09.00

- (a) alkyl,
- (b) substituovaný alkyl s tou podmínkou, že substituce na uvedeném substituovaném alkylu nezahrnuje skupiny  $\alpha$ -halogenalkyl,  $\alpha$ -diazalkyl nebo  $\alpha$ -OC(O)alkyl,
- (c) alkoxy nebo thioalkoxy,
- (d) substituovanou skupinu alkoxy nebo substituovanou skupinu thioalkoxy,
- (e) hydroxy,
- (f) aryl,
- (g) heteroaryl,
- (h) heterocyklický systém,
- (i)  $-NR'R''$ , kde  $R'$  a  $R''$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyklický systém a kde  $R'$  a  $R''$  jsou spojeny, aby vytvářely cyklickou skupinu, která má 2 až 8 atomů uhlíku a popřípadě obsahuje 1 až 2 další heteroatomy, zvolené ze souboru, zahrnujícího atom kyslíku, atom síry a atom dusíku a s popřípadnou substitucí jednou nebo více alkylovými nebo alkoxy skupinami, a pokud  $R^3$  obsahuje alespoň 3 atomy uhlíku, X může také být  $-CR^4R^4Y'$ ,  
kde každý  $R^4$  je nezávisle zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém a  $Y'$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího hydroxyl, amino, thiol,  $-OC(O)R^5$ ,  $-SSR^5$ ,  $-SSC(O)R^5$ , kde  $R^5$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém,  
a s tou podmínkou, že pokud  $R^1$  představuje 3,4-dichlorfenyl,  $R^2$  představuje methyl a  $R^3$  představuje

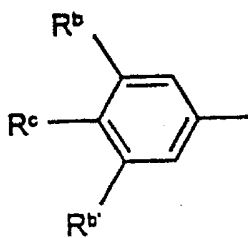
benzyl, odvozený od D-fenylalaninu, potom X nepředstavuje -C(O)OCH<sub>3</sub>.

a s další dodatečnou podmínkou, že jsou vyloučeny následující známé sloučeniny:

pokud R<sup>1</sup> představuje fenyl, R<sup>2</sup> představuje methyl, X představuje -C(O)NHΦ, potom R<sup>3</sup> nepředstavuje methyl, isopropyl, iso-butyl; a  
pokud R<sup>1</sup> představuje fenyl, R<sup>2</sup> představuje methyl, X představuje -C(O)NH<sub>2</sub>, potom R<sup>3</sup> nepředstavuje benzyl.

2. Sloučenina podle nároku 1, ve které R<sup>1</sup> představuje fenyl, 2-naftyl, chinolin-3-yl, benzothiazol-6-yl a 5-indolyl.

3. Sloučenina podle nároku 1, ve které R<sup>1</sup> představuje substituovanou fenylovou skupinu obecného vzorce:



ve kterém R<sup>c</sup> je zvolen ze souboru, zahrnujícího acyl, alkyl, alkoxy, alkylalkoxy, azido, skupinu kyano, atom halogenu, atom vodíku, skupiny nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy a ve kde R<sup>b</sup> a R<sup>c</sup> jsou k sobě kondenzovány a vytvářejí heteroaryl nebo heterocyklický kruh s fenylovým kruhem,

$R^b$  a  $R^{b'}$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu, skupiny nitro, kyano, trihalogenmethyl, alkoxy a thioalkoxy s tou podmínkou, že pokud  $R^c$  je atom vodíku, potom  $R^b$  a  $R^{b'}$  jsou buď oba atom vodíku nebo oba substituenty jiné než atom vodíku.

4. Sloučenina podle nároku 1, ve které  $R^1$  představuje substituovaný 2-naftyl, substituovaný v polohách 4, 5, 6, 7 a/nebo 8 pomocí 1 až 5 substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkoxy, atom halogenu, skupiny kyano, nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy, aryl a heteroaryl.

5. Sloučenina podle nároku 1, ve které  $R^1$  představuje substituovaný heteroaryl, obsahující 1 až 3 substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, kyano, atom halogenu, skupiny nitro, heteroaryl, thioalkoxy, thioaryloxy, za předpokladu, že uvedené substituenty nejsou ortho k připojení heteroarylu ke skupině -NH.

6. Sloučenina podle nároku 3, ve které  $R^1$  představuje 4-substituovaný, 3,5-disubstituovaný nebo 3,4-disubstituovaný fenyl.

7. Sloučenina podle nároku 4, ve které  $R^1$  představuje 3,5-disubstituovaný fenyl.

8. Sloučenina podle nároku 5, ve které 3,5-disubstituovaný fenyl je zvolen ze souboru, zahrnujícího 3,5-dichlorfenyl, 3,5-difluorfenyl, 3,5-di(trifluormethyl)fenyl a 3,5-dimethoxyfenyl.

25.09.00

9. Sloučenina podle nároku 4, ve které  $R^1$  představuje 3,4-disubstituovaný fenyl.
10. Sloučenina podle nároku 7, ve které 3,4-disubstituovaný fenyl je zvolen ze souboru, zahrnujícího 3,4-dichlorfenyl, 3,4-difluorfenyl, 3-(trifluormethyl)-4-chlorfenyl, 3-chlor-4-kyanofenyl, 3-chlor-4-jodfenyl a 3,4-methylenedioxyfenyl.
11. Sloučenina podle nároku 4, ve které  $R^1$  představuje 4-substituovaný fenyl.
12. Sloučenina podle nároku 9, ve které 4-substituovaný fenyl je zvolen ze souboru, zahrnujícího 4-azidofenyl, 4-bromfenyl, 4-chlorfenyl, 4-kyanofenyl, 4-ethylfenyl, 4-fluorfenyl, 4-jodfenyl, 4-(fenylkarbonyl)fenyl a 4-(1-ethoxy)ethylfenyl.
13. Sloučenina podle nároku 1, ve které  $R^1$  představuje 2-methylchinolin-6-yl.
14. Sloučenina podle nároku 1, ve které  $R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylthioalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku a aryl.
15. Sloučenina podle nároku 12, ve které  $R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, iso-butyl,  $-CH_2CH_2SCH_3$  a fenyl.
16. Sloučenina podle nároku 1, ve které  $R^3$  představuje alkylovou skupinu.

25.09.00

17. Sloučenina podle nároku 14, ve které alkylová skupina je zvolena ze souboru, zahrnujícího methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, iso-butyl a sek.-butyl.

18. Sloučenina podle nároku 1, ve které  $R^3$  představuje substituovanou alkylovou skupinu.

19. Sloučenina podle nároku 16, ve které substituovaná alkylová skupina je zvolena ze souboru, zahrnujícího  $\alpha$ -hydroxyethyl,  $-\text{CH}_2$ -cyklohexyl, benzyl, p-hydroxybenzyl, 3-jod-4-hydroxybenzyl, 3,5-dijod-4-hydroxybenzyl,  $-\text{CH}_2$ -indol-3-yl,  $-(\text{CH}_2)_4\text{-NH-BOC}$ ,  $-(\text{CH}_2)_4\text{-NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2$ -(1-N-benzyl-imidazol-4-yl),  $-\text{CH}_2$ -imidazol-4-yl,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC(O)(CH}_2)_3\text{CH}_3$  a  $-(\text{CH}_2)_y\text{C(O)OR}^5$ , kde y je 1 nebo 2 a  $R^5$  představuje atom vodíku, methyl nebo terc.-butyl.

20. Sloučenina podle nároku 1, ve které X představuje  $-\text{C(O)Y}$ , ve kterém Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkoxy a thioalkoxy.

21. Sloučenina podle nároku 18, ve které Y je alkoxy zvolený ze souboru, zahrnujícího methoxy, ethoxy, n-propoxy, iso-propoxy, n-butoxy, iso-butoxy a terc.-butoxy.

22. Sloučenina podle nároku 1, ve které X představuje  $-\text{C(O)Y}$  a Y představuje  $-\text{NR}'\text{R}''$ , kde  $R'$  a  $R''$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyklický systém a kde  $R'$  a  $R''$  jsou spojeny, aby vytvářely cyklickou skupinu, která má od 2 do 8 atomů uhlíku, popřípadě obsahující 1 až 2 dodatečné heteroatomy, zvolené ze souboru, zahrnujícího atom kyslíku, atom síry a

25.09.00

atom dusíku a popřípadě substituovanou jedním nebo více skupinami alkyl nebo alkoxy.

23. Sloučenina podle nároku 20, ve které Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího amino ( $-\text{NH}_2$ ), N-(iso-butyl)amino, N-methylamino, N,N-dimethylamino a N-benzylamino.

24. Sloučenina podle nároku 1, ve které X představuje  $-\text{CH}_2\text{OH}$ .

25. Sloučenina podle nároku 1, ve které sloučenina obecného vzorce I je zvolena ze souboru, zahrnujícího:

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, N-iso-butylamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]threonin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, ethylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, terc.-butylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, amid

N-(3,4-dichlorfenyl)alanin, N-(1-hydroxy-3-methyl-2-butyl)amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, N,N-dimethylamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, N-methylamid

25.09.00

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]alanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]leucin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]fenylalanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]isoleucin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminopentanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]tryptophan, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]aspartová kyselina,  $\alpha$ -  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]aspartová kyselina,  $\beta$ -(terc.-  
butylester)  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-N-BOC-lysin, methylester

N-[N-benzothiazol-6-yl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]lysin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]tyrosin, methylester

28.09.00

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]alanin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminopentanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]fenylalanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]aspartová kyselina,  
 $\beta$ -(methylester)  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-1-benzylhistidin,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]glutamová kyselina,  $\gamma$ -(terc.-  
butylester)  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]leucin, amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]glutamová kyselina,  $\alpha$ -  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-(3,5-dijod)tyrosin,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-(3-jod)tyrosin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)glycyl]-2-aminopentanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-N $\epsilon$ -(hexanoyl)lysin,  
methylester

28.09.00

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]fenylalanin, amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N-methyl)-amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]- $\beta$ -cyklohexylalanin,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N,N-dimethyl)-  
amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]methionin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N,N-dimethyl)-  
amid

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanamid

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N-methyl)-amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]histidin, methylester

N-[N-(chinolin-3-yl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(benzothiazol-2-yl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,5-difluorfenyl)alanyl]alanin, methylester

26.09.00

N-[N-(3,5-difluorfenyl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N-benzyl)-amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-amino-2-fenylethanol

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)fenylglyciny]alanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanol

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-amino-2-fenylethanol

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-fenylglycin, terc.-  
butylester

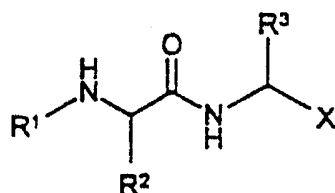
N-[N-(3,5-di-(trifluormethyl)fenyl)alanyl]-fenylglycin,  
terc.-butylester

N-[N-(3,5-dimethoxyfenyl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

26. Sloučenina pro použití jako léčivo pro inhibici  
uvolňování  $\beta$ -amyloidového peptidu a/nebo jeho syntézy v  
buňce, obecného vzorece I:

25.09.00



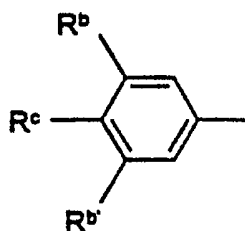
I

ve kterém:

R¹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího

(a) fenyl,

(b) substituovanou fenylovou skupinu obecného vzorce II:



II

ve kterém Rᶜ je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny acyl, alkyl, alkoxy, alkylalkoxy, azido, kyano, atom halogenu, atom vodíku, skupiny nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy a kde Rᵇ a Rᶜ jsou k sobě kondenzovány a vytvářejí heteroaryl nebo heterocyklický kruh s fenylovým kruhem,

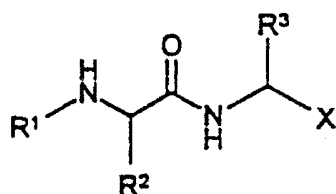
Rᵇ a Rᵇ' jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu, skupiny nitro, kyano, trihalogenmethyl, alkoxy a thioalkoxy s tou podmínkou, že pokud Rᶜ je atom vodíku, potom Rᵇ a Rᵇ' jsou buď oba atom vodíku nebo oba substituenty jiné než atom vodíku

28.09.00

- (c) 2-naftyl,
- (d) 2-naftyl substituovaný v polohách 4, 5, 6, 7 a/nebo 8 pomocí 1 až 5 substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkoxy, atom halogenu, skupiny kyano, nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy, aryl a heteroaryl,
- (e) heteroaryl, a
- (f) substituovaný heteroaryl, nesoucí 1 až 3 substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího skupiny alkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, kyano, atom halogenu, skupiny nitro, heteroaryl, thioalkoxy a thioaryloxy, za předpokladu, že uvedené substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení heteroarylu ke skupině -NH ;
- $R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylthioalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, aryl, heteroaryl, substituovaný aryl a substituovaný heteroaryl, za předpokladu, že substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení arylového nebo heteroarylového atomu k atomu uhlíku;
- $R^3$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkenyl, alkinyl, aryl, cykloalkyl, cykloalkenyl, heteroaryl, substituovaný alkyl, substituovaný alkenyl, substituovaný alkinyl a heterocyklický systém;
- X představuje -C(O)Y, kde Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího
- (a) alkyl,
- (b) substituovaný alkyl s tou podmínkou, že substituce na uvedeném substituovaném alkylu nezahrnuje skupiny  $\alpha$ -halogenalkyl,  $\alpha$ -diazalkyl nebo  $\alpha$ -OC(O)alkyl,
- (c) alkoxy nebo thioalkoxy,

(d) substituovanou skupinu alkoxy nebo substituovanou skupinu thioalkoxy,  
(e) hydroxy,  
(f) aryl,  
(g) heteroaryl,  
(h) heterocyklický systém,  
(i)  $-NR'R''$ , kde  $R'$  a  $R''$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyklický systém a kde  $R'$  a  $R''$  jsou spojeny, aby vytvářely cyklickou skupinu, která má 2 až 8 atomů uhlíku a popřípadě obsahuje 1 až 2 další heteroatomy, zvolené ze souboru, zahrnujícího atom kyslíku, atom síry a atom dusíku a s popřípadnou substitucí jednou nebo více alkylovými nebo alkoxy skupinami, a pokud  $R^3$  obsahuje alespoň 3 atomy uhlíku, X může také být  $-CR^4R^4Y'$ ,  
kde každý  $R^4$  je nezávisle zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém a  $Y'$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího hydroxyl, amino, thiol,  $-OC(O)R^5$ ,  $-SSR^5$ ,  $-SSC(O)R^5$ , kde  $R^5$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém,  
a s tou podmínkou, že pokud  $R^1$  představuje 3,4-dichlorfenyl,  $R^2$  představuje methyl a  $R^3$  představuje benzyl, odvozený od D-fenylalaninu, potom X nepředstavuje  $-C(O)OCH_3$ .

27. Sloučenina nebo směs sloučenin pro použití jako léčivo pro prevenci vzniku Alzheimerovy nemoci u pacienta s rizikem vzniku Alzheimerovy nemoci podle nároku 1, obecného vzorce I:



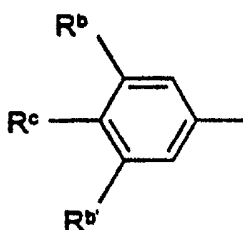
I

ve kterém:

R¹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího

(a) fenyl,

(b) substituovanou fenylovou skupinu obecného vzorce II:



II

ve kterém Rᶜ je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny acyl, alkyl, alkoxy, alkylalkoxy, azido, kyano, atom halogenu, atom vodíku, skupiny nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy a kde Rᵇ a Rᶜ jsou k sobě kondenzovány a vytvářejí heteroaryl nebo heterocyklický kruh s fenylovým kruhem,

Rᵇ a Rᵇ' jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu, skupiny nitro, kyano, trihalogenmethyl, alkoxy a thioalkoxy s tou podmínkou, že

pokud  $R^c$  je atom vodíku, potom  $R^b$  a  $R^{b'}$  jsou buď oba atom vodíku nebo oba substituenty jiné než atom vodíku

(c) 2-naftyl,

(d) 2-naftyl substituovaný v polohách 4, 5, 6, 7 a/nebo 8 pomocí 1 až 5 substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkoxy, atom halogenu, skupiny kyano, nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy, aryl a heteroaryl,

(e) heteroaryl, a

(f) substituovaný heteroaryl, nesoucí 1 až 3 substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího skupiny alkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, kyano, atom halogenu, skupiny nitro, heteroaryl, thioalkoxy a thioaryloxy, za předpokladu, že uvedené substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení heteroarylu ke skupině  $-NH$  ;

$R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylthioalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, aryl, heteroaryl, substituovaný aryl a substituovaný heteroaryl, za předpokladu, že substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení arylového nebo heteroarylového atomu k atomu uhlíku;

$R^3$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, cykloalkyl, cykloalkenyl, heteroaryl, substituovaný alkyl, substituovaný alkenyl, substituovaný alkynyl a heterocyklický systém;

X představuje  $-C(O)Y$ , kde Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího

(a) alkyl,

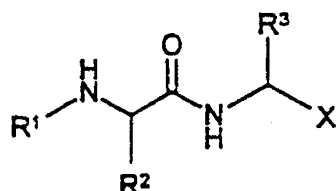
(b) substituovaný alkyl s tou podmínkou, že substituce na uvedeném substituovaném alkylu nezahrnuje skupiny  $\alpha$ -halogenalkyl,  $\alpha$ -diazalkyl nebo  $\alpha$ -OC(O)alkyl,

25.09.00

(c) alkoxy nebo thioalkoxy,  
(d) substituovanou skupinu alkoxy nebo substituovanou skupinu thioalkoxy,  
(e) hydroxy,  
(f) aryl,  
(g) heteroaryl,  
(h) heterocyklický systém,  
(i)  $-NR'R''$ , kde  $R'$  a  $R''$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyklický systém a kde  $R'$  a  $R''$  jsou spojeny, aby vytvářely cyklickou skupinu, která má 2 až 8 atomů uhlíku a popřípadě obsahuje 1 až 2 další heteroatomy, zvolené ze souboru, zahrnujícího atom kyslíku, atom síry a atom dusíku a s popřípadnou substitucí jednou nebo více alkylovými nebo alkoxy skupinami, a pokud  $R^3$  obsahuje alespoň 3 atomy uhlíku, X může také být  $-CR^4R^4Y'$ ,  
kde každý  $R^4$  je nezávisle zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém a  $Y'$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího hydroxyl, amino, thiol,  $-OC(O)R^5$ ,  $-SSR^5$ ,  $-SSC(O)R^5$ , kde  $R^5$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém,  
a s tou podmínkou, že pokud  $R^1$  představuje 3,4-dichlorfenyl,  $R^2$  představuje methyl a  $R^3$  představuje benzyl, odvozený od D-fenylalaninu, potom X nepředstavuje  $-C(O)OCH_3$ .

28. Sloučenina nebo směs sloučenin pro použití jako léčivo pro inhibici dalšího zhoršování Alzheimerovy nemoci podle nároku 1, obecného vzorce I:

25.09.00



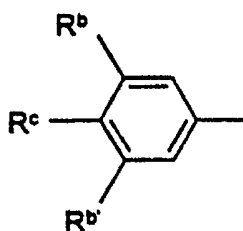
I

ve kterém:

R¹ je zvolen ze souboru, zahrnujícího

(a) fenyl,

(b) substituovanou fenylovou skupinu obecného vzorce II:



II

ve kterém Rᶜ je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny acyl, alkyl, alkoxy, alkylalkoxy, azido, kyano, atom halogenu, atom vodíku, skupiny nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy a kde Rᵇ a Rᶜ jsou k sobě kondenzovány a vytvářejí heteroaryl nebo heterocyklický kruh s fenylovým kruhem,

Rᵇ a Rᵇ' jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu, skupiny nitro, kyano, trihalogenmethyl, alkoxy a thioalkoxy s tou podmínkou, že

pokud  $R^c$  je atom vodíku, potom  $R^b$  a  $R^{b'}$  jsou buď oba atom vodíku nebo oba substituenty jiné než atom vodíku

(c) 2-naftyl,

(d) 2-naftyl substituovaný v polohách 4, 5, 6, 7 a/nebo 8 pomocí 1 až 5 substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkoxy, atom halogenu, skupiny kyano, nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy, aryl a heteroaryl,

(e) heteroaryl, a

(f) substituovaný heteroaryl, nesoucí 1 až 3 substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího skupiny alkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, kyano, atom halogenu, skupiny nitro, heteroaryl, thioalkoxy a thioaryloxy, za předpokladu, že uvedené substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení heteroarylu ke skupině  $-NH$  ;

$R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylthioalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, aryl, heteroaryl, substituovaný aryl a substituovaný heteroaryl, za předpokladu, že substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení arylového nebo heteroarylového atomu k atomu uhlíku;

$R^3$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, cykloalkyl, cykloalkenyl, heteroaryl, substituovaný alkyl, substituovaný alkenyl, substituovaný alkynyl a heterocyklický systém;

X představuje  $-C(O)Y$ , kde Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího

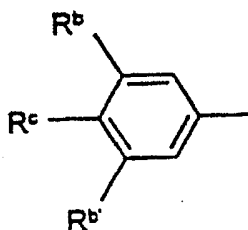
(a) alkyl,

(b) substituovaný alkyl s tou podmínkou, že substituce na uvedeném substituovaném alkylu nezahrnuje skupiny  $\alpha$ -halogenalkyl,  $\alpha$ -diazalkyl nebo  $\alpha$ -OC(O)alkyl,

(c) alkoxy nebo thioalkoxy,  
 (d) substituovanou skupinu alkoxy nebo substituovanou skupinu thioalkoxy,  
 (e) hydroxy,  
 (f) aryl,  
 (g) heteroaryl,  
 (h) heterocyklický systém,  
 (i)  $-NR'R''$ , kde  $R'$  a  $R''$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyklický systém a kde  $R'$  a  $R''$  jsou spojeny, aby vytvářely cyklickou skupinu, která má 2 až 8 atomů uhlíku a popřípadě obsahuje 1 až 2 další heteroatomy, zvolené ze souboru, zahrnujícího atom kyslíku, atom síry a atom dusíku a s popřípadnou substitucí jednou nebo více alkylovými nebo alkoxy skupinami, a pokud  $R^3$  obsahuje alespoň 3 atomy uhlíku, X může také být  $-CR^4R^5Y'$ ,  
 kde každý  $R^4$  je nezávisle zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém a  $Y'$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího hydroxyl, amino, thiol,  $-OC(O)R^5$ ,  $-SSR^5$ ,  $-SSC(O)R^5$ , kde  $R^5$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém,  
 a s tou podmínkou, že pokud  $R^1$  představuje 3,4-dichlorfenyl,  $R^2$  představuje methyl a  $R^3$  představuje benzyl, odvozený od D-fenylalaninu, potom X nepředstavuje  $-C(O)OCH_3$ .

29. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 26, 27 nebo 28, kdy  $R^1$  představuje fenyl, 2-naftyl, chinolin-3-yl, benzothiazol-6-yl a 5-indolyl.

30. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 26, 27 nebo 28, kdy  $R^1$  představuje substituovanou fenylovou skupinu obecného vzorce:



ve kterém  $R^c$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího acyl, alkyl, alkoxy, alkylalkoxy, azido, skupinu kyano, atom halogenu, atom vodíku, skupiny nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy a ve kde  $R^b$  a  $R^c$  jsou k sobě kondenzovány a vytvářejí heteroaryl nebo heterocyklický kruh s fenylovým kruhem,

$R^b$  a  $R^{b'}$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu, skupiny nitro, kyano, trihalogenmethyl, alkoxy a thioalkoxy s tou podmínkou, že pokud  $R^c$  je atom vodíku, potom  $R^b$  a  $R^{b'}$  jsou buď oba atom vodíku nebo oba substituenty jiné než atom vodíku.

31. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 26, 27 nebo 28, kdy  $R^1$  představuje substituovaný 2-naftyl, substituovaný v polohách 4, 5, 6, 7 a/nebo 8 pomocí 1 až 5 substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkoxy, atom halogenu, skupiny kyano, nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy, aryl a heteroaryl.

32. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 26, 27 nebo 28, kdy  $R^1$  představuje substituovaný heteroaryl, obsahující 1 až 3 substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, kyano, atom halogenu, skupiny nitro, heteroaryl, thioalkoxy, thioaryloxy, za předpokladu, že uvedené substituenty nejsou ortho k připojení heteroarylu ke skupině -NH.

33. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 32, kdy  $R^1$  představuje 4-substituovaný, 3,5-disubstituovaný nebo 3,4-disubstituovaný fenyl.

34. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 33, kdy  $R^1$  představuje 3,5-disubstituovaný fenyl.

35. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 34, kdy 3,5-disubstituovaný fenyl je zvolen ze souboru, zahrnujícího 3,5-dichlorfenyl, 3,5-difluorfenyl, 3,5-di(trifluormethyl)fenyl a 3,5-dimethoxyfenyl.

36. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 33, kdy  $R^1$  představuje 3,4-disubstituovaný fenyl.

37. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 36, kdy 3,4-disubstituovaný fenyl je zvolen ze souboru, zahrnujícího 3,4-dichlorfenyl, 3,4-difluorfenyl, 3-(trifluormethyl)-4-chlorfenyl, 3-chlor-4-kyanofenyl, 3-chlor-4-jodfenyl a 3,4-methylenedioxyfenyl.

38. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 33, kdy  $R^1$  představuje 4-substituovaný fenyl.

28.09.00

39. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 38, kdy 4-substituovaný fenyl je zvolen ze souboru, zahrnujícího 4-azidofenyl, 4-bromfenyl, 4-chlorfenyl, 4-kyanofenyl, 4-ethylfenyl, 4-fluorfenyl, 4-jodfenyl, 4-(fenylkarbonyl)fenyl a 4-(1-ethoxy)ethylfenyl.

40. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároků 26, 27 nebo 28, kdy  $R^1$  představuje 2-methylchinolin-6-yl.

41. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároků 26, 27 nebo 28, kdy  $R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylthioalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku a aryl.

42. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 41, kdy  $R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, iso-butyl,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$  a fenyl.

43. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároků 26, 27 nebo 28, kdy  $R^3$  představuje alkylovou skupinu.

44. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 43, kdy alkylová skupina je zvolena ze souboru, zahrnujícího methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, iso-butyl a sek.-butyl.

45. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároků 26, 27 nebo 28, kdy  $R^3$  představuje substituovanou alkylovou skupinu.

46. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 45, kdy substituovaná alkylová skupina je zvolena ze souboru, zahrnujícího  $\alpha$ -hydroxyethyl,  $-\text{CH}_2$ -cyklohexyl, benzyl, p-hydroxybenzyl, 3-jod-4-hydroxybenzyl, 3,5-dijod-4-hydroxybenzyl,  $-\text{CH}_2$ -indol-3-yl,  $-(\text{CH}_2)_4\text{-NH-BOC}$ ,  $-(\text{CH}_2)_4\text{-NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2$ -(1-N-benzyl-imidazol-4-yl),  $-\text{CH}_2$ -imidazol-4-yl,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC(O)(CH}_2)_3\text{CH}_3$  a  $-(\text{CH}_2)_y\text{C(O)OR}^5$ , kde y je 1 nebo 2 a  $\text{R}^5$  představuje atom vodíku, methyl nebo terc.-butyl.

47. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároků 26, 27 nebo 28, kdy X představuje  $-\text{C(O)Y}$ , ve kterém Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkoxy a thioalkoxy.

48. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 47, kdy Y je alkoxy zvolený ze souboru, zahrnujícího methoxy, ethoxy, n-propoxy, iso-propoxy, n-butoxy, iso-butoxy a terc.-butoxy.

49. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároků 26, 27 nebo 28, kdy X představuje  $-\text{C(O)Y}$  a Y představuje  $-\text{NR}'\text{R}''$ , kde  $\text{R}'$  a  $\text{R}''$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyklický systém a kde  $\text{R}'$  a  $\text{R}''$  jsou spojeny, aby vytvářely cyklickou skupinu, která má od 2 do 8 atomů uhlíku, popřípadě obsahující 1 až 2 dodatečné heteroatomy, zvolené ze souboru, zahrnujícího atom kyslíku, atom síry a atom dusíku a popřípadě substituovanou jedním nebo více skupinami alkyl nebo alkoxy.

50. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároku 49, kdy Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího amino ( $-\text{NH}_2$ ), N-(iso-

26.09.00

butyl)amino, N-methylamino, N,N-dimethylamino a N-benzylamino.

51. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároků 26, 27 nebo 28, kdy X představuje  $-CH_2OH$ .

52. Sloučenina pro použití jako léčivo podle nároků 26, 27 nebo 28, kdy sloučenina obecného vzorce I je zvolena ze souboru, zahrnujícího:

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, N-iso-butylamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]threonin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, ethylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, terc.-butylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, amid

N-(3,4-dichlorfenyl)alanin, N-(1-hydroxy-3-methyl-2-butyl)amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, N,N-dimethylamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, N-methylamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]alanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]leucin, methylester

26.09.00

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]fenylalanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]isoleucin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminopentanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]tryptophan, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]aspartová kyselina,  $\alpha$ -  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]aspartová kyselina,  $\beta$ -(terc.-  
butylester)  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-N-BOC-lysin, methylester

N-[N-benzothiazol-6-yl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]lysin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]tyrosin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]alanin, methylester

28.09.00

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminopentanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]fenylalanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]aspartová kyselina,  
 $\beta$ -(methylester)  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-1-benzylhistidin,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]glutamová kyselina,  $\gamma$ -(terc.-  
butylester)  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]leucin, amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]glutamová kyselina,  $\alpha$ -  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-(3,5-dijod)tyrosin,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-(3-jod)tyrosin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)glycyl]-2-aminopentanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-N $\epsilon$ -(hexanoyl)lysin,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]fenylalanin, amid

25.09.00

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N-methyl)-amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]- $\beta$ -cyklohexylalanin,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N,N-dimethyl)-  
amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]methionin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N,N-dimethyl)-  
amid

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanamid

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N-methyl)-amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]histidin, methylester

N-[N-(chinolin-3-yl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(benzothiazol-2-yl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,5-difluorfenyl)alanyl]alanin, methylester

N-[N-(3,5-difluorfenyl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

25.09.00

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N-benzyl)-amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-amino-2-fenylethanol

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)fenylglyciny]alanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanol

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-amino-2-fenylethanol

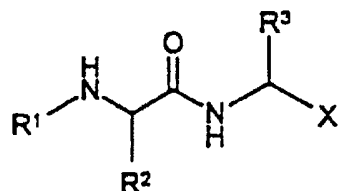
N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-fenylglycin, terc.-  
butylester

N-[N-(3,5-di-(trifluormethyl)fenyl)alanyl]-fenylglycin,  
terc.-butylester

N-[N-(3,5-dimethoxyfenyl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

53. Farmaceutická kompozice, obsahující farmaceuticky  
inertní nosič a farmaceuticky účinné množství sloučeniny  
obecného vzorce I:



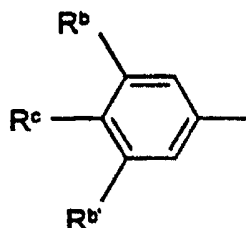
I

ve kterém:

$R^1$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího

(a) fenyl,

(b) substituovanou fenylovou skupinu obecného vzorce II:



II

ve kterém  $R^c$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího skupiny acyl, alkyl, alkoxy, alkylalkoxy, azido, kyano, atom halogenu, atom vodíku, skupiny nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy a kde  $R^b$  a  $R^c$  jsou k sobě kondenzovány a vytvářejí heteroaryl nebo heterocyklický kruh s fenylovým kruhem,

$R^b$  a  $R^{b'}$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu, skupiny nitro, kyano, trihalogenmethyl, alkoxy a thioalkoxy s tou podmínkou, že pokud  $R^c$  je atom vodíku, potom  $R^b$  a  $R^{b'}$  jsou buď oba atom vodíku nebo oba substituenty jiné než atom vodíku

26.09.00

(c) 2-naftyl,

(d) 2-naftyl substituovaný v polohách 4, 5, 6, 7 a/nebo 8 pomocí 1 až 5 substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkoxy, atom halogenu, skupiny kyano, nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy, aryl a heteroaryl,

(e) heteroaryl, a

(f) substituovaný heteroaryl, nesoucí 1 až 3 substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího skupiny alkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, kyano, atom halogenu, skupiny nitro, heteroaryl, thioalkoxy a thioaryloxy, za předpokladu, že uvedené substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení heteroarylu ke skupině -NH ;

$R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylthioalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, aryl, heteroaryl, substituovaný aryl a substituovaný heteroaryl, za předpokladu, že substituenty nejsou ortho (přilehlé) k připojení arylového nebo heteroarylového atomu k atomu uhlíku;

$R^3$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkenyl, alkynyl, aryl, cykloalkyl, cykloalkenyl, heteroaryl, substituovaný alkyl, substituovaný alkenyl, substituovaný alkynyl a heterocyklický systém;

X představuje -C(O)Y, kde Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího

(a) alkyl,

(b) substituovaný alkyl s tou podmínkou, že substituce na uvedeném substituovaném alkylu nezahrnuje skupiny  $\alpha$ -halogenalkyl,  $\alpha$ -diazalkyl nebo  $\alpha$ -OC(O)alkyl,

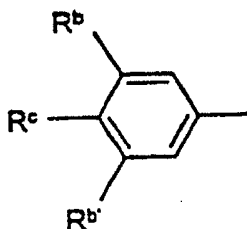
(c) alkoxy nebo thioalkoxy,

28.09.00

(d) substituovanou skupinu alkoxy nebo substituovanou skupinu thioalkoxy,  
 (e) hydroxy,  
 (f) aryl,  
 (g) heteroaryl,  
 (h) heterocyklický systém,  
 (i)  $-NR'R''$ , kde  $R'$  a  $R''$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyklický systém a kde  $R'$  a  $R''$  jsou spojeny, aby vytvářely cyklickou skupinu, která má 2 až 8 atomů uhlíku a popřípadě obsahuje 1 až 2 další heteroatomy, zvolené ze souboru, zahrnujícího atom kyslíku, atom síry a atom dusíku a s popřípadnou substitucí jednou nebo více alkylovými nebo alkoxy skupinami, a pokud  $R^3$  obsahuje alespoň 3 atomy uhlíku,  $X$  může také být  $-CR^4R^4Y'$ ,  
 kde každý  $R^4$  je nezávisle zvolen ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém a  $Y'$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího hydroxyl, amino, thiol,  $-OC(O)R^5$ ,  $-SSR^5$ ,  $-SSC(O)R^5$ , kde  $R^5$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl a heterocyklický systém,  
 a s tou podmínkou, že pokud  $R^1$  představuje 3,4-dichlorfenyl,  $R^2$  představuje methyl a  $R^3$  představuje benzyl, odvozený od D-fenylalaninu, potom  $X$  nepředstavuje  $-C(O)OCH_3$ .

54. Farmaceutická kompozice podle nároku 53, vyznačující se tím, že  $R^1$  představuje fenyl, 2-naftyl, chinolin-3-yl, benzothiazol-6-yl a 5-indolyl.

55. Farmaceutická kompozice podle nároku 53, vyznačující se tím, že  $R^1$  představuje substituovanou fenylovou skupinu obecného vzorce:



ve kterém  $R^c$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího acyl, alkyl, alkoxy, alkylalkoxy, azido, skupinu kyano, atom halogenu, atom vodíku, skupiny nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy a ve kde  $R^b$  a  $R^c$  jsou k sobě kondenzovány a vytvářejí heteroaryl nebo heterocyklický kruh s fenylovým kruhem,

$R^b$  a  $R^{b'}$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, atom halogenu, skupiny nitro, kyano, trihalogenmethyl, alkoxy a thioalkoxy s tou podmínkou, že pokud  $R^c$  je atom vodíku, potom  $R^b$  a  $R^{b'}$  jsou buď oba atom vodíku nebo oba substituenty jiné než atom vodíku.

56. Farmaceutická kompozice podle nároku 53, vyznačující se tím, že  $R^1$  představuje substituovaný 2-naftyl, substituovaný v polohách 4, 5, 6, 7 a/nebo 8 pomocí 1 až 5 substituentů, zvolených ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkoxy, atom halogenu, skupiny kyano, nitro, trihalogenmethyl, thioalkoxy, aryl a heteroaryl.

57. Farmaceutická kompozice podle nároku 53, vyznačující se tím, že  $R^1$  představuje substituovaný heteroaryl, obsahující

26.09.00

1 až 3 substituenty, zvolené ze souboru, zahrnujícího alkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, kyano, atom halogenu, skupiny nitro, heteroaryl, thioalkoxy, thioaryloxy, za předpokladu, že uvedené substituenty nejsou ortho k připojení heteroarylu ke skupině -NH.

58. Farmaceutická kompozice podle nároku 55, vyznačující se tím, že  $R^1$  představuje 4-substituovaný, 3,5-disubstituovaný nebo 3,4-disubstituovaný fenyl.

59. Farmaceutická kompozice podle nároku 56, vyznačující se tím, že  $R^1$  představuje 3,5-disubstituovaný fenyl.

60. Farmaceutická kompozice podle nároku 57, vyznačující se tím, že 3,5-disubstituovaný fenyl je zvolen ze souboru, zahrnujícího 3,5-dichlorfenyl, 3,5-difluorfenyl, 3,5-di(trifluormethyl)fenyl a 3,5-dimethoxyfenyl.

61. Farmaceutická kompozice podle nároku 56, vyznačující se tím, že  $R^1$  představuje 3,4-disubstituovaný fenyl.

62. Farmaceutická kompozice podle nároku 59, vyznačující se tím, že 3,4-disubstituovaný fenyl je zvolen ze souboru, zahrnujícího 3,4-dichlorfenyl, 3,4-difluorfenyl, 3-(trifluormethyl)-4-chlorfenyl, 3-chlor-4-kyanofenyl, 3-chlor-4-jodfenyl a 3,4-methylenedioxyfenyl.

63. Farmaceutická kompozice podle nároku 56, vyznačující se tím, že  $R^1$  představuje 4-substituovaný fenyl.

64. Farmaceutická kompozice podle nároku 61, vyznačující se tím, že 4-substituovaný fenyl je zvolen ze souboru,

zahrnujícího 4-azidofenyl, 4-bromfenyl, 4-chlorfenyl, 4-kyanofenyl, 4-ethylfenyl, 4-fluorfenyl, 4-jodfenyl, 4-(fenylkarbonyl)fenyl a 4-(1-ethoxy)ethylfenyl.

65. Farmaceutická kompozice podle nároku 53, vyznačující se tím, že  $R^1$  představuje 2-methylchinolin-6-yl.

66. Farmaceutická kompozice podle nároku 53, vyznačující se tím, že  $R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkyl, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku, alkylthioalkoxy, obsahující od 1 do 4 atomů uhlíku a aryl.

67. Farmaceutická kompozice podle nároku 64, vyznačující se tím, že  $R^2$  je zvolen ze souboru, zahrnujícího methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, iso-butyl,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$  a fenyl.

68. Farmaceutická kompozice podle nároku 53, vyznačující se tím, že  $R^3$  představuje alkylovou skupinu.

69. Farmaceutická kompozice podle nároku 66, vyznačující se tím, že alkylová skupina je zvolena ze souboru, zahrnujícího methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, iso-butyl a sek.-butyl.

70. Farmaceutická kompozice podle nároku 53, vyznačující se tím, že  $R^3$  představuje substituovanou alkylovou skupinu.

71. Farmaceutická kompozice podle nároku 68, vyznačující se tím, že substituovaná alkylová skupina je zvolena ze souboru, zahrnujícího  $\alpha$ -hydroxyethyl,  $-\text{CH}_2$ -cyklohexyl,

benzyl, p-hydroxybenzyl, 3-jod-4-hydroxybenzyl, 3,5-dijod-4-hydroxybenzyl,  $-\text{CH}_2\text{-indol-3-yl}$ ,  $-(\text{CH}_2)_4\text{-NH-BOC}$ ,  $-(\text{CH}_2)_4\text{-NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{-(1-N-benzyl-imidazol-4-yl)}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-imidazol-4-yl}$ ,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SCH}_3$ ,  $-(\text{CH}_2)_4\text{NHC(O)(CH}_2)_3\text{CH}_3$  a  $-(\text{CH}_2)_y\text{C(O)OR}^5$ , kde y je 1 nebo 2 a  $\text{R}^5$  představuje atom vodíku, methyl nebo terc.-butyl.

72. Farmaceutická kompozice podle nároku 53, vyznačující se tím, že X představuje  $-\text{C(O)Y}$ , ve kterém Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího alkoxy a thioalkoxy.

73. Farmaceutická kompozice podle nároku 70, vyznačující se tím, že Y je alkoxy zvolený ze souboru, zahrnujícího methoxy, ethoxy, n-propoxy, iso-propoxy, n-butoxy, iso-butoxy a terc.-butoxy.

74. Farmaceutická kompozice podle nároku 53, vyznačující se tím, že X představuje  $-\text{C(O)Y}$  a Y představuje  $-\text{NR}'\text{R}''$ , kde  $\text{R}'$  a  $\text{R}''$  jsou nezávisle zvoleny ze souboru, zahrnujícího atom vodíku, alkyl, substituovaný alkyl, cykloalkyl, aryl, heteroaryl, heterocyklický systém a kde  $\text{R}'$  a  $\text{R}''$  jsou spojeny, aby vytvářely cyklickou skupinu, která má od 2 do 8 atomů uhlíku, popřípadě obsahující 1 až 2 dodatečné heteroatomy, zvolené ze souboru, zahrnujícího atom kyslíku, atom síry a atom dusíku a popřípadě substituovanou jedním nebo více skupinami alkyl nebo alkoxy.

75. Farmaceutická kompozice podle nároku 72, vyznačující se tím, že Y je zvolen ze souboru, zahrnujícího amino ( $-\text{NH}_2$ ), N-(iso-butyl)amino, N-methylamino, N,N-dimethylamino a N-benzylamino.

25.09.00

76. Farmaceutická kompozice podle nároku 53, vyznačující se tím, že X představuje  $-\text{CH}_2\text{OH}$ .

77. Farmaceutická kompozice podle nároku 53, vyznačující se tím, že sloučenina obecného vzorce I je zvolena ze souboru, zahrnujícího:

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, N-iso-butylamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]threonin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, ethylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, terc.-butylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, amid

N-(3,4-dichlorfenyl)alanin, N-(1-hydroxy-3-methyl-2-butyl)  
amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, N,N-dimethylamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]valin, N-methylamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]alanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]leucin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]fenylalanin, methylester

26.09.00

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]isoleucin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminopentanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]tryptophan, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]aspartová kyselina,  $\alpha$ -  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]aspartová kyselina,  $\beta$ -(terc.-  
butylester)  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-N-BOC-lysin, methylester

N-[N-benzothiazol-6-yl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]lysin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]tyrosin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]alanin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminopentanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]fenylalanin, methylester

26.09.00

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]aspartová kyselina,  
 $\beta$ -(methylester)  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-1-benzylhistidin,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]glutamová kyselina,  $\gamma$ -(terc.-  
butylester)  $\alpha$ -methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]leucin, amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]glutamová kyselina,  $\alpha$ -  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-(3,5-dijod)tyrosin,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-(3-jod)tyrosin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)glycyl]-2-aminopentanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-N $\epsilon$ -(hexanoyl)lysin,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]fenylalanin, amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N-methyl)-amid

25.09.00

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]- $\beta$ -cyklohexylalanin,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanamid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N,N-dimethyl)-  
amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]methionin, methylester

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N,N-dimethyl)-  
amid

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanamid

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N-methyl)-amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]histidin, methylester

N-[N-(chinolin-3-yl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(benzothiazol-2-yl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,5-difluorfenyl)alanyl]alanin, methylester

N-[N-(3,5-difluorfenyl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanamid

25.09.00

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexan-(N-benzyl)-amid

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-amino-2-fenylethanol

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)fenylglyciny]alanin, methylester

N-[N-(3,4-dichlorfenyl)alanyl]-2-aminohexanol

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-2-amino-2-fenylethanol

N-[N-(3,5-dichlorfenyl)alanyl]-fenylglycin, terc.-  
butylester

N-[N-(3,5-di-(trifluormethyl)fenyl)alanyl]-fenylglycin,  
terc.-butylester

N-[N-(3,5-dimethoxyfenyl)alanyl]-2-aminohexanová kyselina,  
methylester

a jejich farmaceuticky přijatelné soli.

Zastupuje:

JUDr. O. Švorčík