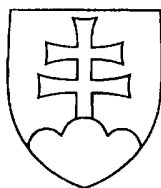


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19)

SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

ZVEREJNENÁ PATENTOVÁ PRIHLÁŠKA

(11), (21) Číslo dokumentu:

1818-2002

(13) Druh dokumentu: A3

(51) Int. Cl.⁷:

**C07C237/22,
A61K 31/19,
A61P 15/00,
C07C233/58,
C07C233/60,
C07C235/40,
C07C275/52,
C07C237/24,
C07D317/58,
C07D285/12,
C07D207/27,
C07D209/16,
C07D207/14,
C07D211/76,
C07D213/75,
C07C311/18,
C07C311/13,
C07C311/51,
C07D307/81**

- (22) Dátum podania prihlášky: **2. 7. 2001**
(31) Číslo prioritnej prihlášky: **0016684.3**
0101584.1
(32) Dátum podania prioritnej prihlášky: **6. 7. 2000**
22. 1. 2001
(33) Krajina alebo regionálna organizácia priority: **GB, GB**
(40) Dátum zverejnenia prihlášky: **6. 4. 2004**
Vestník ÚPV SR č.: **4/2004**
(62) Číslo pôvodnej prihlášky v prípade vylúčenej prihlášky:
(86) Číslo podania medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **PCT/IB01/01205**
(87) Číslo zverejnenia medzinárodnej prihlášky podľa PCT: **WO02/02513**

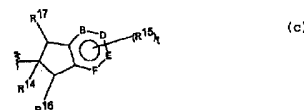
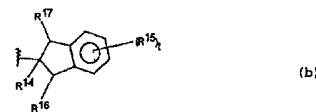
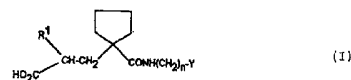
(71) Prihlasovateľ: **Pfizer Inc., New York, NY, US;**

(72) Pôvodca: **Barber Christopher Gordon, Sandwich, Kent, GB;
Cook Andrew Simon, Sandwich, Kent, GB;
Maw Graham Nigel, Sandwich, Kent, GB;
Pryde David Cameron, Sandwich, Kent, GB;
Stobie Alan, Sandwich, Kent, GB;**

(74) Zástupca: **Bušová Eva, JUDr., Bratislava, SK;**

(54) Názov: **Deriváty glutaramidu substituované cyklopentylskupinou ako inhibítory neutrálnej endopeptidázy**

(57) Anotácia:
Opisujú sa zlúčeniny všeobecného vzorca (I), kde R¹ predstavuje prípadne substituovanú C₁₋₆ alkylskupinu, prípadne substituovanú C₃₋₇ cykloalkylskupinu, prípadne substituovanú arylskupinu alebo prípadne substituovaný heterocyklyl; n predstavuje číslo 0, 1 alebo 2; a Y predstavuje skupinu -NR¹⁸S(O)_nR¹⁹ alebo skupinu vzorca a, b alebo c.



Deriváty glutaramidu substituované cyklopentylskupinou ako inhibítory neutrálnej endopeptidázy

Oblasť techniky

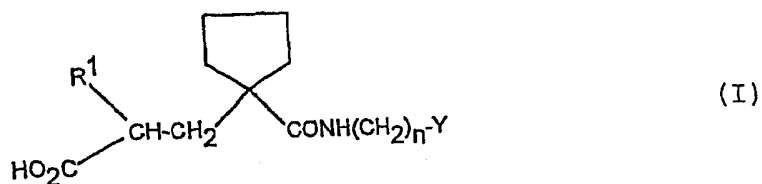
Vynález sa týka inhibítorov enzýmu neutrálnej endopeptidázy (NEP), ich použitia, spôsobov ich výroby, medziproduktov, ktoré sa pri týchto spôsoboch používajú a kompozícií na báze takých inhibítorov. Tieto inhibítory sú užitočné v celom rade oblastí, ako je liečenie sexuálnej dysfunkcie žien, najmä poruchy sexuálnej vzrušivosti žien (FSAD).

Doterajší stav techniky

Inhibítory NEP sú opísané vo WO 91/07386 a WO 91/10644.

Podstata vynálezu

Predmetom vynálezu je teda použitie zlúčenín všeobecného vzorca I



kde

R^1 predstavuje C_{1-6} alkylskupinu, ktorá je prípadne substituovaná jedným alebo viacerými substituentmi, ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne, zvolenými zo súboru pozostávajúceho z halogénu, hydroxyskupiny, C_{1-6}

alkoxyskupiny, C_{2-6} hydroxy-alkoxy, C_{1-6} alkoxy(C_{1-6} alkoxy) skupiny, C_{3-7} cykloalkyl-skupiny, C_{3-7} cykloalkenylskupiny, arylskupiny, aryloxyskupiny, (C_{1-4} alkoxy)aryloxyskupiny, heterocyklylskupiny, heterocyklyloxyskupiny, skupiny $-NR^2R^3$, $-NR^4COR^5$, $-NR^4SO_2R^5$, $-CONR^2R^3$, $-S(O)_pR^6$, $-COR^7$ a $-CO_2(C_{1-4}alkyl)$; alebo R^1 predstavuje C_{3-7} cykloalkylskupinu, arylskupinu alebo heterocyklylskupinu, z ktorých každá je prípadne substituovaná jedným alebo viacerými substituentmi zvolenými z uvedeného súboru, pričom tieto substituenty môžu byť rovnaké alebo rôzne, a tento súbor ďalej zahŕňa C_{1-6} alkylskupinu; alebo R^1 predstavuje C_{1-6} alkoxyskupinu, $-NR^2R^3$ alebo $-NR^4SO_2R^5$; kde

R^2 a R^3 predstavuje každý nezávisle vodík, C_{1-4} alkylskupinu, C_{3-7} cykloalkylskupinu (prípadne substituovanú hydroxyskupinou alebo C_{1-4} alkoxyskupinou), arylskupinu, (C_{1-4} alkyl)arylskupinu, C_{1-6} alkoxyarylskupinu alebo heterocyklylskupinu; alebo R^2 a R^3 dohromady s atómom uhlíka, ku ktorému sú pripojené, tvoria pyrrolidiny-, piperidino-, morfolino-, piperaziny- alebo N-(C_{1-4} alkyl)piperaziny-skupinu;

R^4 predstavuje vodík alebo C_{1-4} alkylskupinu;

R^5 predstavuje C_{1-4} alkylskupinu, CF_3 , arylskupinu, (C_{1-4} alkyl)arylskupinu, (C_{1-4} alkoxy)arylskupinu, heterocyklylskupinu, C_{1-4} alkoxyskupinu alebo skupinu $-NR^2R^3$, kde R^2 a R^3 majú vyššie uvedený význam;

R^6 predstavuje C_{1-4} alkylskupinu, arylskupinu, heterocyklylskupinu alebo skupinu NR^2R^3 , kde R^2 a R^3 majú vyššie uvedený význam; a

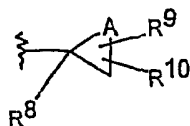
R⁷ predstavuje C₁₋₄alkylskupinu, C₃₋₇cykloalkylskupinu, aryl alebo heterocyklylskupinu;

p predstavuje číslo 0, 1, 2 alebo 3;

n predstavuje číslo 0, 1 alebo 2;

spájacia skupina $-(CH_2)_n-$ je prípadne substituovaná C₁₋₄alkylskupinou, C₁₋₄alkylskupinou substitutovanou jedným alebo viacerými atómami fluóru alebo fenylskupinou, C₁₋₄alkoxyskupinou, hydroxyskupinou, hydroxy(C₁₋₃alkyl)skupinou, C₃₋₇cykloalkylskupinou, arylskupinou alebo heterocyklylskupinou;

Y predstavuje skupinu vzorca



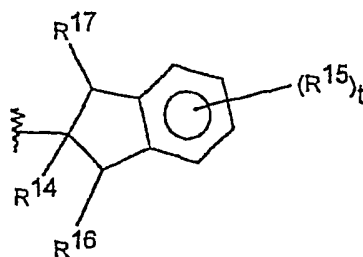
kde

A predstavuje skupinu $-(CH_2)_q-$, kde q predstavuje číslo 1, 2, 3 alebo 4 tak, aby dopĺňovala 3- až 7-členný karbocyklický kruh, ktorý môže byť nasýtený alebo nenasýtený; R⁸ predstavuje vodík, C₁₋₆alkylskupinu, $-CH_2OH$, fenylskupinu, fenyl(C₁₋₄alkyl)skupinu alebo $CONR^{11}R^{12}$; každý z R⁹ a R¹⁰ predstavuje nezávisle vodík, skupinu $-CH_2OH$, $-C(O)NR^{11}R^{12}$, C₁₋₆alkylskupinu, fenylskupinu (prípadne substituovanú C₁₋₄alkylskupinou, halogénom alebo C₁₋₄alkoxyskupinou), alebo fenyl(C₁₋₄alkyl)skupinu (ktorej fenylová časť je prípadne substituovaná C₁₋₄alkylskupinou, halogénom alebo C₁₋₄alkoxyskupinou), alebo R⁹ a R¹⁰ dohromady tvoria

dioxolán; R^{11} a R^{12} , ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne predstavujú vodík, C_{1-4} alkylskupinu, skupinu R^{13} alebo $S(O)_rR^{13}$, kde r predstavuje číslo 0, 1 alebo 2, a R^{13} predstavuje fenylskupinu alebo fenyl C_{1-4} alkylskupinu, pričom fenyl je prípadne substituovaný C_{1-4} alkylskupinou; alebo

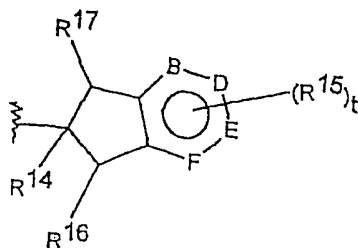
Y predstavuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$, kde R^{11} a R^{12} majú vyššie uvedený význam s tým rozdielom, že R^{11} a R^{12} obidva súčasne nepredstavujú vodík; alebo

Y predstavuje skupinu vzorca



kde R^{14} predstavuje vodík, skupinu CH_2OH alebo $C(O)NR^{11}R^{12}$ kde R^{11} a R^{12} majú vyššie uvedený význam; R^{15} , pokiaľ je prítomný, môže mať rovnaký význam ako iný R^{15} alebo môže mať rozdielny význam ako iný R^{15} a je zvolený z hydroxyskupiny, C_{1-4} alkylskupiny, C_{1-4} alkoxyskupiny, halogénu a CF_3 ; t predstavuje číslo 0, 1, 2, 3 alebo 4; a R^{16} a R^{17} predstavujú nezávisle vodík alebo C_{1-4} alkyl; alebo

Y predstavuje skupinu vzorca



kde jeden alebo dva z B, D, E a F predstavujú dusík a zostávajúce predstavujú uhlík; a R^{14} až R^{17} a t majú vyššie uvedený význam; alebo

- Y predstavuje prípadne substituovaný 5- až 7-členný heterocyklický kruh, ktorý môže byť nasýtený, nenasýtený alebo aromatický a obsahuje dusík, kyslík alebo síru a prípadne jeden, dva alebo tri ďalšie kruhové atómy dusíka a je prípadne anelovaný s benzoskupinou a prípadne substituovaný:

C_{1-6} alkoxyskupinou; hydroxyskupinou; oxoskupinou; aminoskupinou; mono- alebo di(C_{1-4} alkyl)amínoskupinou; C_{1-4} alkanoylamínoskupinou; alebo

C_{1-6} alkylskupinou, ktorá je prípadne substituovaná jedným alebo viacerými substituentmi, ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne, zvolenými zo súboru pozostávajúceho z C_{1-6} alkoxyskupiny, C_{1-6} halogénalkoxyskupiny, C_{1-6} alkyltioskupiny, halogénu, C_{3-7} cykloalkylskupiny, heterocyklylskupiny a fenylskupiny; alebo

C_{3-7} cykloalkylskupinou, arylskupinou alebo heterocyklylskupinou, z ktorých každá je prípadne substituovaná jedným alebo viacerými substituentmi, ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne, zvolenými zo súboru pozostávajúceho z C_{1-6} alkylskupiny, C_{1-6} alkoxyskupiny, C_{1-6} haloalkoxyskupiny, C_{1-6} alkyl-tioskupiny, halogénu, C_{3-7} cykloalkylskupiny, hetero-cyklylskupiny a fenylskupiny;

pričom v prípade oxosubstitúcie na heterocyklickom kruhu tento kruh obsahuje jeden alebo dva atómy dusíka a

oxosubstitúcia je v susednej polohe vzhľadom na kruhový atóm dusíka; alebo

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

a ich farmaceuticky vhodných solí a solvátov, polymorfov a preliečiv týchto entít, pri výrobe liečiva na liečenie ženskej sexuálnej dysfunkcie.

Niektoré zo zlúčenín všeobecného vzorca I sú opísané vo WO 91/10664 a WO 91/07386. V týchto dokumentoch ale nie je uvedené, že by tieto zlúčeniny mohli byť užitočné pri liečení ženskej sexuálnej dysfunkcie. Zostávajúce zlúčeniny všeobecného vzorca I sú nové.

Predmetom vynálezu sú teda tiež nové zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde R^1 , n a Y majú vyššie uvedený význam, pričom ale Y nepredstavuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$ a keď R^1 predstavuje propylskupinu alebo fenyletylskupinu, potom R^{14} nepredstavuje skupinu $-CH_2OH$, ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

Ďalej sú predmetom vynálezu nové zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde R^1 , n a Y majú vyššie uvedený význam, pričom ale Y nepredstavuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$ a R^{14} nepredstavuje vodík alebo skupinu $-CH_2OH$, ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

Alkylskupiny vo vyššie uvedenej definícii, ktoré obsahujú aspoň 3 atómy uhlíka, môžu mať reťazec priamy alebo rozvetvený, pokiaľ nie je uvedené inak. Pod pojmom "aryl" sa rozumie skupina odvodená od aromatického uhľovodíka, ako fenylskupina alebo naftylskupina, ktorá je prípadne substituovaná napríklad jedným alebo viacerými substituentmi zvolenými zo súboru pozostávajúceho z hydroxyskupiny, skupiny CN, CF₃, C₁₋₄alkyl-skupiny, C₁₋₄alkoxyskupiny, halogénu, karbamoylskupiny, aminosulfonylskupiny, aminoskupiny, mono- a di(C₁₋₄alkyl)amíno skupiny a (C₁₋₄alkanol)amínoskupiny.

Pod pojmom "halogén" sa rozumie fluór, chlór, bróm alebo jód.

Pod pojmom "heterocyklyl" sa vo vyššie uvedenej definícii, pokiaľ nie je uvedené inak, rozumie päť- alebo šesťčlenná heterocyklická skupina obsahujúca dusík, kyslík alebo síru, ktorá môže byť nasýtená, nenasýtená alebo aromatická a prípadne obsahuje ďalší kyslík alebo 1 až 3 kruhové atómy dusíka a je prípadne anelovaná s benzoskupinou alebo substituovaná napríklad jedným alebo viacerými substituentmi zvolenými zo súboru pozostávajúceho z halogénu, C₁₋₄ alkylskupiny, hydroxyskupiny, karbamoylskupiny, benzylskupiny, oxoskupiny, aminoskupiny a mono- a di(C₁₋₄ alkyl)amínoskupiny a (C₁₋₄ alkanoyl)amínoskupiny. Ako konkrétne príklady heterocyklov je možné uviesť pyridyl-, pyridonyl-, pyrazinyl-, pyrimidinyl-, pyridazinyl-, pyrrolyl-, imidazolyl-, pyrazolyl-, triazolyl-, tetrazolyl-, furyl-, tetrahydrofuryl-, tetrahydropyranyl-, dioxanyl-, tienyl-, oxazolyl-, izoxazolyl-, tiazolyl-, oxadiazolyl-, tiadiazolyl-, indolyl-, izoindolinyl-, chinolyl-, izochinolyl-, chinoxalinylyl-, chinazolinyl- a benzimidazolylskupinu, z

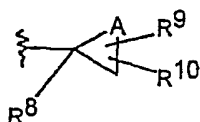
ktorých každá je prípadne substituovaná vyššie opísaným spôsobom.

Ako prednostné substituenty R^1 je možné uviesť C_{1-6} alkylskupinu, C_{1-6} alkoxyskupinu, C_{1-6} alkoxy(C_{1-3})alkylskupinu, C_{1-6} alkoxy C_{1-6} alkoxy C_{1-3} alkylskupinu alebo C_{1-6} alkylskupinu substituovanú arylskupinou.

Ako výhodnejšie substituenty R^1 je možné uviesť C_{1-6} alkylskupinu, C_{1-6} alkoxyskupinu, C_{1-6} alkoxy(C_{1-3})alkylskupinu (prednostne metoxyetylskupinu) alebo C_{1-6} alkoxy C_{1-6} alkoxy C_{1-3} alkylskupinu (prednostne metoxyetoxymetylskupinu).

Ako ešte výhodnejšie substituenty R^1 je možné uviesť C_{1-4} alkylskupinu (prednostne propylskupinu) alebo C_{1-6} alkoxy(C_{1-3})alkylskupinu (prednostne metoxyalkylskupinu, výhodnejšie metoxyetylskupinu).

Keď Y predstavuje skupinu



a karbocyklický kruh je celkom nasýtený, potom prednostne jeden z R^9 a R^{10} predstavuje skupinu $-CH_2OH$; $-C(O)NR^{11}R^{12}$; C_{1-6} alkylskupinu; fenylskupinu prípadne substituovanú C_{1-4} alkylskupinou; alebo fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu, ktorej fenylová časť je prípadne substituovaná C_{1-4} alkylskupinou. Vo výhodnejšom uskutočnení je karbocyklický kruh 5-, 6- alebo 7-členný, kde jeden z R^9 a R^{10} predstavuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$, a druhý predstavuje C_{1-6} alkylskupinu; fenylskupinu prípadne substituovanú C_{1-4} alkylskupinou; alebo fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu, ktorej fenylová časť je prípadne

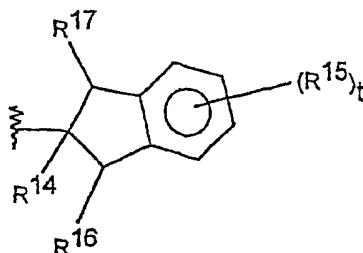
substituovaná C_{1-4} alkylskupinou. Vo výhodnejšom uskutočnení sú R^9 a R^{10} pripojené k susedným kruhovým atómom uhlíka. Vo výhodnejšom uskutočnení R^8 predstavuje skupinu CH_2OH .

Keď Y predstavuje skupinu $-NR^{18}S(O)_uR^{19}$, R^{18} prednostne predstavuje vodík. Vo výhodnejšom uskutočnení R^{19} predstavuje benzylskupinu alebo fenylskupinu. Vo výhodnejšom uskutočnení u predstavuje číslo 2.

Y prednostne predstavuje prípadne substituovaný 5- až 7-členný heterocyklický kruh. Vo výhodnejšom uskutočnení je kruhom prípadne substituovaný aromatický kruh, najmä pyridyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, pyridazinyl, pyrazolyl, triazolyl, tetrazolyl, oxadiazolyl, tiazolyl, tiadiazolyl, oxazolyl, izoxazolyl, indolyl, izoindolyl, chinolyl, izochinolyl, pyridonyl, chinoxalinyľ alebo chinazolinyl [zvlášť oxadiazol (prednostne 1,2,5- alebo 1,3,4-oxadiazol)], pyridón (prednostne 2-pyridón) alebo tiadiazol (prednostne 1,3,4-tiadiazol), z ktorých každý je prípadne substituovaný spôsobom uvedeným v definícii všeobecného vzorca I. V prednostnom uskutočnení je heterocyklický kruh substituovaný jedným alebo viacerými substituentmi zvolenými z C_{1-6} alkylskupiny, fenylskupiny a fenyl C_{1-4} alkylskupiny, výhodnejšie C_{1-4} alkylskupiny a benzylskupiny. Prednostne Y predstavuje N-substituovaný pyridón, kde substituentom je prednostne benzylskupina alebo C_{1-4} alkylskupina.

Y prednostne predstavuje laktám viazaný na dusíku.

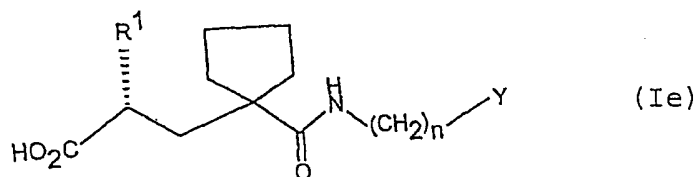
Y prednostne predstavuje skupinu vzorca



kde R^{14} prednostne predstavuje skupinu CH_2OH alebo $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$, najmä $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$.

R^{16} a R^{17} prednostne predstavujú vodík. Parameter t prednostne predstavuje číslo 0.

Prednosť sa dáva zlúčeninám všeobecného vzorca Ie



Ako zlúčeniny podľa vynálezu, ktorým sa dáva zvláštna prednosť, je možné uviesť

2-[(1-{[(1-benzyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridinyl)amino]karbonyl}cyklopentyl)metyl]-4-metoxybutánovú kyselinu (príklad 35);

2-[(1-{[3-(2-oxo-1-pyrrolidinyl)propyl]amino}karbonylcyklopentyl)metyl]-4-fenylbutánovú kyselinu (príklad 40);

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

2-[(1-{[(5-metyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)metyl]-4-fenylbutánovú kyselinu (příklad 43);

cis-3-(2-metoxyetoxy)-2-[(1-{[(4-{[(fenylsulfonyl)amino]-karbonyl}cyklohexyl)amino]karbonyl}cyklopentyl)metyl]propánovú kyselinu (příklad 38);

(+)-2-{[1-({[2-(hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]metyl}pentánovú kyselinu (příklad 31);

(2R)-2-[(1-{[(5-etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}-cyklopentyl)metyl]pentánovú kyselinu alebo (-)-2-[(1-{[(5-etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)-metyl]pentánovú kyselinu (příklad 29);

(2S)-2-[(1-{[(5-etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}-cyklopentyl)metyl]pentánovú kyselinu alebo (+)-2-[(1-{[(5-etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)-metyl]pentánovú kyselinu (příklad 30);

2-[(1-{[(3-benzylanilino)karbonyl]cyklopentyl)metyl}pentánovú kyselinu (příklad 21);

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

2-{[1-({[(1R,3S,4R)-4-(amínokarbonyl)-3-butylcyklohexyl]-amino}karbonyl)cyklopentyl)metyl}pentánovú kyselinu (príklad 9);

trans-3-[1-({[2-(4-chlórfenyl)cyklopropyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]-2-(metoxymetyl)propánovú kyselinu (príklad 46);

trans-3-[1-({[2-(4-metoxyfenyl)cyklopropyl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánovú kyselinu (príklad 47);

trans-3-[1-({[2-pentylcyklopropyl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánovú kyselinu (príklad 48);

3-[1-({[5-benzyl[1,3,4]-tiadiazol-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánovú kyselinu (príklad 49);

3-[1-({[4-butylpyridin-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánovú kyselinu (príklad 50);

3-[1-({[4-fenylpyridin-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánovú kyselinu (príklad 51);

3-[1-({[1-hydroxymetyl-3-fenylcyklopentyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánovú kyselinu (príklad 52);

2-{[1-({[2-(hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl)metyl]-4-metoxybutánovú kyselinu (príklad 53);

trans-3-[1-({[2-fenylcyklopropyl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánovú kyselinu (príklad 54);

(R)-2-{[1-({[2-(hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]metyl}-4-metoxybutánovú kyselinu (príklad 55); a

(S)-2-{[1-({[2-(hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]metyl}-4-metoxybutánovú kyselinu (príklad 56).

Aby sme sa vyhnuli akýmkoľvek pochybnostiam uvádzame, že pod pojmom "substituovaný" sa rozumie substituovaný jedným alebo viacerými uvedenými substituentmi, pokiaľ nie je uvedené inak. V prípade voľby substituentov zo súboru alternatívnych skupín, zvolené skupiny môžu byť rovnaké alebo rôzne.

Pod pojmom "nezávisle" sa v súvislosti s voľbou väčšieho počtu substituentov zo súboru možných substituentov rozumie, že tieto substituenty môžu byť rovnaké alebo rôzne.

Ako farmaceuticky alebo veterinárne vhodné soli zlúčenín všeobecného vzorca I, ktoré obsahujú centrá bazicity, je napríklad možné uviesť netoxické adičné soli s kyselinami, ako anorganickými kyselinami, ako kyselinou chlór vodíkovou, bróm vodíkovou, jódo vodíkovou, sírovou a fosforečnou; karboxylovými kyselinami alebo organickými sulfónovými kyselinami. Ako príklady takých solí je možné uviesť hydrochloridy, hydrobromidy, hydrojodidy, sulfáty, hydrogensulfáty, nitráty, fosfáty alebo hydrogénfosfáty, acetáty, benzoáty, sukcináty, sacharáty, fumaráty, maleáty, laktáty, citráty, tartráty, glukonáty, gáforsulfonáty, metánsulfonáty, etánsulfonáty, benzénsulfonáty, p-toluénsulfonáty a pamoáty. Zlúčeniny podľa vynálezu tiež môžu

tvoriť farmaceuticky alebo veterinárne vhodné soli s kovmi, najmä netoxické soli s alkalickými kovmi alebo kovmi alkalických zemín, ako bázami. Ako príklady takých solí je možné uviesť soli sodíka, draslíka, hliníka, vápnikov, horčíka, zinku, diolamínové, olamínové, etyléndiamínové, trometamínové, cholínové, meglumínové a dietanolamínové soli. Prehľad farmaceuticky vhodných solí je možné nájsť v publikáciách Berge et al., J. Pharm. Sci., 66,1 až 19,1977; P. L. Gould, International Journal of Pharmaceutics, 33 (1986), 201 až 217; a Bighley et al., Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Marcel Dekker Inc., New York 1996, sv. 13, str. 453 až 497. Prednosť sa dáva sodným soliam.

Do rozsahu farmaceuticky vhodných solvátov zlúčenín podľa vynálezu spadajú tiež hydráty.

Zlúčeniny, ich farmaceuticky vhodné soli a solváty a polymorfy týchto entít definované v rámci akéhokoľvek aspektu tohto vynálezu (okrem medziproduktov pri chemických postupoch) sú ďalej označované ako "zlúčeniny podľa vynálezu".

Zlúčeniny podľa vynálezu môžu obsahovať jedno alebo viacej centier chiralít, a môžu sa teda vyskytovať v rade stereo-izomérnych foriem. Do rozsahu tohto vynálezu spadajú všetky stereoizoméry a ich zmesi. Racemické zlúčeniny je možné separovať za použitia preparatívnej HPLC a stĺpca s chirálnou stacionárnou fázou alebo ich opticky štiepiť na jednotlivé enantioméry za použitia postupov, ktoré sú odborníkom v tomto odbore známe. Okrem toho je tiež pri výrobe chirálnych zlúčenín podľa vynálezu možné podrobiť optickému štiepeniu chirálne medziprodukty, ktoré sa potom pri tejto výrobe použijú.

V prípade, že sa zlúčeniny podľa vynálezu vyskytujú ako E a Z izoméry, do rozsahu vynálezu spadajú ako tieto jednotlivé izoméry, tak aj ich zmesi.

V prípade, že sa zlúčeniny podľa vynálezu vyskytujú vo forme tautomérov, do rozsahu vynálezu spadajú ako jednotlivé tautoméry, tak aj ich zmesi.

V prípade, že sa zlúčeniny podľa vynálezu vyskytujú vo forme optických izomérov, do rozsahu vynálezu spadajú ako jednotlivé optické izoméry, tak aj ich zmesi.

V prípade, že sa zlúčeniny podľa vynálezu vyskytujú vo forme diastereoizomérov, do rozsahu vynálezu spadajú ako jednotlivé diastereoméry, tak aj ich zmesi.

Diastereoméry a E a Z izoméry je možné separovať obvyklými postupmi, napríklad frakčnou kryštalizáciou, chromatografiou alebo vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou, HPLC (pozri príklady 29 a 30). Individuálne enantioméry zlúčenín podľa vynálezu alebo medziproduktov je možné pripravovať zo zodpovedajúcich opticky čistých medziproduktov alebo optickým štiepením, ako vysokotlakovou kvapalinovou chromatografiou zodpovedajúceho racemátu za použitia vhodného chirálneho nosiča alebo frakčnou kryštalizáciou diastereoizomérnych solí, ktoré zodpovedajúci racemát tvoria s vhodnou opticky aktívnou bázou. Prednostnou opticky aktívnou bázou je pseudoefedrín (pozri preparatívny postup 2).

Zlúčeniny podľa vynálezu sa môžu vyskytovať v jednej alebo viacero tautomérnych formách. Do rozsahu vynálezu

spadajú všetky tautoméry a ich zmesi. Napríklad do rozsahu 2-hydroxypyridinylskupiny tiež spadá jej tautoména forma, α -pyridonylskupina.

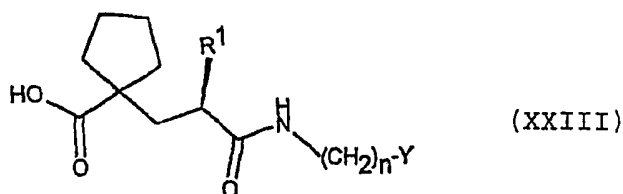
Odborníkom v tomto odbore bude zrejmé, že niektoré chránené deriváty zlúčenín podľa vynálezu, ktoré je možné získať pred uskutočnením stupňa záverečnej deprotektie, nemusia vykazovať farmakologickú aktivitu ako také, ale v niektorých prípadoch môžu byť napríklad po perorálnom alebo parenterálnom podaní v organizme metabolizované na zlúčeniny podľa vynálezu, ktoré farmakologicky aktívne sú. Takéto deriváty sa uvádzajú ako "preliečivá". Niektoré zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť preliečivami iných zlúčenín podľa vynálezu.

Do rozsahu vynálezu spadajú všetky chránené deriváty a preliečivá zlúčenín podľa vynálezu. Príklady preliečiv vhodných pre zlúčeniny podľa vynálezu je možné nájsť v publikáciách *Drugs of Today*, sv. 19, č. 9, 1983, str. 499 až 538 *Topics in Chemistry*, kapitola 31, str. 306 až 316 a "Design of Prodrugs", H. Bundgaard, Elsevier, 1985, kapitola 1 (ktoré sú citované náhradou za prenesenie ich obsahu do tohto textu).

Odborníkom v tomto odbore tiež bude zrejmé, že na vhodné funkčné skupiny, pokiaľ sú v zlúčeninách podľa vynálezu prítomné, je možné zaviesť určité zvyšky, známe ako "prezvyšky", ktoré sú napríklad opísané v publikácii "Design of Prodrugs", H. Bundgaard, Elsevier, 1985 (ktorá je tu citovaná náhradou za prenesenie celého jej obsahu do tohto textu).

Ako prednostné preliečivá zlúčenín podľa vynálezu je možné uviesť estery, karbonátové estery, hemiestery, fosfátové estery, nitroestery, sulfátové estery, sulfoxidy, amidy, karbamáty, azozlúčeniny, fosfamidy, glykosidy, étery, acetaly a ketaly.

Pri metabolických štúdiách sa ukázalo, že zlúčeniny všeobecného vzorca I môžu in vivo tvoriť zlúčeniny všeobecného vzorca XXIII



čo sú tiež inhibítory NEP. Najmä sme zistili, že (2R)--2-[(1-{[(5-etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)metyl]pentánová kyselina (príklad 29) in vivo tvorí (2R)-1-(2-{[(5-etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}-pentyl)cyklopentánkarboxylovú kyselinu.

Do rozsahu vynálezu tiež spadajú izotopové varianty zlúčenín podľa vynálezu. Izotopový variant je definovaný ako variant, v ktorom je aspoň jeden atóm nahradený atómom s rovnakým atómovým číslom, ale s atómovou hmotnosťou odlišnou od atómovej hmotnosti s akou sa obvykle nachádza v prírode. Ako príklady izotopov, ktoré je možné začleniť do zlúčenín podľa vynálezu, je možné uviesť izotopy vodíka, uhlíka, dusíka, kyslíka, fosforu, síry, fluóru a chlóru, ako je ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F a ^{36}Cl . Určité izotopovo označené varianty podľa vynálezu, napríklad označené rádioaktívnymi izotopmi, ako ^3H alebo ^{14}C , sú užitočné pri skúškach distribúcie liečiva alebo substrátu v

tkanivách. Zvláštna prednosť sa dáva tritiovým izotopom to je ^3H , a ^{14}C izotopom, pretože je ich možné jednoducho pripravovať a detegovať. Nahradením ťažšími izotopmi, ako deutériom, to je ^2H , je možné dosiahnuť určité terapeutické výhody vyplývajúce z vyššej metabolickej stability, napríklad predĺženie polčasu in vivo alebo zníženie potrebných dávok, čomu sa za určitých okolností môže dávať prednosť. Izotopové varianty zlúčenín podľa vynálezu je možné všeobecne pripravovať obvyklými spôsobmi, ako spôsobmi opísanými v príkladoch uskutočnenia a preparatívnych postupoch, za použitia vhodných izotopových variantov vhodných reagentov.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú inhibítory zinok-dependentnej neutrálnej endopeptidázy EC.3.4.24.11 a má sa za to, že za použitia zlúčenín podľa vynálezu je možné liečiť chorobné stavy uvedené ďalej. Tento enzým sa štiepením väzieb v aminosom mieste hydrofóbných aminokyselinových zvyškov zúčastňuje na odbúravaní niekoľkých biologicky aktívnych oligopeptidov. Ako metabolizované peptidy je možné uviesť atriálne natriuretické peptidy (ANP), bombesín, bradykinín, peptid odvodený od génu pre kalcitonín, endotelíny, enkefalíny, neurotenzín, látku P a vasoaktívny intestinálny peptid. Niektoré z týchto peptidov vykazujú silné vasodilatačné a neurohormonálne pôsobenie, diuretickú a natriuretickú aktivitu alebo sprostredkovávajú behaviorálne účinky. Zlúčeniny podľa vynálezu teda tým, že inhibujú neutrálnu endopeptidázu EC.3.4.24.11, môžu potencovať biologické účinky bioaktívnych peptidov.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú teda užitočné pri liečení rady porúch, ako hypertenzie, srdečného zlyhania, angíny, renálnej insuficiencie, akútneho zlyhania obličiek,

cyklického edému, Menièrovu chorobu, hyperaldosteronizmus (primárny a sekundárny) a hyperkalciúriu. Vzhľadom na schopnosť potenciovat' účinky ANF sú zlúčeniny podľa vynálezu tiež užitočné pri liečení glaukómu. Vďaka svojej schopnosti inhibovat' neutrálnu endopeptidázu EC.3.4.24.11 zlúčeniny podľa vynálezu môžu byť účinné v iných terapeutických oblastiach, napríklad pri liečení menštruačných porúch, predčasného pôrodu, preeklampsie, endometriózy a reprodukčných porúch (najmä mužskej alebo ženskej neplodnosti, syndrómu polycystických vaječníkov, nidačného zlyhania). Zlúčeniny podľa vynálezu by tiež mali byť užitočné pri liečení astmy, zápalov, leukémie, bolesti, epilepsie, afektívnych porúch, demencie a stareckej zmätenosti, obezity a gastrointestinálnych porúch (najmä diarey a syndrómu dráždivého čreva), pri hojení rán (najmä diabetických a bércoých vredov a dekubitov), liečení septického šoku, modulácii sekrécie žalúdočnej kyseliny, hyperreninémie, cystickej fibrózy, restenózy, komplikácií diabetu a aterosklerózy. Prednostne sú zlúčeniny podľa vynálezu užitočné pri liečení sexuálnej dysfunkcie žien (FSD), prednostne FSAD.

Pod pojmom "liečenie" sa rozumie kuratívne, paliatívne a profylaktické liečenie.

Zistili sme, že zlúčeniny podľa vynálezu inhibujú enzým neutrálnu endopeptidázu. Predmetom vynálezu je teda tiež použitie zlúčenín podľa vynálezu pri výrobe liečiva na liečenie alebo profylaxiu stavu, v ktorom je možné kladnú terapeutickú odpoveď dosiahnuť inhibíciou neutrálnej endopeptidázy.

FSD je možné definovat' ako problematické dosahovanie sexuálneho uspokojenia alebo neschopnosť jeho dosiahnutia.

FSD je súhrnný pojem na rôzne ženské sexuálne poruchy (Leiblum, S. R. (1998). Definition and classification of female sexual disorders. Int. J. Impotence Res., 10, S104-S106; Berman, J. R., Berman, L. & Goldstein, I. (1999). Female sexual dysfunction: Incidence, pathophysiology, evaluations and treatment options. Urology, 54, 385-391). Žena môže trpieť nedostatkom libida, problematickým dosiahnutím vzrušenia alebo orgazmu, bolesťou pri styku alebo kombináciou týchto problémov. FSD môže vyvolávať niekoľko typov chorôb, liečiv, poranení alebo psychologických problémov. Vyvíjané liečenia sú zamerané na liečenie špecifických podtypov FSD, prevažne porúch libida a vzrušivosti.

Kategórie FSD je možné najlepšie definovať ich priradením k fázam normálnej ženskej sexuálnej odpovedi: túžbe, vzrušenia a orgazmu (Leiblum, S. R. (1998). Definition and classification of female sexual disorders. Int. J. Impotence Res., 10, S104-S106). Túžba či libido sú pohonom pre sexuálne chovanie a jeho prejavy sú často sexuálne predstavy za prítomnosti zainteresovaného partnera alebo pri vystavení iným erotickým stimulom. Oproti tomu, sexuálne vzrušenie predstavuje vaskulárnu reakciu na sexuálnu stimuláciu, ktorej dôležitou zložkou je prekrvenie genitálií a ďalšími zložkami sú zvýšená lubrikácia a predĺženie vagíny a zvýšená citlivosť genitálií. Orgazmus predstavuje uvoľnenie sexuálnej tenzie, ktorá kulminuje počas vzrušenia.

FSD sa teda obvykle vyskytuje u žien, ktoré neadekvátne alebo neuspokojivo reagujú v akejkoľvek z týchto fáz, obvykle vo fáze túžby, vzrušenia alebo orgazmu. Ako kategórie FSD je možné uviesť znížené libido, poruchu sexuálnej vzrušivosti, orgastickú poruchu a bolestivé sexuálne poruchy. Aj keď

zlúčeniny podľa vynálezu zlepšujú genitálnu reakciu na sexuálnu stimuláciu (ako pri poruche sexuálnej vzrušivosti u žien), môžu v rámci toho tiež znižovať bolesť, tieseň alebo diskomfort, ktoré súvisia so stykom, a tak liečiť iné sexuálne poruchy žien.

Predmetom vynálezu je teda ďalej použitie zlúčenín podľa vynálezu pri výrobe liečiva na liečenie alebo profylaxiu hypoaktívnej poruchy sexuálnej túžby, poruchy sexuálnej vzrušivosti, orgastickej poruchy a sexuálnej bolestivej poruchy, výhodnejšie na liečenie alebo profylaxiu poruchy sexuálnej vzrušivosti, orgastickej poruchy a bolestivej sexuálnej poruchy, najvýhodnejšie na liečenie alebo profylaxiu poruchy sexuálnej vzrušivosti.

Hypoaktívnou poruchou sexuálnej túžby trpia ženy, ktoré po sexe netúžia, alebo túžia len málo, a nemajú alebo takmer nemajú žiadne sexuálne predstavy alebo fantáziu. Tento typ FSD môže byť vyvolaný nízkymi hladinami testosterónu, buď kvôli prirodzenej alebo chirurgicky navodenej menopauze. Ako iné príčiny je možné uviesť choroby, medikáciu, únavu, depresiu a úzkosť.

Pre poruchu sexuálnej vzrušivosti žien (FSAD) je charakteristická neadekvátna odpoveď genitálií na sexuálnu stimuláciu. Nedochádza na prekrvenie genitálií, ktoré je príznačné pre normálne sexuálne vzrušenie. Steny vagíny sú málo lubrikované, takže styk je bolestivý. Dosiahnutie orgazmu je problematické. Porucha vzrušivosti môže byť vyvolaná zníženou hladinou estrogénu pri menopauze alebo po pôrode a počas laktácie, a tiež ochorením, ktoré tiež postihuje vaskulatúru, ako je diabetes a ateroskleróza. Iné príčiny môžu byť spojené s liečením diuretikmi, antihistaminikmi,

antidepresívami, napríklad SSRI, alebo antihypertenzívnymi činidlami.

Pre bolestivé sexuálne poruchy (ktoré zahŕňajú dyspareúniu a vaginizmus) je charakteristická bolesť vyvolaná penetráciou. Tieto poruchy môžu byť vyvolané medikáciou, ktorá znižuje lubrikáciu, endometriózou, zápalovou chorobou panve, zápalovou chorobou čriev alebo problémami s močovým traktom.

Prevalenciu FSD je ťažké odhadnúť, pretože tento pojem pokrýva niekoľko typov problémov, z ktorých niektoré nie sú jednoducho merateľné a pretože záujem liečiť FSD vznikol relatívne nedávno. Veľa sexuálnych problémov žien je spojených buď priamo s procesom ich starnutia alebo s chronickým ochorením, ako diabetes alebo hypertenzia.

Pretože FSD tvorí niekoľko podtypov, ktoré zodpovedajú symptómom v oddelených fázach cyklu sexuálnej odpovedi, jediná terapia neexistuje. Súčasné spôsoby liečenia FSD sú zamerané predovšetkým na psychologické alebo vzťahové problémy. Liečenie FSD sa postupne vyvíja ako klinickejšie a skúmaniu tohto problému sú venované základné vedecké štúdie. Sexuálne problémy žien nie sú z hľadiska patofyziológie vždy psychologické, najmä u tých žien, na ktorých celkovom sexuálnom probléme sa môže zúčastňovať zložka vaskulogenetickej dysfunkcie (napríklad FSAD). V súčasnosti neexistujú žiadne povolené lieky na liečenie FSD. Empirická farmakoterapia zahŕňa podávanie estrogénu (topicky alebo ako hormonálnu substitúciu), androgénov alebo liečiv ovplyvňujúcich náladu, ako je buspirón alebo trazodón. Tieto liečebné možnosti sú vzhľadom k nízkej účinnosti alebo neprijateľným vedľajším účinkom často neuspokojivé.

Pretože záujem liečiť FSD farmakologicky je relatívne nový, terapia sa skladá z psychologického poradenstva, voľne predajných sexuálnych lubrikantov a doposiaľ nevyskúšaných potenciálnych liečiv, ktorými môžu byť liečivá schválené pre iné stavy. Takú medikáciu môžu predstavovať hormonálne činidlá, testosterón alebo kombinácia estrogénu a testosterónu, a nedávno vyvinuté vaskulárne liečivá s overenou účinnosťou na erektilnú dysfunkciu mužov. Nepreukázalo sa ale, že by niektoré z týchto činidiel bolo príliš účinné pri liečení FSD.

Ako už bolo uvedené vyššie, zlúčeniny podľa vynálezu sú zvlášť užitočné pri liečení poruchy sexuálnej vzrušivosti žien (FSAD).

Diagnostický a štatistický manuál (DSM) IV Americkej psychiatrickej asociácie definuje poruchu sexuálnej vzrušivosti žien (FSAD) takto:

"... trvalá alebo prechodná neschopnosť dosiahnuť adekvátnej odozvy pohlavného vzrušenia, ktorá spočíva v lubrikácii a vo zväčšení, alebo neschopnosť ju udržať až do konca sexuálnej aktivity. Porucha musí vyvolávať veľkú tieseň alebo interpersonálne problémy."

Sexuálne vzrušenie je tvorené vasokongesciou v panve, lubrikáciou vagíny a zväčšením vonkajších genitálií. Porucha vyvoláva veľkú tieseň a/alebo interpersonálne problémy.

FSAD je sexuálnou poruchou s vysokou prevalenciou u pre-, peri a postmenopauzálnych ($\pm$ HRT) žien. Je spojená s ďalšími

sprievodnými poruchami, ako sú depresie, kardiovaskulárne choroby, diabetes a UG poruchy.

Primárnymi následkami FSAD sú nedostatočné prekrvenie/ /zväčšenie, nedostatočná lubrikácia a nedostatok príjemného genitálneho pôžitku. Druhotnými následkami FSAD sú znížené libido, bolesť počas styku a problémové dosahovanie orgazmu.

Nedávno bola navrhnutá hypotéza, že aspoň pre časť pacientov so symptómami FSAD má táto porucha vaskulárnu bázu (Goldstein et al., Int. J. Impot. Res., 10, S84 S90, 1998) a tento názor podporujú údaje získané na zvieratách (Park et al., Int. J. Impot. Res., 9,27-37, 1997).

Liečivá, ktoré prichádzajú do úvahy na liečenie FSAD, ktorých účinnosť sa v súčasnej dobe skúma, sú primárne liečivá na liečenie mužskej erektilnej dysfunkcie, ktoré zvyšujú prekrvenie mužských genitálií. Takú terapiu tvoria dva typy formulácií, perorálne alebo sublinguálne medikácie (apomorfín, fentolamín, inhibítory fosfodiesterázy typu 5 (PDE5), napríklad sildenafil), a prostaglandín (PGE_1), ktorý sa mužom podáva injekčne alebo transuretrálne, a ženám topicky na genitálie.

V tomto texte sa pojem "žena" používa ako súhrnný pojem na označenie pohlavia človeka alebo iného živočícha, pokiaľ nie je uvedené inak. Do jeho rozsahu teda spadá aj pojem "samica". Podobný vzťah je tiež medzi pojmi "muž" a "samec". Vyššie uvedené sa tiež vzťahuje na prívlastky "ženský" - "samičí", "mužský" - "samčí" a podobne.

Zlúčeniny podľa vynálezu sú výhodné, pretože poskytujú prostriedok umožňujúci obnovenie normálnej odpovedi sexuálnej vzrušivosti - totiž zvýšeného prekrvenia genitálií, ktoré vedie na prekrvenie vagíny, klitoris a lábií. Toto prekrvenie vyústi v zvýšenú lubrikáciu vagíny transsudáciou plazmy, zvýšenú poddajnosť vagíny a zvýšenú citlivosť genitálií. Zlúčeniny podľa vynálezu teda poskytujú prostriedky ako obnoviť alebo potencovať normálnu sexuálnu vzrušivosť.

Bez väzby na akúkoľvek teóriu máme za to, že neuropeptidy, ako vasoaktívny intestinálny peptid (VIP) sú hlavnými potenciálnymi neurotransmitermi, ktoré sa zúčastňujú na regulácii odpovedi sexuálnej vzrušivosti žien, najmä na reguláciu prekrvenia genitálií. VIP a iné neuropeptidy sú degradované/metabolizované neutrálne endopeptidázou EC3.4.24.11. Inhibítory NEP teda budú potencovať endogénny vasorelaxačný účinok VIP uvoľnený počas vzrušenia. To povedie na liečenie FSAD, ako liečenie prostredníctvom zvýšeného prekrvenia a následného prekrvenia genitálií. Zistili sme, že inhibítory NEP EC 3.4.24.11 zvyšujú nárast prekrvenia vagíny a klitorisu vyvolaný stimuláciou pelvického nervu a indukovaný vasoaktívnym intestinálnym peptidom. Okrem toho selektívne inhibítory NEP zvyšujú nervovo sprostredkovanú relaxáciu izolovanej steny vagíny.

Tento vynález je výhodný, pretože poskytuje prostriedok umožňujúci obnovenie normálnej odpovedi sexuálnej vzrušivosti - totiž zvýšeného prekrvenia genitálií, ktoré vedie na prekrvenie vagíny, klitorisu a lábií. Toto prekrvenie vyústi v zvýšenú lubrikáciu vagíny transsudáciou plazmy, zvýšenú poddajnosť vagíny a zvýšenú citlivosť genitálií. Zlúčeniny podľa vynálezu teda poskytujú prostriedky ako obnoviť alebo potencovať normálnu sexuálnu vzrušivosť.

Základné poznatky o NEP zverejnili Victor A. McKusick et al. Na <http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/searchomim.htm>. Nasledujúce informácie týkajúce sa NEP sú výberom z tohto zdroja.

"Všeobecný antigén akútnej lymfocytovej leukémie (common ALLa, CALLA) je dôležitým bunkovým povrchovým markerom pri diagnóze ľudskej akútnej lymfoblastovej leukémie (ALL). Je prítomný na leukemických bunkách pre-B fenotypu, čo predstavuje 85 % prípadov ALL. CALLA sa ale neobmedzuje na leukemické bunky, a je možné ho nájsť v rade normálnych tkanív. CALLA je glykoproteín, ktorý je zvlášť hojný v obličkách, kde je prítomný na kefovej obrube proximálnych tubulov a na glomeruálnom epiteli. Letarte et al. (1988) klonovali cDNA kódujúcu CALLA a ukázali, že aminokyselinová sekvencia dedukovaná z cDNA sekvencie je identická so sekvenciou ľudskej neutrálnej endopeptidázy asociovanej s membránami (NEP; EC 3.4.24.11), známe tiež ako enkefalináza. NEP štiepi peptidy v aminosom mieste hydrofóbných zvyškov a inaktivuje niekoľko peptidových hormónov, ako glukagón, enkefalíny, látku P, neurotensín, oxytocín a bradykinín. Transfekčnou analýzou cDNA Shipp et al. (1989) potvrdili, že CALLA je funkčnou neutrálnou endopeptidázou typu, ktorý bol skôr uvádzaný ako enkefalináza. Barker et al. (1989) doložili, že CALLA gén, ktorý kóduje 100kD transmembránový glykoproteín typu II existuje v jedinej kópii o viac ako 45 kb, ktoré u malignít exprimujúcich CALLA na povrchu buniek nie je preskupený. Gén bol lokalizovaný na ľudskom chromozóme 3 štúdiou hybridných somatických buniek a in situ hybridizáciou lokalizovaný na 3q21-q27. Tran-Paterson et al. (1989) za použitia Southernovej analýzy DNA z hybridných ľudských-hlodavčích buniek lokalizovali tento gén na chromozóme 3.

D'Adamio et al. (1989) doložili, že gén CALLA má rozsah viac ako 80 kb a je tvorený 24 exónmi."

- 1 Barker, P. E.; Shipp, M. A.; D'Adamio, L.; Masteller, E. L.; Reinherz, E. L. The common acute lymphoblastic leukemia antigen gene maps to chromosomal region 3 (q21-q27). J. Immun. 142: 283-287, 1989.
- 2 D'Adamio, L. ; Shipp, M. A.; Masteller, E. L.; Reinherz, E. L. : Organization of the gene encoding common acute lymphoblastic leukemia antigen (neutral endopeptidase 24.11): multiple miniexons and separate 5-prime untranslated regions. Proc. Nat. Acad. Sci. 86 : 7103-7107, 1989.
- 3 Letarte, M.; Vera, S.; Tran, R.; Addis, J. B. L.; Onizuka, R. J.; Quackenbush, E. J.; Jongeneel, C. V.; McInnes, R. R.: Common acute lymphocytic leukemia antigen is identical to neutral endopeptidase. J. Exp. Med. 168: 1247-1253, 1988.
- 4 Shipp, M. A.; Vijayaraghavan, J.; Schmidt, E. V.; Masteller, E. L. ; D'Adamio, L.; Hersch, L. B.; Reinherz, E. L.: Common acute lymphoblastic leukemia antigen (CALLA) is active neutral endopeptidase 24.11 ('enkephalinase') : direct evidence by cDNA transfection analysis. Proc. Nat. Acad. Sci. 86: 297-301, 1989.
- 5 Tran-Paterson, R.; Willard, H. F.; Letarte, M.: The common acute lymphoblastic leukemia antigen (neutral endopeptidase-3.4.24.11) gene is located on human chromosome 3. Cancer Genet. Cytogenet. 42: 129-134, 1989.

"Genitálne (ženské) orgány sú tvorené orgánmi vnútornými a vonkajšími. Vnútorné orgány sú umiestnené v panve a tvoria ich vaječníky, vajcovody, maternica a vagína. Vonkajšie orgány sú povrchové vzhľadom k urogenitálnemu diafragmatu a nachádzajú sa pod panvovým oblúkom. Tvorí ich hrma, veľké ohanbové pysky a malé ohanbové pysky, klitoris, vestibulum, bulbus vestibuli a veľké vestibulárne žľazy". (Grayova Anatómia, C. D. Clemente, 13. americké vydanie)

Zlúčeniny podľa vynálezu nachádzajú použitie v nasledujúcich podsúboroch pacientov s FSD: u mladých žien, starších žien, premenopauzálnych žien, perimenopauzálnych žien, postmenopauzálnych žien, u ktorých je prípadne uskutočňovaná hormonálna substitučná terapia.

Zlúčeniny podľa vynálezu nachádzajú použitie u pacientov s FSD

i) s vaskulogénnou etiológiou, to je napríklad vyvolanou kardiovaskulárnymi alebo aterosklerotickými chorobami, hypercholesterolémií, fajčením cigariet, diabetom, hypertenziou, ožiarením alebo traumou hrádze, traumatickým poškodením iliohypogastrického pudendálneho vaskulárneho systému,

ii) s neurogénnou etiológiou, to je napríklad vyvolanou poranením miechy alebo chorobami centrálného nervového systému, ako je roztrúsená skleróza, diabetes, Parkinsonizmom, cerebrovaskulárnymi príhodami, periférnymi neuropatiami, traumou alebo radikálnou operáciou panve,

iii) s hormonálnou/endokrinnou etiológiou, to je napríklad vyvolanou dysfunkciou osi hypotalamus-hypofýzagonády alebo dysfunkciou vaječníkov, dysfunkciou slinivky brušnej, chirurgickou alebo farmakologickou kastráciou, deficitom androgénov, vysokou cirkulačnou hladinou prolaktínu, napríklad hyperprolaktinémiou, prirodzenou menopauzou, predčasnou stratou funkcie vaječníkov, hyper- a hypotyroidizmom,

iv) s psychogénnou etiológiou, to je napríklad vyvolané depresiou, obsedantne kompulzívnou poruchou, úzkostnou poruchou, popôrodnou depresiou, emočnými a vzťahovými problémami, úzkosťou zo zlyhania, manželskými nezhodami, dysfunkčnými vzťahmi, sexuálnymi fóbiami, religióznym zablokovaním alebo traumatickými skúsenosťami,

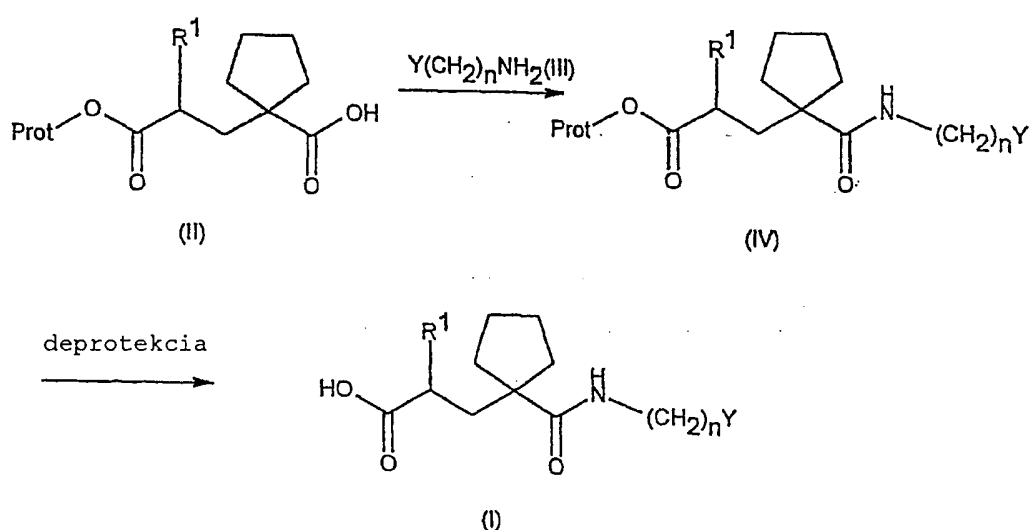
v) indukovanou farmakologicky, to je napríklad vyvolanou selektívnymi inhibítormi spätného vychytávania serotonínu (SSRi) a inými antidepresívami (tricyklickými antidepresívami a veľkými trankvilizérmi), antihypertenzívami, sympatolytikmi alebo dlhodobo podávanými antikoncepčnými činidlami.

Zlúčeniny podľa vynálezu je možné pripravovať za použitia rôznych známych spôsobov. V nasledujúcich reakčných schémach a ďalšom texte majú všeobecné symboly R^1 , n a Y význam uvedený v definícii všeobecného vzorca I, pokiaľ nie je uvedené inak. Tieto spôsoby sú ďalšími predmetmi vynálezu.

V tomto opise sú všeobecné vzorce číslované pomocou rímskych číslíc I, III, IV atď. Podmnožiny týchto všeobecných vzorcov sú uvádzané ako Ia, Ib, Ic atď., ... IVa, IVb, IVc atď.

Zlúčeniny všeobecného vzorca I je možné pripravovať spôsobom znázorneným v reakčnej schéme 1 tak, že sa zlúčenina všeobecného vzorca II (kde Prot predstavuje vhodnú chrániacu skupinu) nechá reagovať s primárnym amínom všeobecného vzorca III, čím sa získa zlúčenina všeobecného vzorca IV. Po jej deprotekcii sa získa zlúčenina všeobecného vzorca I.

S c h é m a 1



Stupeň kopulácie amínu s kyselinou je možné uskutočňovať tak, že sa zlúčenina všeobecného vzorca II nechá reagovať so zlúčeninou všeobecného vzorca III (alebo jej amínovou soľou) za prítomnosti kopulačného činidla, prípadne katalyzátora a nadbytku akceptora kyseliny, vo vhodnom rozpúšťadle. V typickom uskutočnení sa zmes zlúčenín všeobecného vzorca II a zlúčenín všeobecného vzorca III nechá reagovať za prítomnosti kopulačného činidla (napríklad dicyklohexylkarbodiimidu (DCC), 1-(3-dimetylamínopropyl)-3-etylkarbodiimidu (WSCDI), benzotriazol-1-yl-dietyl-fosfátu, oxychloridu fosforečného, chloridu titaničitého, sulfurylchloridomfluoridom, Lawesonovým činidlom, PPACA, PYBOP alebo Mukaiyamovým činidlom) prípadne za prítomnosti terciárnej amínovej bázy

(napríklad trietylamínu, Hunigovej bázy, pyridínu alebo NMM) počas asi 24 hodín pri teplote -78 až 100°C. Za prednostných reakčných podmienok sa reakcia uskutočňuje tak, že sa zlúčenina všeobecného vzorca II (1 až 1,5 ekv.) nechá reagovať so zlúčeninou všeobecného vzorca III (alebo jej soľami, 1 - 1,5 ekv.) za prítomnosti hydrochloridu 1-(3-dimetylamínopropyl)-3-etylkarbodiimidu (WSCDI) alebo N,N'-dicyklohexylkarbodiimidu (DCC) (1,1 až 1,3 ekv.), hydrátu 1-hydroxybenzotriazolu (HOBT) alebo dimetylamínopyridínu (DMAP) (1,05 až 1,2 ekv.), N-metylmorfolínu alebo trietylamínu (DMAP) v dimetylformamide alebo dichlórmetáne pri teplote od teploty miestnosti do 90°C počas 16 až 18 hodín.

Alternatívne je stupeň kopulácie kyseliny s aminosom možné uskutočňovať cez aktivovaný medziprodukt) (ako acylimidazolíd, zmesný anhydrid alebo chlorid kyseliny) za prítomnosti nadbytku akceptora kyseliny vo vhodnom rozpúšťadle. Ako typické podmienky je možné uviesť reakciu zlúčeniny všeobecného vzorca II s aktivačným činidlom (napríklad N,N'-karbonyldiimidazolom, N,N'-karbonylbis(3-metylimidazolium)trifluórmetánsulfonátom, tionylchloridom alebo oxalylchloridom) prípadne za prítomnosti terciárnej aminovej bázy (napríklad trietylamínu, Hunigovej bázy, pyridínu alebo NMM) počas až 24 hodín a následnou reakciou so zlúčeninou všeobecného vzorca III (alebo jej soľou) prípadne za prítomnosti katalyzátora (napríklad 4-dimetylamínopyridínu) alebo prídavnej látky (napríklad hydroxybenzotriazolu) vo vhodnom rozpúšťadle (napríklad dichlórmetáne, tetrahydrofuráne, etylacetáte, acetonitrile, DMF alebo toluéne) prípadne za prítomnosti prídavnej aminovej bázy pri teplote od -78 do 150°C počas až 48 hodín.

Ako prednostné reakčné podmienky je možné uviesť reakciu chloridu kyseliny zlúčeniny všeobecného vzorca II (1 až 1,1 ekv.) so zlúčeninou všeobecného vzorca III (alebo jej soli, 1 až 1,5 ekv.) za prítomnosti trietylaminu alebo N-metylmorfolínu (1,4 až 10 ekv.) v dichlórmetánovom rozpúšťadle pri teplote miestnosti počas 24 hodín. Alternatívne je zlúčeniny všeobecného vzorca II možné prevádzať na chlorid kyseliny in situ reakciou s oxalylchloridom v dichlórmetáne za prítomnosti katalytického množstva dimetylformamidu počas 2 hodín pri teplote miestnosti alebo tak, že sa zlúčenina všeobecného vzorca II nechá reagovať s tionylchloridom v zmesi dichlórmetánu a pyridínu pri -10°C počas 3 hodín, hneď potom sa pridá trietylamin, 4-dimetylaminopyridín a zlúčenina všeobecného vzorca III a zmes sa nechá reagovať 48 hodín pri 20°C .

Zlúčeniny všeobecného vzorca I je možné pripravovať deprotekciou zlúčenín všeobecného vzorca IV. Spôsoby deprotektie skupiny kyseliny závisia na chrániacej skupine. Príklady vhodnej metodológie zavádzania a odstraňovania ochrany je možné nájsť v publikácii "Protective groups in Organic synthesis", T. W. Greene a P. G. M. Wutz.

Napríklad keď Prot predstavuje terc-butylskupinu, deprotekčné podmienky zahŕňajú reakciu zlúčeniny všeobecného vzorca IV so zmesou trifluóroctovej kyseliny a dichlórmetánu (1 : 1 až 1,5 objemovo) uskutočňovanú pri teplote miestnosti počas 2 až 18 hodín, prípadne za prítomnosti zachytávača karbokatiónu, napríklad anisolu (10 ekv.). Keď Y obsahuje hydroxyskupinu, môže byť nutné uskutočniť bázickú hydrolýzu intermeriárneho esteru trifluóroctovej kyseliny. V prípade, že Prot predstavuje terc-butylskupinu, je deprotekciu možné uskutočňovať tak, že sa zlúčenina všeobecného vzorca IV nechá

reagovať s kyselinou chlór vodíkovou v dichlórmetáne pri teplote miestnosti počas 3 hodín. terc-Butylskupina vo význame Prot ale predstavuje púhy príklad, a vynález sa na terc-butylskupinu neobmedzuje.

Keď Prot predstavuje terc-butylskupinu, je deprotekcii možné uskutočňovať tiež tak, že sa zlúčenina všeobecného vzorca IV nechá reagovať so silnou kyselinou (napríklad s plynným chlór vodíkom alebo koncentrovanou kyselinou chlór vodíkovou, kyselinou bróm vodíkovou, kyselinou fosforečnou, kyselinou dusičnou alebo kyselinou sírovou, kyselinou trifluóroctovou, kyselinou chlór octovou, kyselinou p-toluénsulfónovou, kyselinou trifluórmetánsulfónovou alebo ľadovou kyselinou octovou) v množstvách v rozmedzí od katalytického množstva do nadbytku, prípadne za prítomnosti vhodného rozpúšťadla (napríklad toluénu, dichlórmetánu, dietyléteru, etanolu, tetrahydrofuránu alebo hexánu) a prípadne za prítomnosti vody, pri teplote od asi 20 do asi 150°C počas až 48 hodín.

Ako prednostné deprotekčné podmienky je možné v prípade, že Prot predstavuje terc-butylskupinu, uviesť reakciu zlúčeniny všeobecného vzorca IV s desaťnásobným nadbytkom trifluóroctovej kyseliny v dichlórmetáne uskutočňovanú pri teplote miestnosti počas 24 hodín.

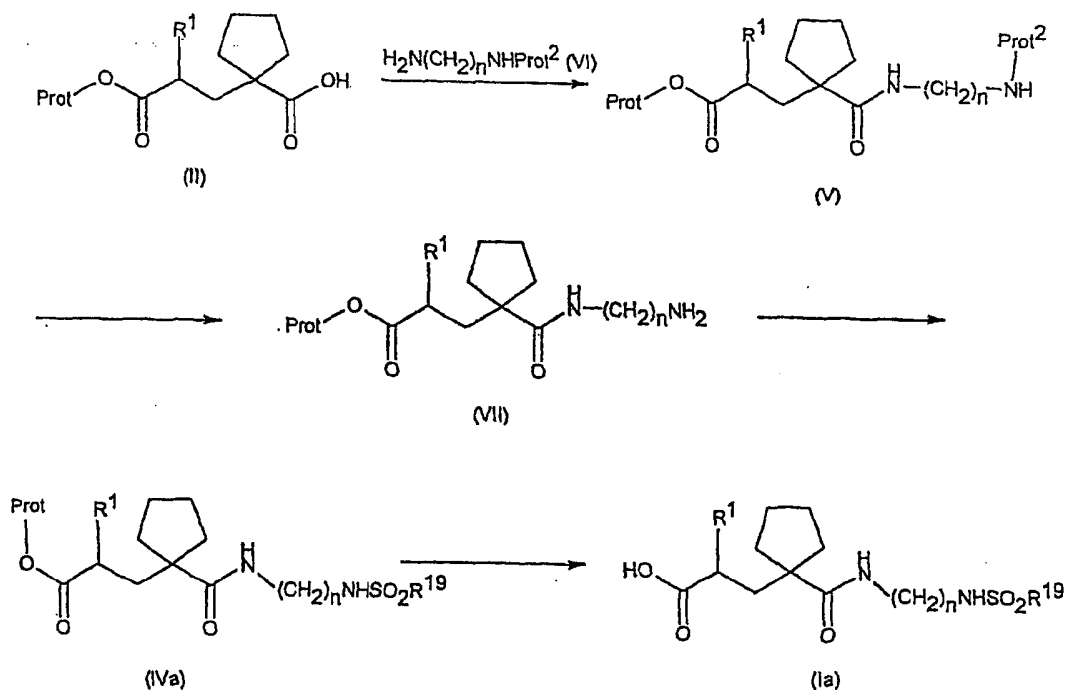
Keď Prot predstavuje benzylskupinu, deprotekčné podmienky zahŕňajú reakciu zlúčeniny všeobecného vzorca IV s palládiom na uhlíku (5 až 10%) vo vodnom etanole (40 až 95%) za tlaku 103,5 až 412,2 kPa uskutočňovanú pri teplote miestnosti počas 2 hodín až 3 dní.

Tieto spôsoby predstavujú ďalšie aspekty tohto vynálezu.

Zlúčeniny všeobecného vzorca IV sú nové a sú ďalším predmetom tohto vynálezu.

Zlúčeniny všeobecného vzorca Ia, to je zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde Y predstavuje skupinu $\text{-NH}\text{SO}_2\text{R}^{19}$, je možné pripravovať spôsobom znázorneným v reakčnej schéme 2. Najprv sa pripraví zlúčenina všeobecného vzorca V tak, že sa zlúčenina všeobecného vzorca II nechá reagovať so zlúčeninou všeobecného vzorca VI, kde Prot^2 predstavuje vhodnú chrániacu skupinu amínu. Prednostné reakčné podmienky sú podobné podmienkam opísaným vyššie v súvislosti s uskutočňovaním stupňa kopulácie kyseliny a amínu podľa schémy 1. Selektívnou deprotekciou amínu zlúčenín všeobecného vzorca V sa získa zlúčenina všeobecného vzorca VII. Zlúčenina všeobecného vzorca VII sa nechá reagovať so zlúčeninou všeobecného vzorca $\text{R}^{19}\text{SO}_2\text{Cl}$ za prítomnosti akceptora kyseliny vo vhodnom rozpúšťadle za vzniku zlúčeniny všeobecného vzorca IVa. Deprotekciou zlúčeniny všeobecného vzorca IVa uskutočňovanou za podobných podmienok, aké sú opísané v súvislosti s deprotekčným stupňom spôsobu podľa schémy 1 sa získa zlúčenina všeobecného vzorca Ia.

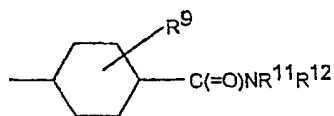
S c h é m a 2



Spôsobu deprotektie aminoskej skupiny sú závislé na chrániacej skupine. Príklady vhodnej metodológie zavádzania a odstraňovania ochrany je možné nájsť v publikácii "Protective groups in Organic synthesis", T. W. Greene a P. G. M. Wutz. Napríklad keď Prot^2 predstavuje benzoyloxykarbonylskupinu, deprotektčné podmienky zahŕňajú reakciu zlúčeniny všeobecného vzorca V s palládiom na uhlíku (10%) v etanole uskutočňovanú pri teplote miestnosti počas 18 hodín.

V prednostnom uskutočnení sa zlúčeniny všeobecného vzorca IVa pripravujú tak, že sa zlúčenina všeobecného vzorca VII nechá reagovať so zlúčeninou všeobecného vzorca $\text{R}^{19}\text{SO}_2\text{Cl}$ (1 ekv.) za prítomnosti trietylaminu (1,5 až 2,5 ekv.) v dichlórmetáne pri teplote miestnosti počas 2 až 3 dní.

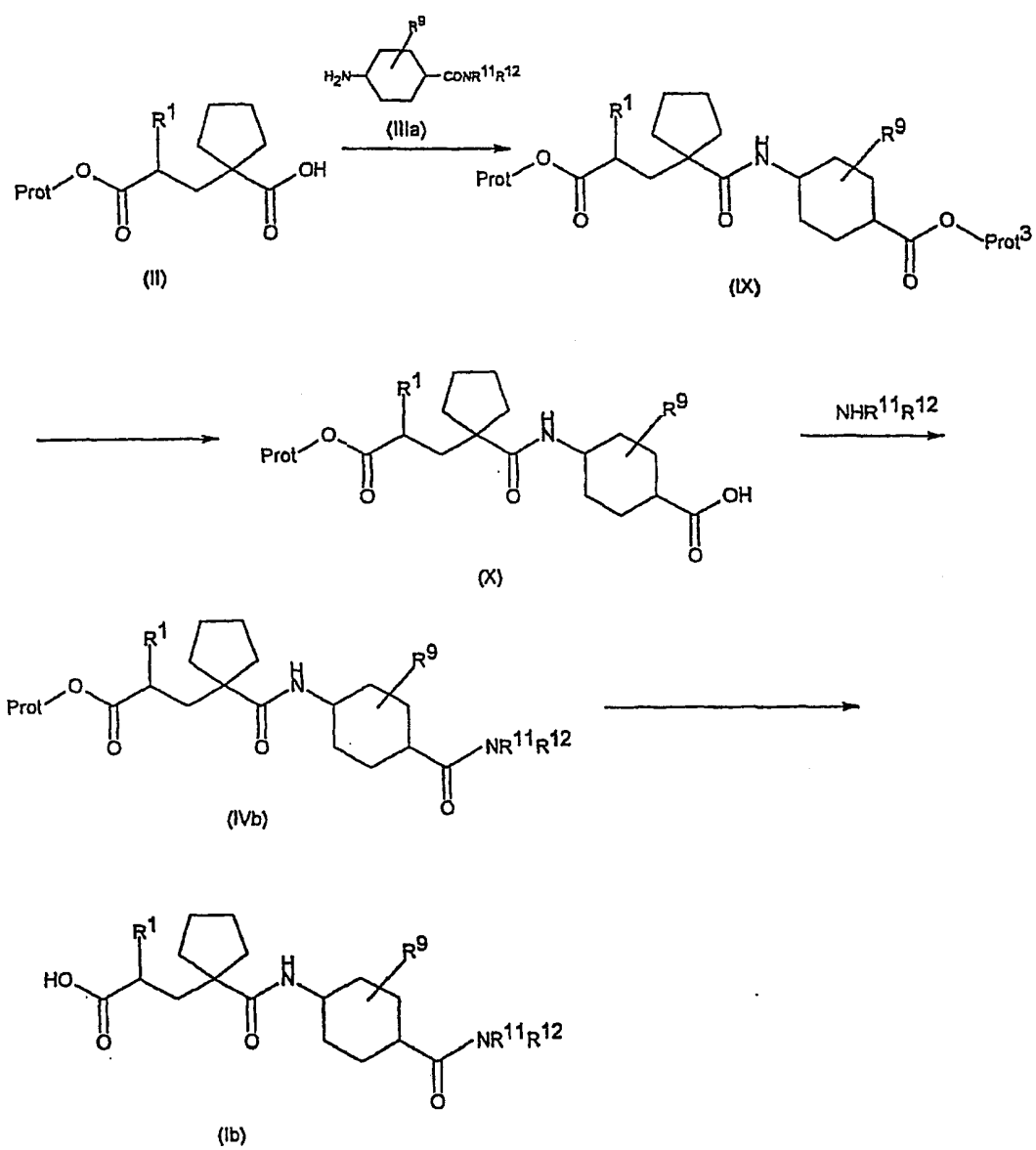
Zlúčeniny všeobecného vzorca Ib, to je zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde n predstavuje číslo 0 a Y predstavuje skupinu vzorca



je možné pripravovať spôsobom znázorneným v schéme 3. Zlúčenina všeobecného vzorca II sa nechá reagovať so zlúčeninou všeobecného vzorca IIIa za podobných podmienok, aké sa používajú v stupni kopulácie kyseliny s aminom pri spôsobe podľa schémy 1, čím sa získa zlúčenina všeobecného vzorca IX, kde $Prot^3$ predstavuje chrániacu skupinu, ktorú je za prítomnosti chrániacej skupiny Prot možné selektívne odstrániť. Ako prednostné chrániace skupiny $Prot^3$ je možné uviesť skupiny esterov labilných voči pôsobeniu bázou. Reakciou zlúčeniny všeobecného vzorca IX za bázických podmienok sa získa zlúčenina všeobecného vzorca X. Zlúčenina všeobecného vzorca X sa nechá reagovať so zlúčeninou všeobecného vzorca $NHR^{11}R^{12}$ za podobných podmienok, aké sa používajú v stupni kopulácie kyseliny s aminom pri spôsobe podľa schémy 1, čím sa získa zlúčenina všeobecného vzorca IVb. Deprotekciu zlúčeniny všeobecného vzorca IVb je možné uskutočňovať za podobných podmienok, aké sa používajú v stupni deprotektie spôsobu podľa schémy 1, čím sa získa zlúčenina všeobecného vzorca Ib.

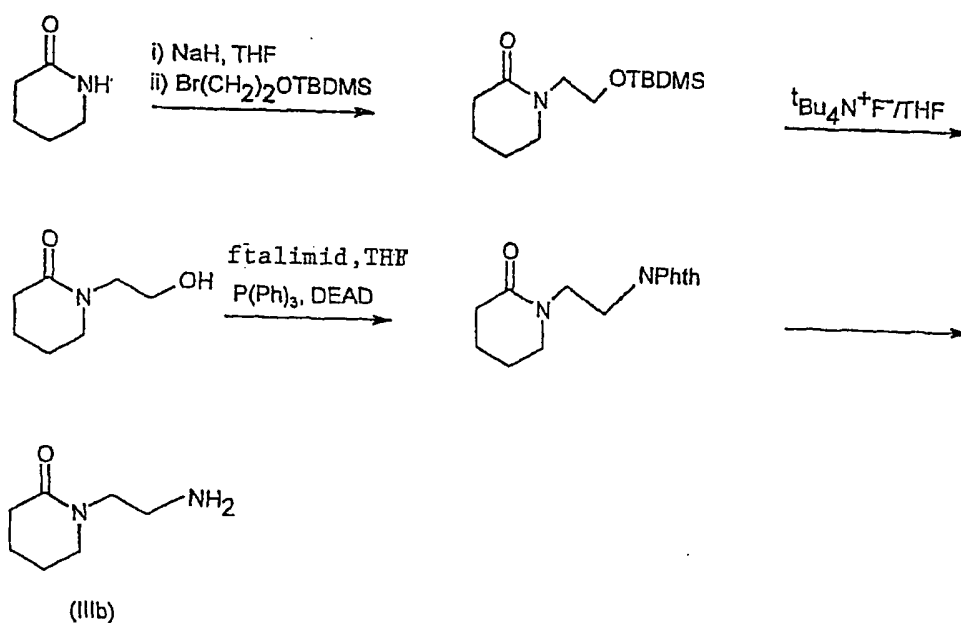
Ako prednostné podmienky na odstraňovanie chrániacej skupiny $Prot^3$ zo zlúčenín všeobecného vzorca IVb je možné uviesť reakciu zlúčeniny všeobecného vzorca IVb s hydroxidom sodným (1M) v metanole uskutočňovanú pri teplote miestnosti počas 22 hodín.

S c h é m a 3



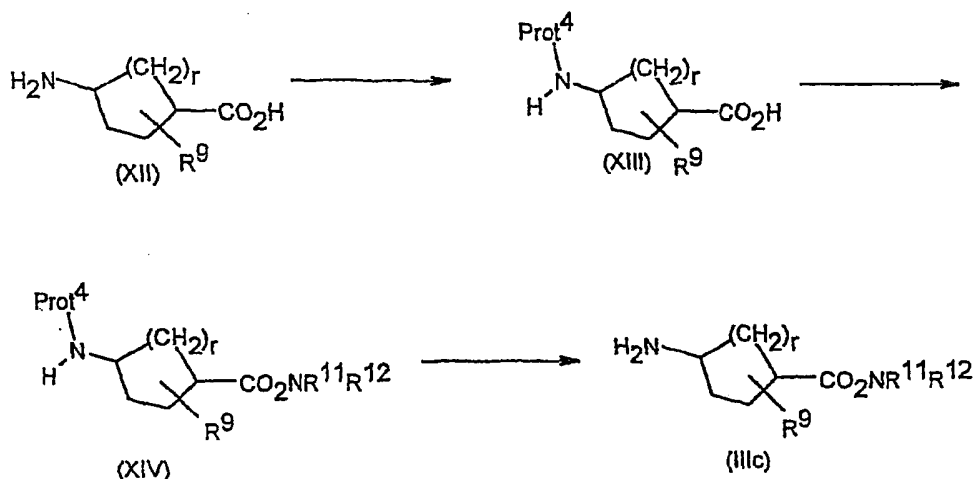
Zlúčeniny všeobecného vzorca IIIb, to je zlúčeniny všeobecného vzorca III, kde n predstavuje číslo 2 a Y predstavuje 2-oxopiperidínoskupinu, je možné pripravovať spôsobom znázorneným v schéme 4.

S c h é m a 4



Zlúčeniny všeobecného vzorca IIIc, kde r predstavuje číslo 1 alebo 2, je možné pripravovať spôsobom znázorneným v schéme 5. Zlúčeniny všeobecného vzorca XII sa na aminosom zvyšku chránia vhodnou chrániacou skupinou Prot⁴ za vzniku zlúčenín všeobecného vzorca XIII. Ako prednostnú chrániacu skupinu je možné uviesť terc-butyloxykarbonylskupinu. Zlúčenina všeobecného vzorca XIII sa za typických podmienok na kopuláciu kyseliny s aminosom nechá reagovať so zlúčeninou všeobecného vzorca $\text{NHR}^{11}\text{R}^{12}$ za vzniku zlúčeniny všeobecného vzorca XIV, z ktorej sa deprotekciami získa zlúčenina všeobecného vzorca IIIc.

S c h é m a 5



Ako typické podmienky na zavádzanie terc-butyloxykarbonylovej chrániacej skupiny je možné uviesť reakciu zlúčeniny všeobecného vzorca XII s (terc-butyloxykarbonyl)₂O v dioxáne a 2M hydroxide sodnom uskutočňovanú pri teplote miestnosti počas 18 hodín.

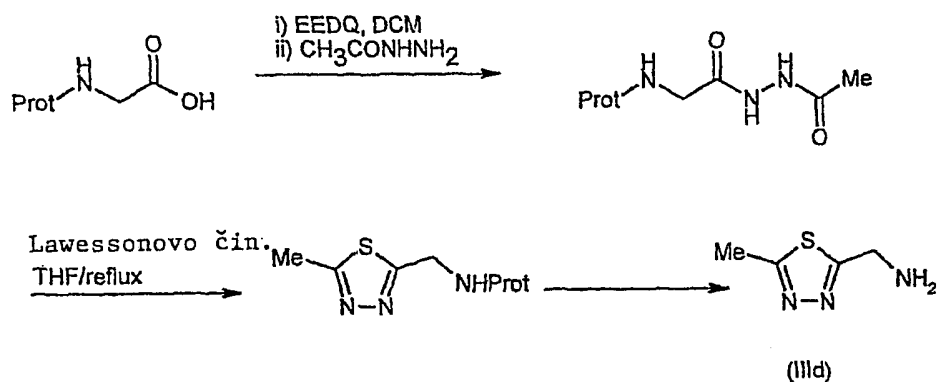
Ako typické podmienky na kopuláciu kyseliny s aminosom je možné uviesť reakciu zlúčenín všeobecného vzorca III a $\text{NHR}^{11}\text{R}^{12}$ za použitia benzotriazol-1-yloxytris(pyrrolidino)fosfóniumhexafluórfosfátu (PYBOP), hydrátu 1-hydroxybenzotriazolu (HOBT), Hunigovej bázy, amínu (napríklad trietylaminu) v dimetylformamide, uskutočňovanú pri teplote miestnosti počas 2 hodín. Alternatívne je reakciu zlúčeniny všeobecného vzorca XIII a $\text{NHR}^{11}\text{R}^{12}$ možné uskutočňovať za použitia hydrochloridu 1-(3-dimetyl-aminopropyl)-3-etylkarbodiimidu, HOBT, N-metylmorfolínu (NMM) v dimetylformamide počas 18 hodín pri teplote miestnosti.

Ako typické podmienky na deprotekciiu v prípade, že Prot^4 predstavuje terc-butyloxykarbonylskupinu, je možné uviesť

reakciu zlúčeniny všeobecného vzorca XIV s kyselinou chlór vodíkovou alebo kyselinou trifluóroctovou v dichlórmetáne uskutočňovanú pri teplote miestnosti počas 2 až 4 hodín.

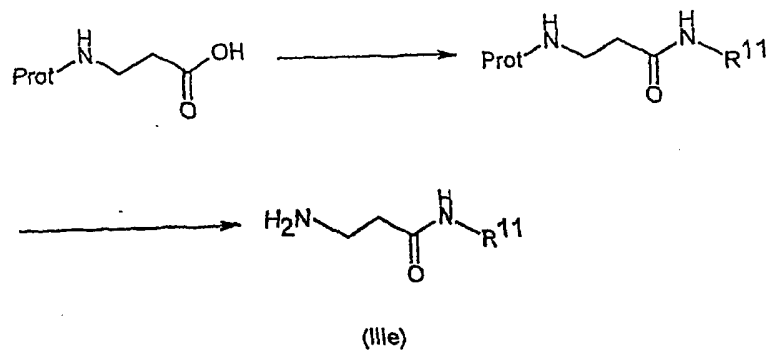
Zlúčeniny všeobecného vzorca IIId je možné pripravovať spôsobom znázorneným v reakčnej schéme 6. Chrániacou skupinou je prednostne terc-butyloxykarbonylskupina, ktorú je možné odstraňovať za štandardných podmienok opísaných vyššie.

S c h é m a 6



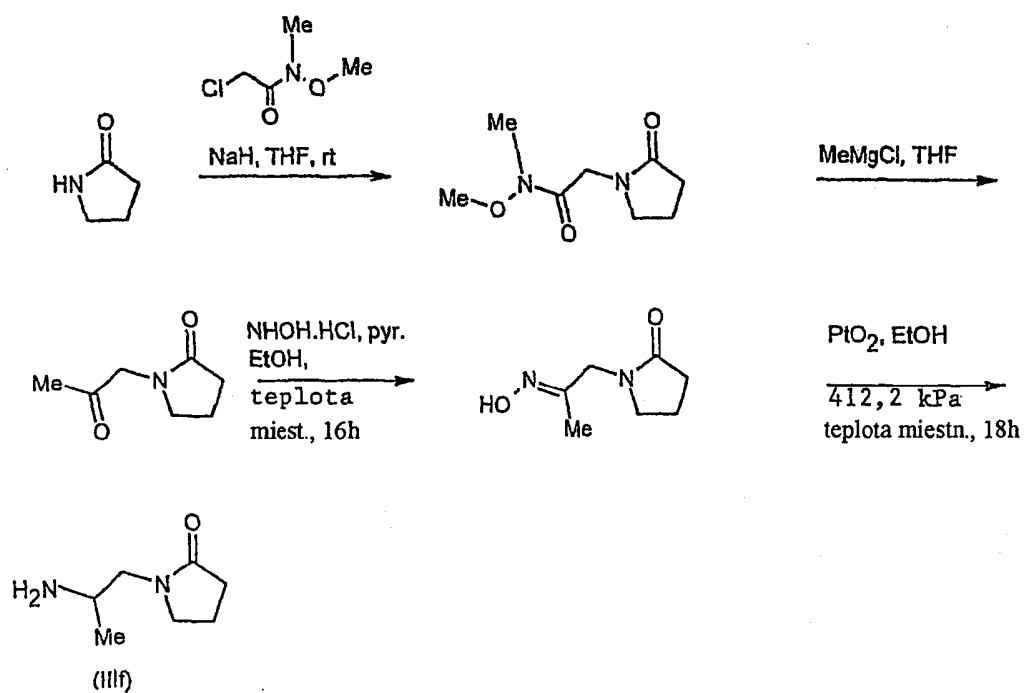
Zlúčeniny všeobecného vzorca IIIe je možné pripravovať spôsobom znázorneným v schéme 7 za použitia štandardných podmienok kopulačnej reakcie kyseliny s aminorom opísaných vyššie. Chrániacou skupinou je prednostne benzyloxykarbonylskupina, ktorú je možné odstraňovať za štandardných podmienok, typicky za použitia palládia na uhlíku (5 až 10%) v etanole pri teplote miestnosti za tlaku 343,5 kPa počas 4 hodín.

S c h é m a 7



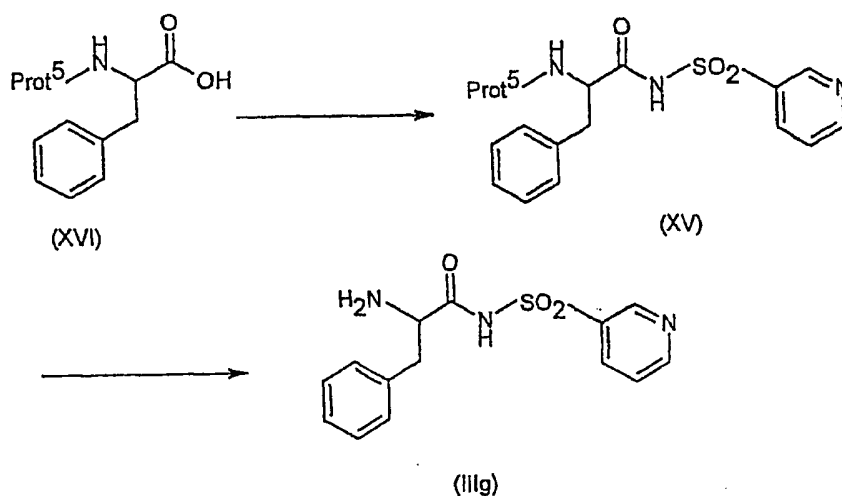
Zlúčeniny všeobecného vzorca IIIf je možné pripravovať spôsobom znázorneným v schéme 8.

S c h é m a 8



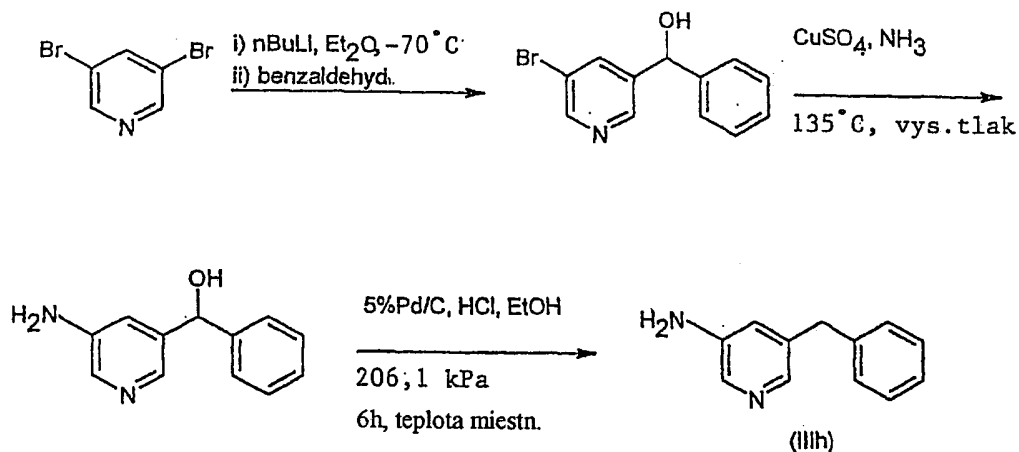
Zlúčeniny všeobecného vzorca IIIg je možné pripravovať vo dvoch stupňoch spôsobom znázorneným v schéme 9. V prvom stupni je možné pripraviť zlúčeninu všeobecného vzorca XV zo zlúčeniny všeobecného vzorca XVI za použitia štandardných podmienok kopulácie kyseliny s aminos, ktoré sú podobné ako podmienky kopulácie kyseliny s aminos opísané v spôsobe podľa schémy 1. Prot⁵ predstavuje vhodnú odstupujúcu skupinu, prednostne terc-butoxykarbonylskupinu. V druhom stupni sa odstráni chrániaca skupina Prog⁵. Keď Prot⁵ predstavuje terc-butoxykarbonylskupinu, prednostné reakčné podmienky zahŕňajú pôsobenie kyseliny chlór vodíkovej v zmesi dietyléteru a etylacetátu počas 18 hodín pri teplote miestnosti.

S c h é m a 9



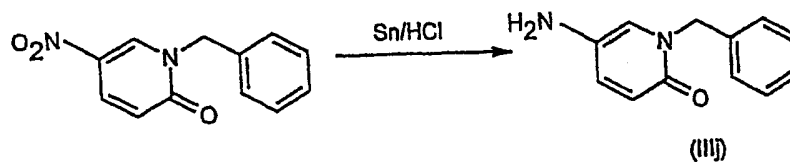
Zlúčeniny všeobecného vzorca IIIh je možné pripravovať v troch stupňoch podľa schémy 10.

S c h é m a 1 0



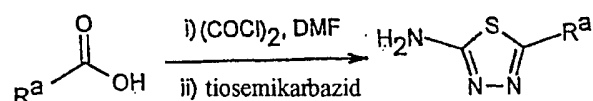
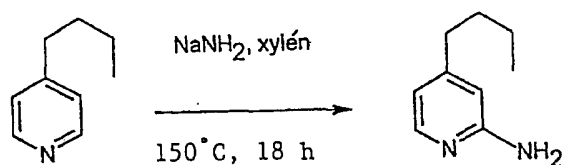
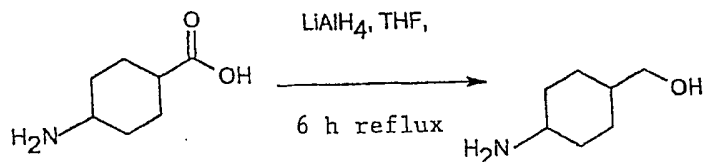
Zlúčeniny všeobecného vzorca IIIj je možné pripravovať redukciou nitroskupiny spôsobom znázorneným v reakčnej schéme 11.

S c h é m a 1 1



Ďalšie spôsoby výroby zlúčenín všeobecného vzorca III sú znázornené v schéme 12, kde R^a predstavuje C_{1-6} alkylskupinu alebo alkoxy skupinu.

S c h é m a 1 2

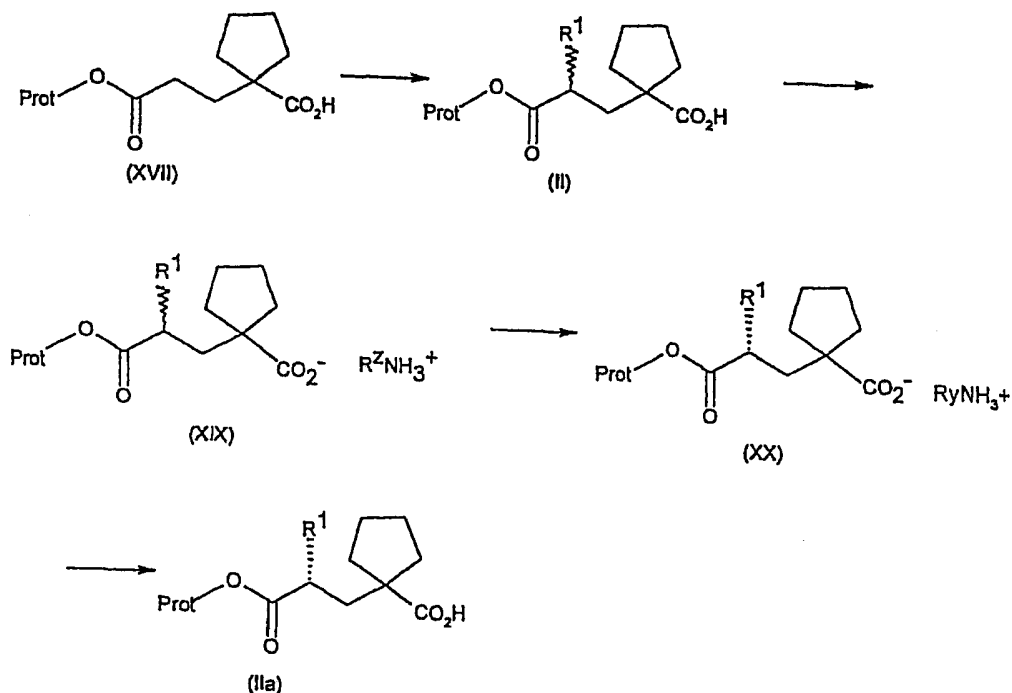


Zlúčeniny všeobecného vzorca I obsahujú centrum chiralít na uhlíku pripojenom k R^1 . Jednotlivé enantioméry zlúčenín všeobecného vzorca I je možné získať rôznymi spôsobmi, ktoré sú odborníkom v tomto odbore známe, ako je príprava zo zodpovedajúcich opticky čistých medziproduktov alebo optické štiepenie. Prednostným spôsobom optického štiepenia je príprava cez (+)-pseudoefedrínovú soľ (pozri preparatívny postup 2). Alternatívne je možné pripravovať chirálne zlúčeniny všeobecného vzorca I z chirálnych zlúčenín všeobecného vzorca II ďalej opísaným spôsobom.

Rad zlúčenín všeobecného vzorca II je známy (pozri EP274234 B1 a WO 91/13054). Iné zlúčeniny všeobecného vzorca II je možné pripravovať podobným spôsobom.

Chirálné zlúčeniny všeobecného vzorca IIa je možné pripravovať zo zlúčenín všeobecného vzorca XVI znázornenom v schéme 13.

S c h é m a 1 3



Zlúčeniny všeobecného vzorca II je možné pripravovať tak, že sa zlúčenina všeobecného vzorca XVII nechá reagovať so zlúčeninou všeobecného vzorca $\text{R}^1\text{-X}^2$ (kde X^2 predstavuje halogén) za silne bázických podmienok prípadne za prítomnosti prídavného činidla v aprotickom rozpúšťadle.

Pri typických reakčných podmienkach sa najprv nechá reagovať zlúčenina všeobecného vzorca XVII s aspoň dvojnásobným nadbytkom silnej bázy (napríklad diizopropylamidu litného, hexametyldisilazidu litného, sodného alebo draselného, alkyl-lítia, alkylmagnézia alebo fosfazánovej bázy) v aprotickom rozpúšťadle (napríklad

tetrahydrofuráne, dietyléteri, hexáne, heptáne alebo etylbenzéne alebo zmesi týchto rozpúšťadiel), prípadne za použitia prídavného činidla (napríklad TMEDA, DMPU alebo HMPA) pri teplote -78°C až teplote miestnosti a potom sa pri -78°C pridá zlúčenina vzorca $\text{R}^1\text{-X}^2$ (napríklad allylbromid, propylbromid alebo metyljodid) a vzniknutá zmes sa cez noc mieša, pričom sa zahreje na teplotu miestnosti. Po vhodnom spracovaní sa získa zlúčenina všeobecného vzorca II.

Za prednostných reakčných podmienok prípravy zlúčenín všeobecného vzorca II, kde R^1 predstavuje allylskupinu, sa zlúčenina všeobecného vzorca XVII (1 mol. ekv.) nechá reagovať s diizopropylamidom litným (2,3 ekv.) v zmesi tetrahydrofuránu, n-heptánu a etylbenzénu 4 hodiny pri -10°C . Po prídavku allylbromidu (1,2 ekv.) pri -10°C sa reakčná zmes 2 hodiny mieša pri -10°C , potom počas 4 hodín nechá zahriať na 20°C a pri 20°C mieša ďalších 15 hodín.

Zlúčeniny všeobecného vzorca IIb je možné získať priamo štiepením zlúčenín všeobecného vzorca II. Prednosť sa ale dáva príprave cez amínovú soľ všeobecného vzorca XIX (to je $\text{R}^2\text{-NH}_3^+$), po ktorej nasleduje prečistenie prekryštalizovaním.

Ako typické soli je možné uviesť trietylaminové, izopropylaminové, trietanolaminové alebo cyklohexylaminové soli. Za typických reakčných podmienok sa zlúčenina všeobecného vzorca II nechá reagovať s požadovaným amínom vo vhodnom rozpúšťadle (napríklad hexáne, heptáne alebo toluéne) pri zvýšenej teplote, ktorá sa počas 24 hodín zníži, aby sa indukovala kryštalizácia, a produkt sa prekryštalizuje z rovnakého alebo iného rozpúšťadla, prípadne pri zvýšenej teplote.

Prednostnou soľou je cyklohexylamínová soľ. Za prednostných reakčných podmienok sa zlúčenina všeobecného vzorca II (1 mol. ekv.) nechá reagovať s cyklohexylamínom (1 ekv.) pri 20°C v heptáne a produkt sa prekryštalizuje z etylacetátu pri teplote 70°C, ktorá sa počas 2 hodín zníži na 50°C, aby sa indukovala kryštalizácia. Zmes sa potom počas 2 hodín ochladí na 20°C a 0,5 hodiny mieša.

Zlúčeniny všeobecného vzorca XX (kde $R^YNH_3^+$ predstavuje chirálny kation) je možné pripravovať zo zlúčenín všeobecného vzorca XIX okyslením vo vhodnom rozpúšťadlovom systéme, ktorý prípadne obsahuje vodu, za použitia silnej kyseliny a vzniknutá karboxylová kyselina sa potom podrobí klasickému optickému štiepeniu.

Za typických reakčných podmienok sa zlúčenina všeobecného vzorca XX v dvojfázovom systéme obsahujúcom vodu a nemiešateľné organické rozpúšťadlo (napríklad heptán, toluén, etylacetát, dietyléter alebo dichlórmetán) nechá reagovať so silnou kyselinou (napríklad kyselinou chlór vodíkovou, kyselinou sírovou, kyselinou p-toluénsulfónovou, kyselinou trifluóroctovou alebo kyselinou fosforečnou) pri teplote 0 až 100°C za vzniku voľnej karboxylovej kyseliny, na ktorú sa pôsobí neracemickou chirálnou aminosou bázou (napríklad α -metyl-benzylamínom, pseudoefedrínom, efedrínom, norefedrínom, alkaloidom chinovníka, esterom aminosyseliny, aminoalkoholom, ako 2-pyrrolidinmetanolom alebo chinuklidin-3-olom) prípadne v rozpúšťadle (napríklad esteri, alkány, aromatickom uhľovodíku, halogénalkány, éteri alebo alkohole) pri teplote 0 až 150°C, čím sa získa surová soľ. Táto soľ sa potom raz alebo viackrát prekryštalizuje z rovnakého alebo iného

rozpúšťadla pri teplote 0 až 150°C, čím sa získa chirálna soľ.

Prednostnou soľou je pseudoefedrínová soľ. Za prednostných reakčných podmienok sa na suspenziu zlúčeniny všeobecného vzorca XX v zmesi vody a n-heptánu pri teplote miestnosti pôsobí zriedenou kyselinou chlór vodíkovou, dokiaľ pH vodnej fázy nedosiahne hodnotu 3, čím sa získa voľná kyselina. Táto karboxylová kyselina sa potom nechá pri 80°C reagovať s (1S,2S)-(+) -pseudoefedrínom (1 ekv.) v n-heptáne. Reakčná zmes sa počas 2 hodín ochladí na 45°C, aby sa indukovala kryštalizácia, potom počas 2 hodín ochladí na 20°C a 4 hodiny mieša. Potom nasleduje prekryštalizovanie z n-heptánu pri 80°C, potom ochladenie počas 2 hodín na 60°C, aby sa indukovala kryštalizácia, a ochladenie na 20°C počas 2 hodín a 1,5hodinové miešanie.

Zlúčeniny všeobecného vzorca IIa je možné pripravovať zo zlúčenín všeobecného vzorca XX okyslením vo vhodnom rozpúšťadlovom systéme, ktorý prípadne obsahuje vodu, za použitia silnej kyseliny.

Typické reakčné podmienky zahŕňajú reakciu zlúčeniny všeobecného vzorca XX v dvojfázovom systéme obsahujúcom vodu a nemiešateľné organické rozpúšťadlo (napríklad heptán, toluén, etylacetát, dietyléter alebo dichlórmetán) a silné kyseliny (napríklad kyseliny chlór vodíkové, kyseliny sírové, kyseliny p-toluénsulfónové, kyseliny trifluóroctové alebo kyseliny fosforečné) pri teplote od 0 do 100°C, čím sa získa zlúčenina všeobecného vzorca IIa.

Za prednostných podmienok sa na suspenziu zlúčeniny všeobecného vzorca XX v zmesi vody a n-heptánu pôsobí

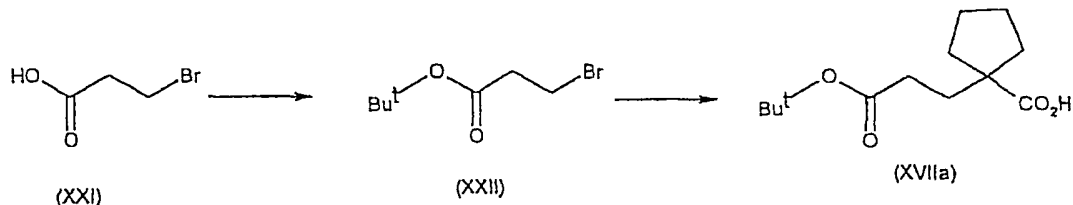
zriedenou kyselinou chlór vodíkovou pri teplote miestnosti, dokiaľ pH vodnej fázy nedosiahne hodnotu 3, čím sa získa voľná kyselina.

Zlúčeniny všeobecného vzorca IIa je možné pripravovať hydrogenáciou zodpovedajúcej zlúčeniny, kde R^1 je nenasýtený. Typické reakčné podmienky zahŕňajú miešanie pod atmosférou vodíka vo vhodnom rozpúšťadle za prítomnosti katalyzátora (napríklad palládia, platiny, niklu, irídia, ródia alebo ruténia prípadne naadsorbovaného na vhodnom nosiči, ako uhlíku, alumíne, sírane bárnatom, uhličitan vápenatom alebo vo forme soli, ako hydroxidu palladnaného alebo zmesi solí, ako H_2PtCl_6 a $SnCl_2 \cdot 2H_2O$, alebo vo forme komplexu, ako je Wilkinsonov katalyzátor, Crabtreeov katalyzátor, $Co_2(CO)_8$, $RhH(PPh_3)_4$ alebo $[Co(CN)_6]^{3-}$) pri teplote v rozmedzí od teploty miestnosti do $150^\circ C$ a za tlaku vodíka 206,1 až 1030,5 kPa.

Pri prednostnom spôsobe je možné zlúčeniny všeobecného vzorca IIa, kde R^1 predstavuje propylskupinu, pripravovať hydrogenáciou zodpovedajúcej allylovej zlúčeniny. Prednostné reakčné podmienky zahŕňajú miešanie etanolického roztoku nenasýtenej karboxylovej kyseliny pod atmosférou vodíka za prítomnosti 9 % hmotn. 5% palládia na uhlíku pri teplote miestnosti počas 24 hodín.

Zlúčeniny vzorca XVIIa, to je zlúčeniny všeobecného vzorca XVII, kde Prot predstavuje terc-butylskupinu, je možné pripravovať vo dvoch stupňoch zo zlúčenín vzorca XXI dostupných na trhu spôsobom znázorneným v schéme 14.

S c h é m a 1 4



Zlúčeniny vzorca XXII je možné pripravovať zo zlúčenín vzorca XXI tak, že sa zlúčenina vzorca XXI uvedie do styku so zdrojom terc-butylového katiónu alebo terc-butoxidom za použitia vhodného katalyzátora a/alebo dehydratačného činidla vo vhodnom bezvodom rozpúšťadle prípadne pri zvýšenej teplote, alebo aktiváciou karboxylovej kyseliny a následnou reakciou s terc-butanolom.

Typické reakčné podmienky zahŕňajú reakciu zlúčeniny vzorca XXI s katalytickými množstvami kyseliny (napríklad kyseliny fosforečnej, kyseliny chlór vodíkovej, kyseliny sírovej, kyseliny dusičnej, kyseliny p-toluénsulfónovej alebo kyseliny trifluóroctovej) za prítomnosti izobutylénu, terc-butanolu, terc-butylhalogenidu alebo terc-butyléteru vo vhodnom rozpúšťadle (napríklad dichlórmetáne, tetrahydrofuráne alebo toluéne) pri teplote -20 až 150°C počas až 48 hodín.

Alternatívne reakčné podmienky zahŕňajú reakciu zlúčeniny vzorca XXI s kombináciou terciárnej amínovej bázy (napríklad tri-etylaminu, Hunigovej bázy, pyridínu alebo NMM) a dehydratačného činidla (napríklad dicyklohexylkarbodiimidu, alkylchlórformiátu, fenyldichlórfosfátu, 2-chlór-1,3,5-trinitrobenzénu, di-2-pyridylkarbonátu, 1,1'-karbonyldiimidazolu, (trimetyl-silyl)etoxyacetylénu, N,N'-

karbonylbis(3-metylimidazolium)-trifluórmétánsulfonátu alebo azodikarboxylátu) a trifenyl-fosfinu a následný prídavok terc-butanolu, prípadne za prítomnosti katalyzátora, ako 4-dimetylamínopyridínu vo vhodnom rozpúšťadle (napríklad dichlórmetáne, tetrahydrofuráne alebo toluéne) pri teplote -20 až 150°C počas až 48 hodín.

Ešte ďalšie reakčné podmienky zahŕňajú prevedenie zlúčeniny vzorca XXI na chlorid kyseliny za použitia tionylchloridu, oxalylchloridu alebo Ghosezovho činidla prípadne za prítomnosti terciárnej aminoskej bázy (napríklad trietylamínu, Hunigovej bázy, pyridínu alebo NMM) a následné pôsobenie terc-butanolu, prípadne za prítomnosti katalyzátora, ako 4-di-metylamínopyridínu vo vhodnom rozpúšťadle (napríklad di-chlórmetáne, tetrahydrofuráne alebo toluéne) pri teplote -20 až 150°C počas až 48 hodín.

Prednostné reakčné podmienky zahŕňajú reakciu zlúčeniny vzorca XXI s izobutylénom (5 ekv.), koncentrovanou kyselinou sírovou (0,15 ekv.) a terc-butanolom (0,16 ekv.) v dichlórmetáne za miešania pri -10 až 25°C počas 24 hodín.

Zlúčeniny vzorca XVIIa je možné pripravovať zo zlúčenín vzorca XXII pôsobením cyklopentánkarboxylovej kyseliny za silno bázičiekych podmienok v aprotickom rozpúšťadle, prípadne za prítomnosti prídavného činidla.

Typické podmienky zahŕňajú reakciu cyklopentánkarboxylovej kyseliny s aspoň dvojnásobným nadbytkom silnej bázy (napríklad diizopropylamidu litného, hexametyldisilazidu litného, sodného alebo draselného, alkyllítia, alkalmagnézia alebo fosfazénovej bázy) v aprotickom rozpúšťadle (napríklad tetrahydrofuráne,

dietyléteri, hexáne, heptáne alebo etylbenzéne alebo ich zmesi) prípadne za prítomnosti prídavného činidla (napríklad TMEDA, DMPU alebo HMPA) pri teplote -78 až 50°C počas až 24 hodín a následný prídavok zlúčeniny vzorca XXII a reakciu uskutočňovanú pri -20°C počas až 24 hodín a vhodné spracovanie.

Prednostné reakčné podmienky zahŕňajú reakciu cyklopentán-karboxylovej kyseliny s diizopropylamidom litným (2,15 ekv.) v zmesi tetrahydrofuránu, n-heptánu a etylbenzénu uskutočňovanú pri -15°C po dobu 3 hodín, následnú reakciu s terc-butyl-3-brómpropionátom (1,06 ekv.) v tetrahydrofuráne uskutočňovanú pri -15°C počas 15 hodín a následné zahriatie na teplotu miestnosti.

Zlúčeniny všeobecného vzorca II sú dostupné na trhu, známe z doterajšieho stavu techniky alebo ich môžeme pripravovať zo známych zlúčenín za použitia spôsobov, ktoré sú známe alebo ktoré sú opísané v tomto dokumente (pozri príklady uskutočnenia a preparatívne postupy).

Farmaceuticky vhodné soli zlúčenín všeobecného vzorca I je možné jednoducho pripravovať tak, že sa zmieša roztok zlúčenín všeobecného vzorca I a podľa potreby požadovanej kyseliny alebo bázy. Soľ je z roztoku možné vyzrážať a zhromaždiť filtráciou alebo ju je možné izolovať odparením rozpúšťadla.

Zlúčeniny podľa vynálezu môžeme pri liečení FSD kombinovať s jedným alebo viacerými činidlami, ktorými sú

1) jeden alebo viacero z prirodzených alebo syntetických prostaglandínov alebo ich esterov; ako vhodné prostaglandíny

je možné uviesť zlúčeniny ako alprostadil, prostaglandín E₁, prostaglandín E₀, 13,14-dihydroprostaglandín E₁, prostaglandín E₂, eprostinol, prirodzené, syntetické a polosyntetické prostaglandíny a ich deriváty, ako sú zlúčeniny opísané vo WO00/033825 a/alebo US 6 037 346, vydanom 14. marca 2000, ktoré sú citované náhradou za prenesenie ich obsahu do tohto textu, PGE₀, PGE₁, PGA₁, PGB₁, PGF₁ α, 19-hydroxy PGA₁, 19-hydroxy-PGB₁, PGE₂, PGB₂, 19-hydroxy-PGA₂, 19-hydroxy-PGB₂, PGE₃α, karboprost trometamín, dinoprost trometamín, dinoprostón, lipoprost, gemeprost, metenoprost, sulprostun, tiaprost a moxisylát;

2) jedna alebo viacero z látok, ktoré sú antagonistami α-adrenergického receptora, tiež známe ako α-adrenoceptory alebo α-receptory alebo α-blokátory; ako vhodné zlúčeniny tohto typu je možné uviesť blokátory α-adrenergického receptora, ako sú opísané v PCT prihláške WO99/30697, zverejnenej 14. júna 1998, ktorá je citovaná náhradou za prenesenie jej obsahu týkajúceho sa α-adrenergických receptorov do tohto textu, ako sú selektívne blokátory α₁-adrenoceptora alebo α₂-adrenoceptora a neselektívne blokátory adrenoceptora, ako je fentolamín, fentolamín mesylát, trazodón, alfuzosín, indoramín, naftopidil, tamsulosín, dapiprazol, fenoxýbenzamín, idazoxán, efaraxán, yohimbín, alkaloid rauwolfie, Recordati 15/2739, SNAP 1069, SNAP 5089, RS17053, SL 89.0591, doxazosín, terazosín, abanokvil a prazosín; α₂-blokátory z US 6 037 346 (14. marca 2003) dibenarnín, tolazolín, trimazosín a dibenarnín; α-adrenergické receptory opísané v US patentoch 4 188 390; 4 026 894; 3 511 836; 4 315 007; 3 527 761; 3 997 666; 2 503 059; 4 703 063; 3 381 009; 4 252 721 a 2 599 000, ktoré sú citované náhradou za prenesenie ich obsahu do tohto textu; blokátory α₂-adrenenoceptorov, ako clonidín, papaverín,

papaverín hydrochlorid, prípadne za prítomnosti kariotonického činidla, ako pírxaínu);

(3) jedna alebo viacero z NO-donorných (NO-agonistických) zlúčenín (ako vhodné NO-donorné zlúčeniny na použitie podľa tohto vynálezu je možné uviesť organické nitráty, ako mono-, di- alebo trinitráty alebo estery kyseliny dusičnej, ako je glyceryl trinitrát (tiež známe ako nitroglycerín), izosorbid-5-mono-nitrát, izosorbid dinitrát, pentaerytritol tetranitrát, erytrityl tetranitrát, nitroprusid sodný (SNP), 3-morfolínosydnonimín molsidomín, S-nitrózo-N-acetylpeniciliamín (SNAP), S-nitrózo-N-glutatión (SNO-GLU), N-hydroxy-L-arginín, amylnitrát, linsidomín, linsidomín chlórhydrát, (SIN-1) S-nitrózo-N-cysteín), diazénium dioláty, (NONOáty), 1,5-pentándinitrát, L-arginén, žen-šen, plody jujuby (*Ziziphus*), molsidomín, Re-2047, nitrosylované deriváty maxisylytu, ako NMI-678-11 a NMI-937, opísané v PCT prihláške zverejnenej ako WO/0012075);

4) jedna alebo viacero z látok, ktoré otvárajú draslíkový kanál (ako vhodné látky otvárajúce draslíkový kanál je možné uviesť nikorandil, kromokalím, levkromakalín, lemakalím, pinacidil, kľiazoxid, minoxidil, charybdotoxín, glyburid, 4-aminipyridín, chlorid barnatý);

5) jedno alebo viacero z dopamínergických činidiel, ako sú prednostne apomorfín a selektívni D_2 , D_3 alebo D_2/D_3 agonisti, ako pramipexol (ako sú nárokované vo WO00/23056), PNU95666 (ako je nárokován vo WO00/40226);

6) jedno alebo viacero z vasodilatačných činidiel (ako vasodilatačné činidlá vhodné z hľadiska tohto vynálezu je

možné uviesť nimodepín, pinacidil, cyklandelát, izoxsuprín, chlórprumazín, haloperidol, Rec 15/2739, trazodón);

7) jeden alebo viacero z agonistov tromboxánu A₂;

8) jedno alebo viacero z CNS aktívnych činidiel;

9) jeden alebo viacero z alkaloidov námela (ako vhodné alkaloidy námela je možné uviesť látky opísané v US patente 6 037 346, vydanom 14. 3. 2000, ako je acetergamín, brazergolín, brómergurid, cianergolín, delorgotril, disulergín, ergonovín maleát, ergotamín tartrát, etisulergín, lergotril, lysergid, mesulergín, metergolín, metergotamín, cinergolín, pergolid, propisergid, protergurid a tergurid);

10) jedna alebo viacero zo zlúčenín, ktoré modulujú pôsobenie atriálneho natriuretického faktora (tiež známeho ako atriálny natriuretický peptid), natriuretických faktorov typu B a C, ako sú inhibítory neutrálnej endopeptidázy;

11) jedna alebo viacero zo zlúčenín, ktoré inhibujú enzým konvertujúci angiotensín, ako enapril, a kombinovaných inhibítorov enzýmu konvertujúceho angiotensín a neutrálnej endopeptidázy, ako je omapatrilát;

12) jeden alebo viacero z antagonistov receptora angiotensínu, ako je losartán;

13) jeden alebo viacero zo substrátov pre NO-syntázu, ako je L-arginín;

14) jeden alebo viacero z blokátorov vápnikového kanálu, ako je amlodipín;

15) jeden alebo viacero z antagonistov receptora endotelínu a inhibítorov enzýmu konvertujúceho endotelín;

16) jedno alebo viacero z činidiel znižujúcich cholesterol, ako sú statíny (napríklad atorvastatín/Lipitor®) a fibráty;

17) jedno alebo viacero z protidoštičkových a anti-trombotických činidiel, ako sú napríklad tPA, uPA, warfarín, hirudín a iné inhibítory trombínu, heparín, a inhibítory tromboplastinového aktivačného faktora;

18) jedno alebo viacero z činidiel zvyšujúcich citlivosť na inzulín, ako je rezulín, a hypoglykemických činidiel, ako je glypizid;

19) L-DOPA alebo karbidopa;

20) jeden alebo viacero z inhibítorov acetylcholinesterázy, ako je donezipil;

21) jedno alebo viacero zo steroidných alebo nesteroidných protizápalových činidiel;

22) jeden alebo viacero z modulátorov receptora estrogénu a/alebo agonistov estrogénu a/alebo antagonistov estrogénu, prednostne raloxifén alebo lasofoxifén, (-)-cis-6-fenyl-5-[4-(2-pyrrolidin-1-yloetoxy)fenyl]-5,6,7,8-tetrahydronaftylen-2-ol a jeho farmaceuticky vhodné soli, ktoré sú podrobne opísané vo WO 96/1656;

23) jeden alebo viacero z modulátorov kanabinoidných receptorov;

24) jeden alebo viacero z inhibítorov neuropeptidu Y (NPY), konkrétnejšie inhibítor NPY1 alebo NPY5, prednostne inhibítor NPY1, prednostne inhibítorov NPY (vrátane NPY1 a NPY5) s hodnotou IC_{50} menej ako 100nM, výhodnejšie menej ako 50nM (stanovenie, ktorým je možné identifikovať inhibítory NPY je opísané vo WO-A-98/52890, str. 96, r. 2 až 28);

25) jedno alebo viacero činidiel zo súboru zahŕňajúceho vasoaktívny intestinálny proteín (VIP), mimetiká VIP, analógy VIP, konkrétne sprostredkované jedným alebo viacerými subtypmi receptora VIP VPAC1, VPAC2 alebo PACAP (hypofyzárny peptid aktivujúci adenylát cyklázu), jeden alebo viacero z agonistov receptorov VIP a analógov VIP (napríklad Ro-125-1553) alebo fragmentov VIP, jeden alebo viacero z antagonistov α -adrenoceptora v kombinácii s VIP (napríklad Invicorp, Aviptadil);

26) jeden alebo viacero z agonistov alebo modulátorov receptora melanokortínu alebo zosilňovačov melanokortínu, ako sú melatonán II, PT-14, PT-141 alebo zlúčeniny nárokované vo WO-09964002, WO-00074679, WO-09955679, WO-00105401, WO-00058361, WO-00114879, WO-00113112, WO-09954358;

27) jeden alebo viacero z agonistov, antagonistov a modulátorov receptora serotonínu, konkrétnejšie agonistov, antagonistov alebo modulátorov receptorov 5HT1A (vrátane VML 670), 5HT2A, 5HT2C, 5HT3 a/alebo 5HT6, ako sú činidlá opísané vo WO-09902159, WO-00002550 a/alebo WO-00028993;

28) jedno alebo viacero z činidiel na substitúciu testosterónu (ako dehydroandrostendión), testosterón (Tostrelle) alebo testosterónový implantát,

29) jedno alebo viacero z činidiel na terapeutickú substitúciu estrogénu, estrogénu a medroxyprogesterónu alebo medroxyprogesterónacetátu (MPA) (to znamená V kombináciu) alebo estrogénu a metyltestosterónu (napríklad HRT, najmä Premarin, Cenestin, Oestrofeminal, Equin, Estrace, Estrofém, Elleste Solo, Estring, Estraderm, Estraderm TTS, Estraderm Matrix, Dermestril, Premphase, Prempro, Prempak, Premique, Estratest, Estratest HS, Tibolone);

30) jeden alebo viacero z modulátorov transportérov noradrenalínu, dopamínu a/alebo serotonínu, ako je bupropión, GW-320659;

31) jeden alebo viacero z agonistov a/alebo modulátorov purínergických receptorov;

32) jeden alebo viacero z antagonistov receptora neurokinínu (NK), ako sú antagonisti opísaní vo WO-09964008;

33) jeden alebo viacero z agonistov, antagonistov alebo modulátorov ópíoidného receptora, prednostne agonisti receptora ORL-1;

34) jeden alebo viacero z agonistov alebo modulátorov receptorov oxytocínu/vasopresínu, prednostne selektívnych agonistov alebo modulátorov oxytocínu;

35) jeden alebo viacero z inhibítorov PDE, konkrétnejšie inhibítorov PDE2, 3, 4, 5, 7 alebo 8, prednostne inhibítorov

PDE2 alebo PDE5, najvýhodnejšie inhibítorov PDE5 (pozri ďalej), pričom hodnota IC_{50} týchto inhibítorov proti zodpovedajúcemu enzýmu je menej ako 100nM. Ako inhibítory cGMP PDE5, ktoré sa hodia na použitie podľa tohto vynálezu je možné uviesť:

pyrazol[4,3-d]pyrimidin-7-óny opísané v EP-A-0463756; pyrazol-[4,3-d]pyrimidin-7-óny opísané v EP-A-0526004; pyrazol[4,3-d]-pyrimidin-7-óny opísané v medzinárodnej patentovej prihláške WO 93/06104; izoméne pyrazol[3,4-d]pyrimidin-4-óny opísané vo zverejnenej medzinárodnej patentovej prihláške WO 93/07149; chinazolín-4-óny opísané vo zverejnenej medzinárodnej patentovej prihláške WO 93/12095; pyrido[3,2-d]pyrimidin-4-óny opísané vo zverejnenej medzinárodnej patentovej prihláške WO 94/05661; purin-6-óny opísané vo zverejnenej medzinárodnej patentovej prihláške WO 94/00453; pyrazol[4,3-d]pyrimidin-7-óny opísané vo zverejnenej medzinárodnej patentovej prihláške WO 98/49166; pyrazol[4,3-d]pyrimidin-7-óny opísané vo zverejnenej medzinárodnej patentovej prihláške WO 99/54333; pyrazol [4,3d]-pyrimidin-4-óny opísané v EP-A-0995751; pyrazol [4,3-d]pyrimidin-7-óny opísané vo zverejnenej medzinárodnej patentovej prihláške WO 00/24745; pyrazol[4,3-d]pyrimidin-4-óny opísané v EP-A-0995750; zlúčeniny opísané vo zverejnenej medzinárodnej prihláške W095/19978; zlúčeniny opísané vo zverejnenej medzinárodnej prihláške WO 99/24433 a zlúčeniny opísané vo zverejnenej medzinárodnej prihláške WO 93/07124. Pyrazolo[4,3-d]-pyrimidin-7-óny opísané vo zverejnenej medzinárodnej prihláške WO 01/27112; pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-óny opísané vo zverejnenej medzinárodnej prihláške WO 01/27113; zlúčeniny opísané v EP-A-1092718 a zlúčeniny opísané v EP-A-1092719.

Ako ďalšie inhibítory PDE5, ktoré sú vhodné na použitie podľa vynálezu je možné uviesť 5-[2-etoxy-5-(4-metyl-1-piperazi-nylsulfonyl)fenyl]-1-metyl-3-n-propyl-1,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-ón (sildenafil) tiež známy ako 1-([3-(6,7-dihydro-1-metyl-7-oxo-3-propyl-1H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-5-yl)-4-etoxyfenyl]sulfonyl)-4-metyl-piperazín (pozri EP-A--0463756); 5-(2-etoxy-5-morfolínoacetyl-fenyl)-1-metyl-3-n-propyl-1,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-ón (pozri EP--A-0526004); 3-etyl-5-[5-(4-etyl-piperazin-1-ylsulfonyl)-2-n-propoxyfenyl]-2-(pyridin-2-yl)metyl-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-ón (pozri W098/49166); 3-etyl-5-[5-(4-etyl-piperazin-1-ylsulfonyl)-2-(2-metoxymetoxypyridin-3-yl)-2-(pyridin-2-yl)metyl-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-ón (pozri W099/54333); (+)-3-etyl-5-[5-(4-ethylpiperazin-1-ylsulfonyl)-2-(2-metoxymetyletoxy)pyridin-3-yl]-2-metyl-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-ón, tiež známy ako 3-etyl-5-{5-[4-etyl-piperazin-1-ylsulfonyl]-2-([(1R)-2-metoxymetyletoxy]oxy)pyridin-3-yl}-2-metyl-2,6--dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-ón (pozri W099/54333); 5-[2-etoxy-5-(4-etyl-piperazin-1-ylsulfonyl)pyridin-3-yl]-3-etyl-2-[2-metoxymetyl]-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-ón, tiež známy ako 1-{6-etoxy-5-[3-etyl-6,7-dihydro-2-(2-metoxymetyl)-7-oxo-2H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-5-yl]-3-pyridylsulfonyl}-4-etyl-piperazín (pozri WO 01/27113, príklad 8); 5-[2-izo-butoxy-5-(4-etyl-piperazin-1-ylsulfonyl)pyridin-3-yl]-3-etyl-2-(1-metyl-piperidin-4-yl)-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-ón (pozri WO 01/27113, príklad 15); 5-[2-etoxy-5-(4-etyl-piperazin-1-ylsulfonyl)pyridin-3-yl]-3-etyl-2-fenyl-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-ón (pozri WO 01/27113, príklad 66); 5-(5-acetyl-2-propoxy-3-pyridinyl)-3-etyl-2-(1-izopropyl-3-azetidiny)-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-ón (pozri WO 01/27112, príklad

124); 5-(5-acetyl-2-butoxy-3-pyridinyl)-3-etyl-2-(1-etyl-3-azeti-dinyl)-2,6-dihydro-7H-pyrazolo[4,3-d]pyrimidin-7-ón (pozri WO 01/27112, príklad 132); (6R,12aR)-2,3,6,7,12,12a-hexahydro-2-metyl-6-(3,4-metyléndioxyfenyl)pyrazino[2',1':6,1]pyrido-[3,4-b]indol-1,4-dión (IC-351), to je zlúčenín z príkladov 78 a 95 zverejnenej medzinárodnej prihlášky W095/19978, ako aj zlúčeniny z príkladov 1, 3, 7 a 8; 2-[2-etoxy-5-(4-etyl-piperazin-1-yl-1-sulfonyl)fenyl]-5-metyl-7-propyl-3H-imidazo-[5,1-f][1,2,4]triazin-4-ón (vardenafil) tiež známy ako 1-[[3-(3,4-dihydro-5-metyl-4-oxo-7-propylimidazo[5,1-f]-as-triazin-2-yl)-4-etoxyfenyl]sulfonyl]-4-etyl-piperazín, to je zlúčenina z príkladov 20, 19, 337 a 336 zverejnenej medzinárodnej prihlášky W099/24433; a zlúčenina z príkladu 11 zverejnenej medzinárodnej prihlášky W093/07124 (EISAI); a zlúčeniny 3 a 14 z publikácie Rotella, D. P., J. Med. Chem., 2000, 43, 1257.

Ako ďalšie vhodné inhibitory PDE5 je možné uviesť 4-bróm-5-(pyridylmetylamino)-6-[3-(4-chlórfenyl)propoxy]-3(2H)pyridazinón; monosodnú soľ 1-[4-[(1,3-benzodioxol-5-ylmetyl)-amino]-6-chlór-2-chinozolinyl]-4-piperidínkarboxylovej kyseliny; (+)-cis-5,6a,7,9,9,9a-hexahydro-2-[4-(trifluórmetyl)-fenylmetyl-5-metylcyklopent[4,5]imidazo[2,1-b]purin-4(3H)ón; furazlocillín; cis-2-hexyl-5-metyl-3,4,5,6a,7,8,9,9a-oktahydrocyklopent[4,5]imidazo[2,1b]purin-4-ón; 3-acetyl-1-(2-chlórbenzyl)-2-propylindol-6-karboxylát; 3-acetyl-1-(2-chlór-benzyl)-2-propylindol-6-karboxylát; 4-bróm-5-(3-pyridyl-metylamino)-6-(3-(4-chlórfenyl)propoxy)-3-(2H)pyridazinón; I- metyl-5-(5-morfolínoacetyl-2-n-propoxyfenyl)-3-n-propyl)-1,6-dihydro-7H-pyrazol(4,3-d)pyrimidin-7-ón; monosodnú soľ 1-[4-[(1,3-benzodioxol-5-

ylmetyl)amino]-6-chlór-2-chinazolinyl]-4-piperidínkarboxylovej kyseliny; Pharmaprojects č. 4516 (Glaxo Wellcome); Pharmaprojects č. 5051 (Bayer); Pharmaprojects č. 5064 (Kyowa Hakko; viz WO 96/26940); Pharmaprojects č. 5069 (Schering Plough); GF-196960 (Glaxo Wellcome); E-8010 a E-4010 (Eisai); Bay-38-3045 & 38-9456 (Bayer) a Sch-51866.

Pokiaľ sa účinné činidlá podávajú v kombinácii, môžeme ich podávať súčasne, oddelene alebo postupne.

Zlúčeniny podľa vynálezu môžeme podávať samotné, ale obvykle sa budú podávať vo forme farmaceutických kompozícií, v ktorých sú napríklad zmiešané s vhodným farmaceutickým excipientom, riedidlom alebo nosičom zvoleným s ohľadom na zamýšľaný spôsob podávania a štandardnú farmaceutickú prax.

Zlúčeniny podľa vynálezu môžeme napríklad podávať perorálne, bukálne alebo sublinguálne vo forme tabliet, toboliiek (vrátane mäkkých želatínových toboliiek), ovulí, elixírov, roztokov alebo suspenzií, ktoré môžu obsahovať aromatizačné alebo farbiace činidlá, určené na okamžitú, odloženú alebo modifikovanú dodávku, dodávku s trvalým uvoľňovaním, duálnu dodávku, pulznú dodávku alebo dodávku s riadeným uvoľňovaním. Zlúčeniny podľa vynálezu je možné tiež podávať vo formách s rýchlym dispergovaním alebo rýchlym rozpúšťaním.

Dávkovacie formy s modifikovaným a pulzným uvoľňovaním môžu obsahovať takéto excipienty, aké sú opísané pri formách s okamžitým uvoľňovaním, spolu s prídavnými excipientmi, ktoré účinkujú ako modifikátory rýchlosti uvoľňovania, môžu byť obalené a/alebo začlenené do telesa zariadenia na dodávku liečiva. Ako neobmedzujúce príklady modifikátorov rýchlosti

uvolňovania je možné uviesť hydroxypropylmetylcelulózu, metylcelulózu, sodnú soľ karboxymetylcelulózy, etylcelulózu, acetát celulózy, polyetylénoxid, xantánovú živicu, karbomér, kopolymér amóniummetakrylátu, hydrogenovaný ricínový olej, karnaubský vosk, parafínový vosk, acetát ftalát celulózy, ftalát hydroxypropylmetylcelulózy, kopolymér metakrylovej kyseliny a ich zmesi. Formy s modifikovaným a pulzným uvoľňovaním môžu obsahovať jeden excipient modifikujúci rýchlosť uvoľňovania alebo kombináciu takých excipientov. Tieto excipienty môžu byť prítomné v dávkovacej forme, to je matricii, a/alebo na dávkovacej forme, to je na povrchu alebo obale.

Formulácie s rýchlym dispergovaním alebo rozpúšťaním môžu obsahovať nasledujúce zložky: aspartam, acesulfam draselný, kyselinu citrónovú, sodnú soľ kroskarmelózy, krosopovidón, kyselinu diaskorbovú, etylakrylát, etylcelulózu, želatínu, hydroxypropylmetylcelulózu, stearan horečnatý, mannitol, metylmetakrylát, mátovú arómu, polyetylénglykol, sublimovaný oxid kremičitý, oxid kremičitý, sodnú soľ škrobového glykolátu, stearyl fumarát sodný, sorbitol a xylitol. Pojmy "dispergovanie" a "rozpúšťanie", ktoré sa používajú pri opise vyššie uvedených formulácií, sú závislé na rozpustnosti použitej liečivej látky, to znamená že keď je látka nerozpustná, je možné pripraviť dávkovaciu formu s rýchlym dispergovaním a keď je rozpustná, je možné pripraviť dávkovaciu formu s rýchlym rozpúšťaním.

Zlúčeniny podľa vynálezu je tiež možné podávať priamymi injekciami. Kompozície môžu byť formulované na parenterálne, mukosálne, intravenózne, subkutánne, okulárne, intraokulárne alebo transdermálne podávanie. V závislosti na potrebe sa činidlo môže podávať v dávke od 0,01 do 30 mg/kg telesnej

hmotnosti, ako v dávke od 0,1 do 10 mg/kg telesnej hmotnosti, výhodnejšie v dávke od 0,1 do 1 mg/kg telesnej hmotnosti.

Do rozsahu pojmu "podávanie" spadá dodávka za použitia vírusových alebo nevírusových postupov. Ako príklady vírusového mechanizmu dodávky je napríklad možné uviesť použitie adeno-vírusových vektorov, adenoasociovaných vírusových vektorov (AVV), herpesvírusových vektorov, retrovírusových vektorov, lentivírusových vektorov a baculovírusových vektorov. Ako príklady nevírusového mechanizmu dodávky je možné uviesť transfekciu sprostredkovanú lipidmi, použitie lipozómov, imunolipozómov, lipofektínu, katiónových faciálnych amfifilov (CFA) a ich kombinácie. Tieto typy dodávky je možné používať pri mukosálnom, nasálnom, perorálnom, parenterálnom, gastrointestinálnom, topickom alebo sublinguálnom spôsobe podávania.

Okrem toho, alebo alternatívne, je kompozície (alebo ich zložky) podľa vynálezu možné podávať priamymi injekciami. Okrem toho, alebo alternatívne, je kompozície (alebo ich zložky) podľa vynálezu možné podávať topicky (prednostne na genitálie). Okrem toho, alebo alternatívne, je kompozície (alebo ich zložky) podľa vynálezu možné podávať inhalačne. Okrem toho, alebo alternatívne, je kompozície (alebo ich zložky) podľa vynálezu možné podávať jedným alebo viacerými z nasledujúcich spôsobov: mukosálne, napríklad ako nosný sprej alebo aerosol na inhaláciu alebo ako požívateľný roztok, ako perorálne, alebo parenterálne - injekčne, rektálne, oftalmicky (vrátane podávania do sklovca alebo očnej komory), nasálne, topicky (ako bukálna a sublinguálna), intrauterálne, vaginálne alebo parenterálne (ako subkutánne, intraperitoneálne, intramuskulárne, intravenózne, intradermálne, intrakraniálne, intratracheálne a epidurálne), transdermálne,

intraperitoneálne, intrakraniálne, intracerebroventrikulárne, intracerebrálne, intravaginálne, intrauterálne alebo parenterálne (napríklad intravenózne, intraspínálne, subkutánne, transdermálne alebo intramuskulárne).

Farmaceutickú kompozíciu podľa vynálezu je napríklad možné podávať v súlade s režimom raz až desaťkrát za deň, ako raz alebo dvakrát za deň. Konkrétne množstvo dávok a frekvencia podávania ktorémukoľvek konkrétnemu pacientovi môže kolísať a bude závisieť na rade faktorov, ako je účinnosť použitej zlúčeniny, jej metabolická stabilita a dĺžka pôsobenia, vek, telesná hmotnosť, celkový zdravotný stav, pohlavie a strava pacienta, spôsob a doba podávania, rýchlosť vylučovania, liekové kombinácie, závažnosť konkrétneho stavu a individuálny priebeh liečenia.

Do rozsahu pojmu "podávanie" ale nespadá len mukosálne podávania, napríklad vo forme nasálneho spreja alebo aerosolu na inhaláciu alebo vo forme požívateľného roztoku; parenterálne podávanie, pri ktorom sa využívajú injekcie podávané napríklad intravenózne, intramuskulárne alebo subkutánne.

Tablety môžu obsahovať excipienty, ako mikrokryštalickú celulózu, laktózu, citran sodný, uhličitan vápenatý, dibázický fosforečnan vápenatý a glycin, rozvoľňovadlá, ako škrob (prednostne kukuričný, zemiakový alebo tapiokový škrob), sodnú soľ škrobového glykolátu, sodnú soľ kroskarmelózy a niektoré komplexné silikáty, a granulačné spojivá, ako polyvinylpyrrolidón, hydroxypropylmetylcelulózu (HPMC), hydroxypropylcelulózu (HPC), sacharózu, želatínu a arabskú gumu. Okrem toho môžu obsahovať tiež lubrikačné činidlá, ako

stearan horečnatý, kyselinu stearovú, glycerylbehenát a mastenec.

Pevné kompozície podrobného typu je tiež možné použiť ako náplne želatínových toboliiek. Takéto kompozície ako excipienty prednostne obsahujú laktózu, škrob, celulózu, laktózu alebo vysokomolekulárne polyetylén glykoly. Vo vodných suspenziách môžu byť činidlá v kombinácii s rôznymi sladidlami alebo aromatizačnými činidlami, farbiacimi látkami alebo farbivami, emulgačnými a/alebo suspenznými činidlami, a riedidlami, ako vodou, etanolom, propylénglykolom a glycerínom alebo ich kombináciami.

Zlúčeniny podľa vynálezu je tiež možné podávať parenterálne. Ako príklady takého podávania možné uviesť intravenózne, intraarteriálne, intraperitoneálne, intracékálne, intraventrikulárne, intrauretrálne, intrasternálne, intrakraniálne, intramuskulárne alebo subkutánne podávanie a/alebo podávanie za použitia infúzných postupov. Okrem toho je možné ich podávať vo forme implantátu. Na parenterálne podávanie sa najlepšie hodia sterilné vodné roztoky, ktoré môžu obsahovať aj iné látky, napríklad soli alebo glukózu v množstve dostatočnom na izotonizáciu roztoku vzhľadom ku krvi. Vodné roztoky by v prípade potreby mali byť vhodne pufrované (prednostne na pH 3 až 9). Odborník v tomto odbore je formulácie vhodné na parenterálne podávanie schopný jednoducho pripraviť za použitia štandardných farmaceutických postupov. Parenterálne prípravky môžu mať formu s okamžitým, odloženým, modifikovaným, dlhodobým, duálnym, riadeným alebo pulzným uvoľňovaním.

Ďalej uvedené dávkovanie aj iné dávkovanie uvedené v tomto texte je určené pre priemerného človeka s hmotnosťou 65

až 70 kg. Odborník v tomto odbore bude jednoducho schopný stanoviť dávkovanie pre subjekty, ktoré do vyššie uvedeného rozmedzia nespádajú, ako sú deti a staršie osoby.

V prípade perorálneho podávania človeku denná dávka zlúčeniny podľa vynálezu alebo jej soli alebo solvátu niektorej z týchto entít obvykle leží v rozmedzí od 10 do 1000 mg. Dennú dávku je možné podať jednorázovo alebo vo forme čiastkových dávok.

Tablety alebo tobolky na báze zlúčenín podľa vynálezu alebo ich soli alebo solvátov týchto entít budú teda obsahovať 5 až 1000 mg, ako 5 až 500 mg účinnej látky na podávanie jednej, dvoch alebo viacerých jednotiek naraz. Skutočné dávkovanie stanoví v každom konkrétnom prípade lekár tak, aby sa dosiahli optimálne výsledky pre jednotlivých pacientov. Vyššie uvedené dávkovanie je teda uvedené ako príklad vhodný pre priemerný prípad a je samozrejmé, že v niektorých prípadoch bude vhodnejšie použiť zvýšené alebo znížené dávkovanie. Všetky takéto úpravy spadajú do rozsahu tohto vynálezu. Odborníkom v tomto odbore tiež bude zrejmé, že pri liečení niektorých stavov (ako FSD) je zlúčeniny možné podávať vo forme jedinej dávky podávanej podľa potreby (to je "ako je nutné" alebo "ako je žiadúce").

Zlúčeniny podľa vynálezu je tiež možné podávať intranasálne alebo inhalačne. Pritom sa účelne používajú inhalátory pre suché prášky alebo aerosolové spreje uvoľňované z tlakovky, pumpičky, spreja alebo zahmlovača, prípadne za použitia vhodného hnacieho plynu, napríklad dichlórdifluórmétanu, trichlórfuórmétanu, dichlórtetrafluóretanu, hydrofluóralkánu, ako 1,1,1,2-

tetrafluóretánu (HFA 134A^(R)) alebo 1,1,1,2,3,3,3-heptafluórpropánu (HFA 227EA^(R)), oxidu uhličitého alebo iných vhodných plynov. V prípade tlakových aerosolových balení môže byť jednotková dávka určená spustením ventilu uvoľňujúceho napred stanovené množstvo spreja. Tlakovky, pumpičky alebo zahmlovače môžu obsahovať roztok alebo suspenziu účinnej zlúčeniny, napríklad za použitia zmesi etanolu a hnacieho plynu ako rozpúšťadla, a môžu prídavne obsahovať lubrikanty, napríklad sorbitantriолеát. Tobolky a patróny (ktoré sú napríklad zhotovené z želatíny) na použitie v inhalačnom zariadení alebo insuflátore môžu obsahovať práškovú zmes zlúčeniny podľa vynálezu s vhodným práškovým základom, ako je laktóza alebo škrob.

Aerosolové alebo suché práškové formulácie sú prednostne upravené tak, aby jedna dávka odmeraná spustením ventilu obsahovala 1 až 50 mg zlúčeniny podľa vynálezu. Celková denná dávka za použitia aerosolu by potom mala ležať v rozmedzí od 1 mg do 50 mg. Podávanie sa môže uskutočňovať jednorázovo alebo, obvyklejšie, niekoľkokrát v priebehu dňa.

Zlúčeniny podľa vynálezu je tiež možné alternatívne podávať vo forme čapíkov alebo pesarov alebo je ich možné aplikovať topicky (prednostne na genitálie) vo forme gélov, hydrogéllov, lotiónov, roztokov, krémov, mastí alebo zásypov. Tiež je ich možné podávať dermálne a do úvahy taktiež prichádza transdermálne podávanie, napríklad za použitia transdermálnych náplastí. Je možné ich tiež podávať okulárne, pulmonárne alebo rektálne.

Za účelom oftalmického podávania môžeme zlúčeniny formulovať do podoby mikronizovaných suspenzií v izotonickom

sterilnom soľnom roztoku s upraveným pH alebo, prednostne, do podoby roztokov v izotonickom sterilnom soľnom roztoku s upraveným pH, ktorý prípadne obsahuje konzervačné činidlo, ako benzylalkóniumchlorid. Alternatívne môžu mať formu masti, ako vazelinovej masti.

Za účelom topickej aplikácie na kožu (prednostne na genitálie) je možné zlúčeniny podľa vynálezu spracovávať do formy vhodných mastí, ktoré obsahujú účinnú zlúčeninu suspendovanú alebo rozpustenú v minerálnom oleji, kvapalnej vazeline, bielej vazeline, propylénglykole, zlúčenine polyoxyetylénu a polyoxypropylénu, emulgačnom vosku a/alebo vode. Alternatívne je možné zlúčeniny formulovať ako vhodné lotióny alebo krémy, v ktorých sú suspendované alebo rozpustené napríklad zmesi jednej alebo viacerô z nasledujúcich látok zvolených z minerálneho oleja, sorbitan monostearátu, polyetylénglykolu, kvapalného parafínu, polysorbate 60, cetylesteroých voskov, cetarylalkoholu, 2-oktyldodekanolu, benzylakoholu a vody.

Zlúčeniny podľa vynálezu je tiež možné používať v kombinácii s cyklodextrínmi. O cyklodextrínoch je známe, že s molekulami liečiv tvoria inklúzne a neinklúzne komplexy. Vytvorenie komplexu liečivo-cyklodextrín môže modifikovať rozpustnosť, rýchlosť rozpúšťania, biodostupnosť a/alebo stabilitu molekuly liečiva. Takéto komplexy sú obvykle užitočné vo väčšine dávkovacích formách a pri väčšine spôsobov podávania. Ako alternatívu k priamej tvorbe komplexov s liečivami je cyklodextrín možné použiť ako pomocné aditívum, napríklad ako nosič, riedidlo alebo prostriedok zlepšujúci rozpustnosť. Vhodné príklady najčastejšie používaných alfa-, beta- a gamma-cyklodextrínov sú uvedené vo WO-A-91/11172, WO-A-94/02518 a WO-A-98/55148.

Zlúčeniny podľa vynálezu sa môžu prednostne podávať systemicky (ako perorálne, bukálne a sublinguálne), výhodnejšie perorálne. Prednostne sa také systemické podávanie (najvýhodnejšie perorálne podávanie) používa pri liečení sexuálnej dysfunkcie žien, prednostne FSAD.

Ako prednostné perorálne formulácie je možné uviesť tablety s okamžitým uvoľňovaním; alebo formulácie s rýchlym dispergováním alebo rozpúšťaním.

V ďalšom prednostnom uskutočnení sa zlúčeniny podľa vynálezu podávajú topicky, prednostne priamo na ženské genitálie, najmä vagínu.

Pretože je NEP prítomný v celom tele, je veľmi neočakávané, že zlúčeniny podľa vynálezu je možné podávať systemicky a dosiahnuť terapeutickú odpoveď v ženských genitáliách tak, aby nedošlo k provokačným nežiadúcim vedľajším účinkom vyvolaným neznášanlivosťou. Pri modelovej skúške in vivo (na králikoch) zlúčeniny podľa vynálezu podávané systemicky po sexuálnej stimulácii (napodobnenej stimuláciou pelvického nervu) vyvolávali zvýšené prekrvenie genitálií tak, aby nedošlo na žiadúce ovplyvnenie kardiovaskulárnych parametrov, ako vyvolanie významnej hypotenzie alebo hypertenzie.

Zlúčeniny podľa vynálezu sa prednostne podávajú za účelom liečenia FSD pre sexuálne stimulovaného pacienta (pričom sexuálnou stimuláciou sa rozumie vizuálna, sluchová alebo taktilná stimulácia). Na stimuláciu môže dôjsť pred takým podaním, po ňom alebo počas podania.

Zlúčeniny podľa vynálezu teda posilňujú dráhy/mechanizmy, ktoré sú základom sexuálneho vzrušenia v ženských genitáliách, pričom obnovujú alebo zlepšujú odpoveď vyjadrenú v podobe sexuálneho vzrušenia na sexuálnu stimuláciu.

V prednostnom uskutočnení je predmetom vynálezu použitie zlúčeniny podľa vynálezu na výrobu liečiva na liečenie alebo profylaxiu FSD u stimulovaných pacientov.

Pri použití vo veterinárnej medicíne sa zlúčeniny podľa vynálezu podávajú vo forme vhodných formulácií v súlade s normálnou veterinárnou praxou. Dávkovací režim a spôsob podávania, ktoré sú najvhodnejšie pre konkrétne zviera, zvolí ošetrojúci lekár.

Ďalej sú uvedené neobmedzujúce príklady niektorých formulácií. Pod pojmom "účinná prísada" sa rozumie zlúčenina podľa vynálezu.

Formulácia 1

Tableta sa pripraví za použitia nasledujúcich prísad:

	hmotnosť (mg)
Účinná prísada	250
Mikrokryštalická celulóza	400
Sublimovaný oxid kremičitý	10
Kyselina stearová	5
Celkom	665

Tieto zložky sa zmiešajú a lisujú na tablety.

Formulácia 2

Intravenóznou formuláciu je možné pripraviť z nasledujúcich prísad:

Účinná prísada	100 mg
Izotonický soľný roztok	1000 ml

Ďalej sú opísané typické formulácie, ktoré sa môžu používať na topické podávanie zlúčenín podľa vynálezu na genitálie:

Formulácia 3: Sprej

Účinná prísada (1,0 %) v izopropylalkohole (30 %) a vode.

Formulácia 4: Pena

Účinná prísada, ladvá kyselina octová, kyselina benzoová, cetylalkohol, metylparahydroxybenzoát, kyselina fosforečná, polyvinylalkohol, propylénglykol, sodná soľ karboxymetylcelulózy, kyselina stearová, dietylsteramid, vonná látka van Dyke č. 6301, purifikovaná voda a izobután.

Formulácia 5: Gél

Účinná prísada, Docusate sodná soľ BP, izopropylalkohol BP, propylénglykol, hydroxid sodný, karbomér 934P, kyselina benzoová a purifikovaná voda.

Formulácia 6: Krém

Účinná prísada, kyselina benzoová, cetylalkohol, levandula, zlúčenina 13091, metylparabén, propylparabén, propylénglykol, sodná soľ karboxymetylcelulózy, laurylsíran sodný, kyselina stearová, trietanolamín, ľadová kyselina octová, ricínový olej, hydroxid draselný, kyselina sorbová a purifikovaná voda.

Formulácia 7: Pesar

Účinná prísada, cetomakrogol 1000 BP, kyselina citrónová, PEG 1500 a 100 a purifikovaná voda.

Predmetom vynálezu sú ďalej:

i) farmaceutická kompozícia, ktorej podstata spočíva v tom, že obsahuje zlúčeninu podľa vynálezu a farmaceuticky vhodný excipient, riedidlo alebo nosič;

ii) zlúčeniny podľa vynálezu na použitie ako liečivo;

iii) spôsob liečenia FSD pre cicavcov, ktorého podstata spočíva v tom, že sa takému cicavcovi podá účinné množstvo zlúčeniny podľa vynálezu;

iv) farmaceutická kompozícia na liečenie FSD, ktorej podstata spočíva v tom, že obsahuje zlúčeninu podľa vynálezu a farmaceuticky vhodný excipient, riedidlo alebo nosič;

v) zlúčeniny podľa vynálezu na liečenie FSD.

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

Ďalej sú uvedené významy skratiek, ktoré sa v príkladoch uskutočnenia používajú:

Boc	terc-butoxykarbonyl
CDI	karbonyldiimidazol
δ	chemický posun
d	dublet
Δ	teplo
DCCI	dicyklohexylkarbodiimid
DCM	dichlórmétán
DMF	N,N-dimetylformamid
DMPU	1,3-dimetyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinón
DMSO	dimetylsulfoxid
ES ⁺	ionizácia elektrosprejom so záznamom kladných iónov
ES ⁻	ionizácia elektrosprejom so záznamom záporných iónov
Pr.	príklad
HMPA	hexametylfosforamid
HOBt	1-hydroxybenzotriazol
HPLC	vysokotlaková kvapalinová chromatografia
m/z	pík hmotnostného spektra
MS	hmotnostné spektrum
NMR	nukleárna magnetická rezonancia
Prec	prekurzor
Prep	preparatívny postup
q	kvartet
s	singlet

t	triplet
Tf	trifluórmétánsulfonyl
TFA	trifluóroctová kyselina
THF	tetrahydrofurán
TLC	chromatografia na tenkej vrstve
TMEDA	N,N,N',N'-tetrametyletyléndiamín
TS ⁺	ionizácia termosprejom so záznamom kladných iónov
WSCDI	hydrochlorid 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etyl- karbodiimidu

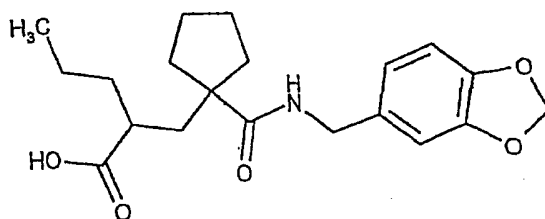
Spektrá ¹H nukleárnej magnetickej rezonancie (NMR) sú vo všetkých prípadoch v súlade s navrhnutou štruktúrou. Charakteristické chemické posuny (δ) sú vyjadrené v dieloch na milión dielov smerom dole od tetrametylsilánu a pre opis hlavných píkov sa používajú obvyklé skratky (napríklad s = singlet, d = dublet, t = triplet, q = kvartet, m = multiplet a br = široký). Na označenie obvyklých rozpúšťadiel sa používajú nasledujúce skratky: CDCl₃ = deuteriochlóroform, DMSO = di-metylsulfoxid. Skratkou LRMS sa označuje hmotnostná spektroskopia s nízkym rozlíšením. Pod pojmom chromatografia na tenkej vrstve (TLC) sa rozumie chromatografia na doskách so silikagélom 60 F₂₅₄, pričom R_f predstavuje podiel vzdialenosti, ktorú urazila zlúčenina a vzdialenosti, ktorú urazilo čelo rozpúšťadla na doske pre TLC.

Práškové röntgenové difrakčné obrazce (PXRD) boli stanovené za použitia práškového röntgenového difraktometra Siemens D5000 vybaveného théta-théta goniometrom, automatickými štrbinami na rozptyl, sekundárnym monochromátorom a scintilačným čítačom. Vzorka rotuje, pričom je ožiarovaná röntgenovým žiarením med' K-alfa1 (vlnová dĺžka 0,15046 nm) filtrovaným cez grafitový monochromátor (lambda =

0,15405 nm) a röntgenka pracuje pri 40 kV/40 mA. V rôznych pevných formách sú uvedené hlavné píky (v stupňoch 2 θ) PXRD obrazcov.

P r í k l a d 1

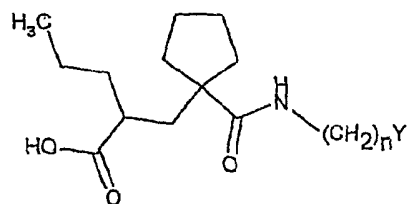
2-({1-[(1,3-Benzodioxol-5-ylamino)karbonyl]cyklopentyl}-metyl)pentánová kyselina



Trifluóroctová kyselina (5 ml) sa pridá do roztoku terc-butylesteru z preparatívneho postupu 34 (130 mg, 0,31 mmol) v dichlórmétáne (5 ml). Výsledný roztok sa 4 hodiny mieša pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s toluénom a dichlórmétánom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme číreho oleja, 112 mg, ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,83 (t, 3H), 1,22-1,40 (m, 3H), 1,50-1,72 (m, 8H), 1,95 (m, 1H), 2,10 (m, 2H), 2,19 (m, 1H), 4,30 (m, 2H), 5,93 (s, 2H), 5,99 (bs, 1 H), 6,74 (m, 3H); LRMS: m/z 380 (MH^+).

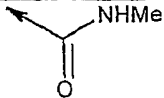
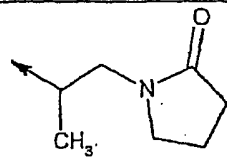
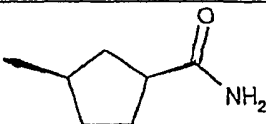
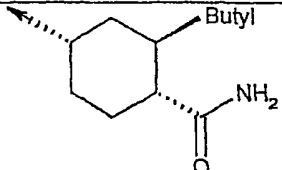
P r í k l a d y 2 a ž 9

Zlúčeniny všeobecného vzorca Ic, to je zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde R^1 predstavuje propylskupinu, sa pripravia zo zodpovedajúceho terc-butylesteru podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 1 za použitia uvedených prekursorov.



(1c)

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

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

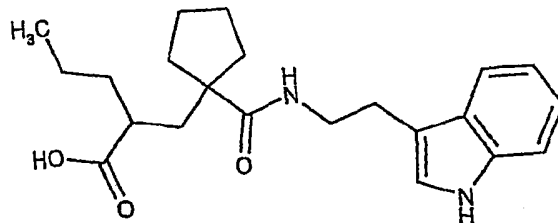
1 = navyše sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi etylacetátu a pentánu ako elučného činidla

2 = navyše sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu ako elučného činidla

3 = prekryštalizuje sa z éteru

P r í k l a d 1 0

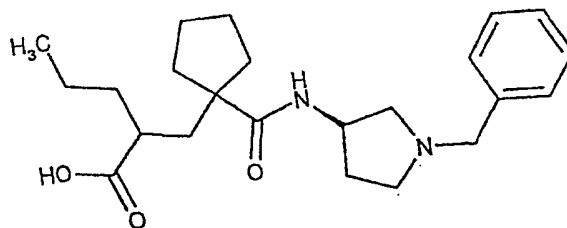
2-{[1-({[2-(1H-Indol-3-yl)etyl]amino}karbonyl)-
cyklopentyl]metyl}pentánová kyselina



Trifluóroctová kyselina (2,61 ml, 33,9 mmol) sa pridá do roztoku terc-butylesteru z preparatívneho postupu 44 (482 mg, 1,13 mmol) a anisolu (1,23 ml, 11,3 mmol) v dichlórmetáne (4 ml). Rreakčná zmes sa 4 hodiny mieša pri teplote miestnosti, premyje vodou a potom vodným chloridom sodným, vysuší síranom horečnatým, skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s toluénom. Hnedý olejovitý zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu (95 : 5) ako elučného činidla, opakovane za použitia elučného gradientu etylacetát : pentán (30 : 70 až 50 : 50) získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme čirej peny, 136 mg, 32%; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 0,82 (s, 3H), 1,16-1,77 (m, 12H), 1,78-2,03 (m, 2H), 2,36 (m, 1H), 2,97 (m, 2H), 3,61 (m, 2H), 5,83 (m, 1H), 7,04 (s, 1H), 7,09-7,23 (m, 2H), 7,39 (d, 1H), 7,61 (d, 1H), 8,15 (m, 1 H); LRMS: m/z 371,8 (MH⁺).

Pr í k l a d 1 1

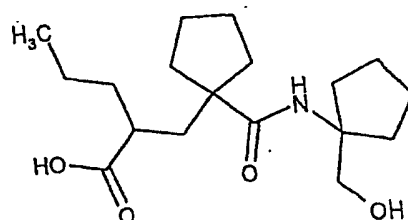
2-{[1-({[(3S)-1-Benzylpyrrolidiny]amíno}karbonyl)-
cyklopentyl]metyl}pentánová kyselina



Roztok terc-butylesteru z preparatívneho postupu 45 (70 mg, 0,16 mmol) v trifluóroctovej kyseline (1 ml) a dichlórmetáne (1 ml) sa 2 hodiny mieša pri teplote miestnosti, skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom. Zvyšok sa rozdelí medzi vodu (1 ml) a etylacetát (5 ml) a pH vodnej vrstvy sa za použitia roztoku hydrogénuhličitanu sodného upraví na 6. Vrstvy sa oddelia, organická fáza sa vysuší síranom sodným, odparí za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme béžovej peny, 45 mg, 73 %; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,84 (t, 3H), 1,20 2,95 (m, 19H), 3,52 (m, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,95 (m, 1H), 4,25 (m, 1H), 4,45 (m, 1H), 6,96 (bs, 1H), 7,39 (m, 5H); LRMS: m/z 387 (MH^+); Analýza nájdené: C, 61,11; H, 7,69; N, 6,00. $\text{C}_{23}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ vypočítané C, 61,14; H, 7,70; N, 5,94 %.

P r í k l a d 1 2

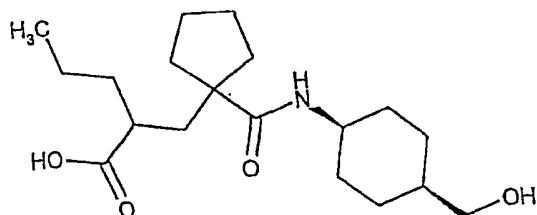
2-{[1-({[1-(Hydroxymetyl)cyklopentyl]amino}karbonyl)-
cyklopentyl]metyl}pentánová kyselina



Roztok terc-butylesteru z preparatívneho postupu 33 (38 mg, 0,1 mmol) v trifluóroctovej kyseline (2 ml) a dichlórmetáne (2 ml) sa 2 hodiny mieša pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s toluénom a potom dichlórmetánom. Bezfarebná živica sa suspenduje v roztoku uhličitanu draselného ((50 mg, 0,3 mmol) v metanole. Výsledná zmes sa 2 hodiny mieša pri teplote miestnosti. Metanol sa odstráni za zníženého tlaku. Výsledná vodná zmes sa zriedi vodou (20 ml) a za použitia 2M kyseliny chlór vodíkovej okyslí na pH 2. Vzniknutý roztok sa extrahuje etylacetátom (2 x 20 ml). Spojené organické roztoky sa vysušia síranom horečnatým a odparia za zníženého tlaku na číry olej, 32 mg, 97% ;¹H NMR (CDCl₃, 400MHz): δ 0,88 (t, 3H), 1,20-1,40 (m, 3H), 1,41-1,90 (m, 17H), 2,01-2,20 (m, 2H), 2,40 (m, 1H), 3,71 (dd, 2H), 5,80 (bs, 1H); LRMS : m/z 326,1 (MH⁺).

P r í k l a d 1 3

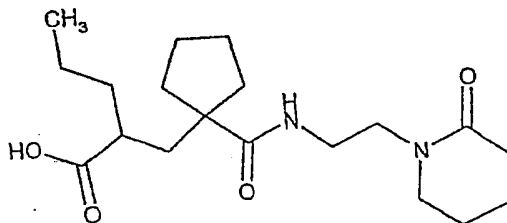
Cis-2-{[1-({[4-(Hydroxymetyl)cyklohexyl]amino}karbonyl)-
cyklopentyl]metyl}pentánová kyselina



Titulná zlúčenina sa získa vo forme bezfarebnej živice (68%), z terc-butylesteru z preparatívneho postupu 43, spôsobom opísaným v príklade 12, s tým rozdielom, že produkt sa navyše prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu (95 : 5) ako elučného činidla; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,87 (t, 3H), 1,21-1,40 (m, 6H), 1,52-1,70 (m, 15H), 1,92-2,11 (m, 3H), 2,39 (m, 1H), 3,55 (d, 2H), 4,01 (m, 1H), 5,90 (m, 1H); LRMS: m/z 340,3 (MH^+).

P r í k l a d 1 4

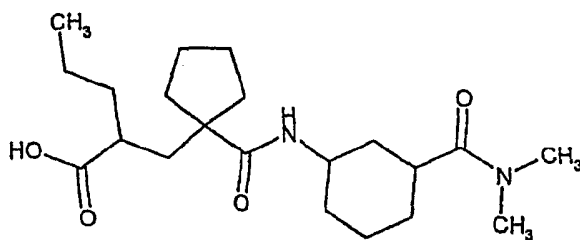
2- 1-({[2-(2-Oxo-1-piperidiny)etyl]amino}karbonyl)-
cyklopentyl]metyl}pentánová kyselina



Ľadovo chladným roztokom terc-butylesteru z preparatívneho postupu 47 (43 mg, 0,105 mmol) v dichlórmetáne (10 ml) sa 20 minút nechá prebublávať plynný chlór vodík. Reakčný roztok sa potom 3 hodiny mieša pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom (3x). Získa sa sklovitá pevná látka. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu dichlórmetán : metanol (95 : 5 až 90 : 10) získa sa zlúčenina uvedená v nadpise, 6 mg ; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,81 (t, 3H), 1,20-1,36 (m, 4H), 1,41-1,69 (m, 7H), 1,79 (m, 4H), 1,90-2,10 (m, 3H), 2,30 (m, 1H), 2,38 (t, 2H), 3,30-3,60 (m, 6H), 7,00 (bs, 1H); LRMS: m/z 351 (M-H) $^-$.

P r í k l a d 1 5

2-({1-[(3-[(Dimetylamino)karbonyl]cyklohexyl)-amino)karbonyl]cyklopentyl}metyl)pentánová kyselina

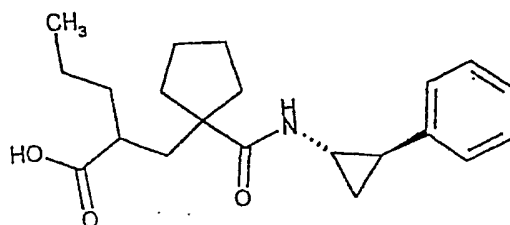


Titulná zlúčenina sa získa vo forme pevnej látky v 85% výťažku z terc-butylesteru z preparatívneho postupu 42, podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 14, s tým rozdielom, že sa pri chromatografii použije zmes dichlórmetánu, metanolu a kyseliny octovej (95 : 3 : 2) ako elučného činidla. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,89 (t, 3H), 1,09-1,76 (m, 12H), 1,80-2,17 (m, 10H), 2,37 (m, 1H), 2,68

(m, 1H), 2,95 (s, 3H), 3,04 (s, 3H), 3,83 (m, 1H), 6,06 (m, 1H); LRMS: m/z 381 (MH⁺); Analýza nájdené: C, 63,31; H, 9,17; N, 6,53. C₂₁H₃₆N₂O₄·H₂O vypočítané C, 63,29; H, 9,61; N, 7,03 %.

P r í k l a d 1 6

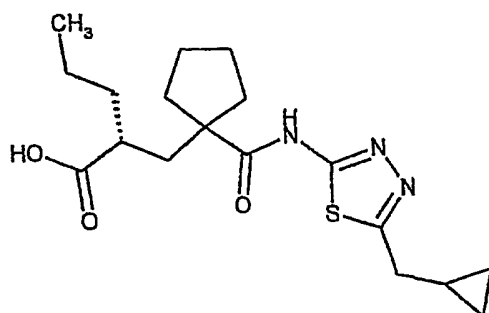
2-{[1-({[(1R,2R)-2-Fenylcyklopropyl]amino}karbonyl)-
cyklopentyl]metyl}pentánová kyselina



Titulná zlúčenina sa získa kvantitatívne vo forme oranžovej živice z terc-butylesteru z preparatívneho postupu 46, podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 14; ¹H NMR (CDCl₃, 400MHz): δ 0,90 (t, 3H), 1,12-2,14 (m, 17H), 2,38 (m, 1H), 2,87 (m, 1H), 6,10 (s, 1 H), 7,13 (m, 3H), 7,25 (m, 2H); LRMS: m/z 344,3 (MH⁺).

Pr í k l a d 1 7

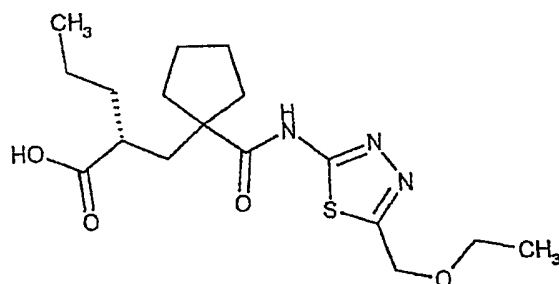
(2R)-2-{[1-({[5-(Cyklopropylmetyl)-1,3,4-tiadiazol-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]metyl}pentánová kyselina



Roztok terc-butylesteru z preparatívneho postupu 50 (63 mg, 0,15 mmol) v trifluóroctovej kyseline (2 ml) a dichlórmétáne (2 ml) sa 2 hodiny mieša pri teplote miestnosti. Výsledná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmétánu a metanolu (95 : 5) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bielej peny, 46 mg, 83%; ^1H NMR (CD_3OD , 400MHz): δ 0,38 (m, 2H), 0,62 (m, 2H), 0,82 (t, 3H), 1,12 (m, 1H), 1,26 (m, 2H), 1,38 (m, 1H), 1,52 (m, 1H), 1,78-1,78 (m, 6H), 1,90 (m, 1H), 2,23 (m, 4H), 2,92 (d, 2H); LRMS: m/z 366,0 (MH^+); $[\alpha]_D = -7,75^\circ$ (c = 0,08, metanol).

P r í k l a d 1 8

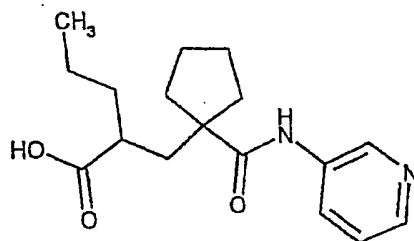
(2R)-2-{[1-({[5-(Etoxymetyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)]amino}karbonyl)cyclopentyl]metyl}pentánová kyselina



Titulná zlúčenina sa získa vo forme bielej peny v 62% výťažku z terc-butylesteru z preparatívneho postupu 51, podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 17; ^1H NMR (CD_3OD , 400MHz) δ : 0,82 (t, 3H), 1,21-1,40 (m, 7H), 1,50 (m, 1 H), 1,60-1,77 (m, 7H), 1,88 (m, 1 H), 2,23 (m, 4H), 3,62 (q, 2H); $[\alpha]_{\text{D}} = -6,08^\circ$ ($c = 0,25$, metanol).

P r í k l a d 1 9

2-({1-[(3-Pyridinylamino)karbonyl]cyclopentyl}metyl).
pentánová kyselina

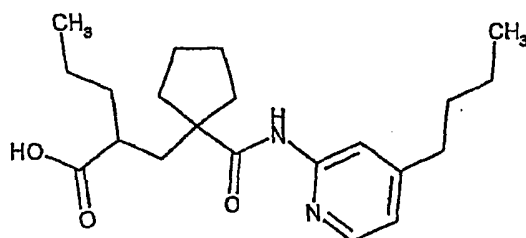


Zmes benzyľesteru z preparatívneho postupu 52 (130 mg, 0,33 mmol) a 10% palládia na uhľiku (20 mg) v 95% vodnom

etanole (3 ml) sa 2 hodiny hydrogenuje za tlaku 103,5 kPa pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Arbocel®, premyje etanolom a filtrát sa odparí za zníženého tlaku. Živičný zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu (95 : 5) ako elučného činidla získa sa zlúčenina uvedená v nadpise, 103 mg, 83 %; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,90 (t, 3H), 1,38 (m, 2H), 1,44 (m, 1H), 1,58-1,82 (m, 8H), 2,19 (m, 1H), 2,39 (m, 2H), 2,52 (m, 1H), 6,88 (m, 1H), 7,67 (m, 1H), 7,82 (d, 1H), 8,38 (d, 1H), 9,78 (s, 1H); LRMS: m/z 305 (MH^+).

P r í k l a d 2 0

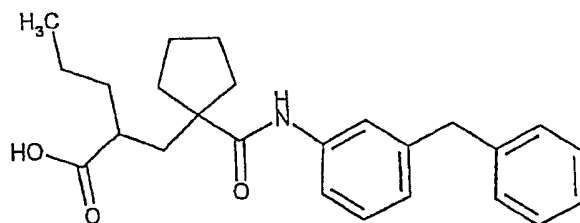
2-[(1-[[4-Butyl-2-pyridinyl)amino]karbonyl]-
cyklopentyl)metyl]pentánová kyselina



Titulná zlúčenina sa získa v 92% výťažku z benzylesteru z preparatívneho postupu 55, podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 19; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,90 (m, 6H), 1,28-1,50 (m, 5H), 1,58-1,81 (m, 10H), 2,20 (m, 1H), 2,40 (m, 2H), 2,58 (m, 3H), 6,70 (d, 1H), 7,68 (d, 1H), 8,22 (s, 1H), 9,90 (bs, 1H).

P r í k l a d 2 1

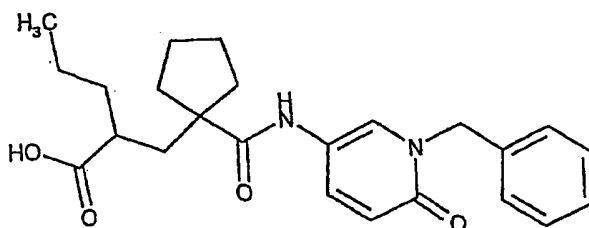
2-({1-[(3-Benzylanilino)karbonyl]cyklopentyl}metyl)pentánová
kyselina



Zmes benzylesteru z preparatívneho postupu 53 (1,3 mg, 2,47 mmol) a 5% palládia na uhlíku (130 mg) vo vode (10 ml) a etanole (40 ml) sa 2 hodiny hydrogenuje za tlaku 206,1 kPa pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Arbocel® a filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa tritureuje s dichlórmétánom. Získaná živica sa tritureuje s éterom a potom hexánom a vysuší pri 50°C. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme pevnej látky, 0,79 g, 81 %; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,95 (t, 3H), 1,24-1,51 (m, 3H), 1,58-1,80 (m, 7H), 1,88 (dd, 1H), 2,15 (m, 2H), 2,24 (m, 1H), 2,48 (m, 1H), 4,00 (s, 2H), 6,98 (d, 1H), 7,24 (m, 6H), 7,40 (m, 3H); Analýza nájdené: C, 75,48; H, 7,76; N, 3,59. $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{NO}_3 \cdot 0,25\text{H}_2\text{O}$ vypočítané C, 75,44; H, 7,98; N, 3,51 %.

P r í k l a d 2 2

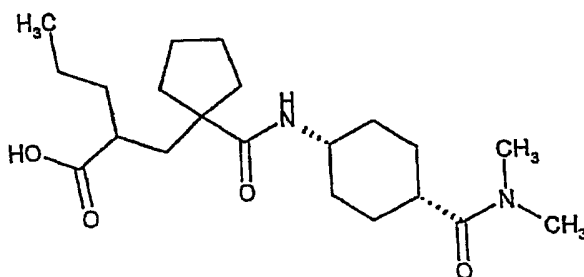
2-[(1-{[(1-Benzyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridinyl)amino]-
karbonyl}cyklopentyl)metylpentánová kyselina



Titulná zlúčenina sa získa vo forme bielej peny v 51 % výťažku z benzylesteru z preparatívneho postupu 56, podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 21, s tým rozdielom, že sa produkt prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli, za použitia etylacetátu ako elučného činidla; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,96 (t, 3H), 1,28-1,80 (m, 12H), 2,01 (m, 1H), 2,30-2,52 (m, 2H), 5,02 (dd, 2H), 6,60 (d, 1H), 7,27 (m, 5H), 7,70 (s, 1H), 8,34 (s, 1H); Analýza nájdené: C, 69,52; H, 7,41; N, 6,51. $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0,25\text{H}_2\text{O}$ vypočítané C, 69,45; H, 7,41; N, 6,75.

P r í k l a d 2 3

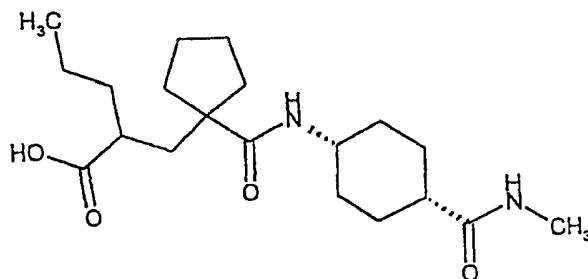
cis-2-({1-[(4-[(Dimetylamino)karbonyl]cyklohexyl)-
amino)karbonyl]cyklopentyl)metylpentánová kyselina



Zmes benzylesteru z preparatívneho postupu 58 (150 mg, 0,33 mmol) a 10% palládia na uhlíku (20 mg) vo vode (0,3 ml) a etanole (3,5 ml) sa 3 dni hydrogenuje za tlaku 103,5 kPa pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Arbocel® a filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Živičný zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu (95 : 5) ako elučného činidla získa sa zlúčenina uvedená v nadpise, 85 mg, 65%; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,84 (t, 3H), 1,29-1,96 (m, 18H), 2,01-2,23 (m, 4H), 2,37 (m, 1H), 2,62 (m, 1H), 2,96 (s, 3H), 3,03 (s, 3H), 3,96 (m, 1H), 5,98 (m, 1H); LRMS: m/z 381,8 (MH^+); Analýza nájdené: C, 63,81; H, 9,58; N, 6,99. $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0,2\text{CH}_2\text{Cl}_2$ vypočítané C, 64,06; H, 9,23; N, 7,05 %.

P r í k l a d 2 4

cis-2-({1-[(4-[(Metylamino)karbonyl]cyklohexyl)-amino]karbonyl]cyklopentyl}metyl)pentánová kyselina

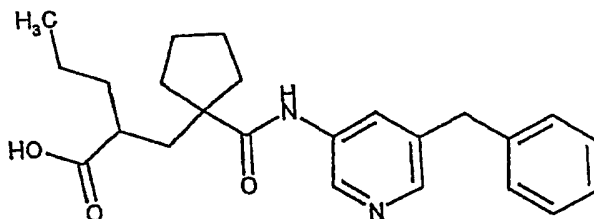


Titulná zlúčenina sa získa vo forme bielej pevnej látky v 34% výťažku z benzylesteru z preparatívneho postupu 59, spôsobom opísaným v príklade 23; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,90 (t, 3H), 1,26-2,02 (m, 20H), 2,19 (m, 3H), 2,39 (m, 1H),

2,82 (d, 3H), 4,00 (m, 1 H), 5,69 (m, 1H), 6,00 (d, 1H);
LRMS: m/z 365 (M-H⁻).

P r í k l a d 2 5

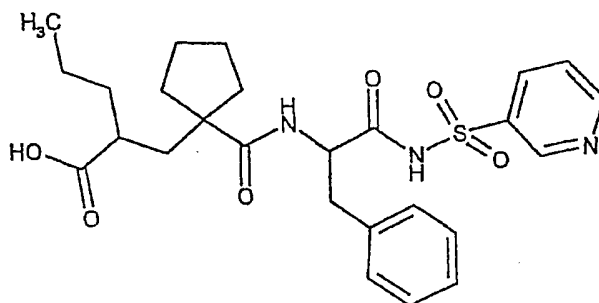
2-(1-[[(5-Benzyl-3-pyridinyl)amino]karbonyl]cyklopentyl)-
metyl]pentánová kyselina



Zmes benzylesteru z preparatívneho postupu 54 (850 mg, 1,76 mmol) a 5% palládia na uhľiku (100 mg) v 20% vodnom etanole (30ml) sa 2 hodiny hydrogenuje za tlaku 206,1 kPa pri teplote miestnosti a potom prefiltruje cez Arbocel®. Zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme peny, 0,63g; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 0,92 (t, 3H), 1,30-1,83 (m, 11H), 2,07 (m, 1H), 2,42 (m, 3H), 3,82 (s, 2H), 7,15-7,38 (5H), 7,80 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,62 (s, 1H); Analýza nájdené: C, 72,29; H, 7,70; N, 6,90. C₂₄H₃₀N₂O₃·0,25H₂O vypočítané C, 72,24; H, 7,70; N, 7,02%.

P r í k l a d 2 6

2-({1-[(1-Benzyl-2-oxo-2-oxo-2-[(3-pyridinylsulfonyl)-amino]etyl}amino)karbonyl]cyklopentyl}metyl)pentánová
kyselina

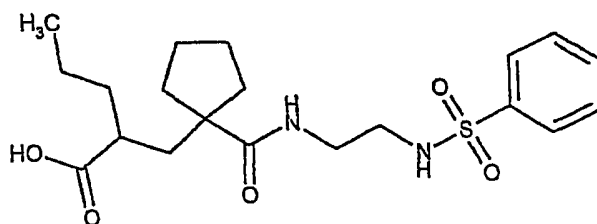


Zmes benzylesteru z preparatívneho postupu 57 (918 mg, 1,52 mmol) a 10% palládia na uhlíku (90 mg) vo vode (10 ml) a etanole (50 ml) sa 4,5 hodiny hydrogenuje za tlaku 343,5 kPa pri teplote miestnosti. Analýza pomocou TLC ukáže, že v zmesi je ešte prítomná východzia látka. Do reakčnej zmesi sa teda pridá ďalší katalyzátor (70 mg). Reakčná zmes sa hydrogenuje ďalších 18 hodín. Analýza pomocou TLC ukáže, že v zmesi je ešte prítomná východzia látka. Do reakčnej zmesi sa teda pridá ďalší katalyzátor (70 mg). Reakčná zmes sa hydrogenuje ďalších 6 hodín a potom prefiltruje cez Arbocel®. Filtrát sa odparí za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu dichlórmetán : kyselina octová : etanol (99 : 1 : 0 až 79,1 : 0,9 : 20). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bielej peny, 271 mg, 35%; ^1H NMR (DMSO-d_6 , 300MHz): δ 0,75 (m, 3H), 0,96-1,42 (m, 11 H), 1,61-1,99 (m, 4H), 2,75-3,02 (m, 2H), 4,45 (m, 1 H), 7,20 (m, 6H), 7,62 (m, 1H), 8,24 (m, 1H), 8. 83 (s, 1H), 9,01 (s, 1H), 11,98 (bs, 1H), 12,70 (bs, 1H);

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

P r í k l a d 2 7

2-({1-[(2-[(Fenylsulfonyl)amino]etyl)amino]karbonyl}-
cyklopentyl)metyl)pentánová kyselina

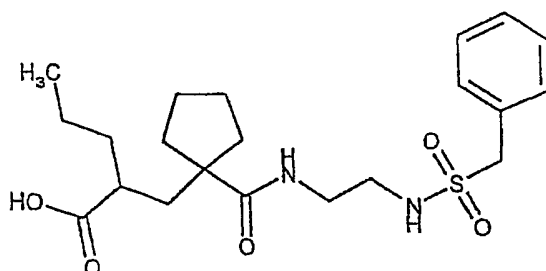


Zmes amínu z preparatívneho postupu 61 (235 mg, 0,72mol), benzénsulfonylchloride (127 mg, 0,72 mmol) a trietylaminu (150 μ l, 1,08 mmol) v dichlórmetáne (6 ml) sa mieša 2 dni pri teplote miestnosti. Výsledná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi etylacetátu a pentánu (30 : 70) ako elučného činidla. Číry olejovitý zvyšok sa rozpustí v trifluóroctovej kyseline (3 ml) a dichlórmetáne (3 ml). Výsledný roztok sa 6 hodín mieša pri teplote miestnosti. Výsledná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa dvakrát azeotropicky odparí s toluénom. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi etylacetátu a pentánu (30 : 70) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme číreho oleja, 204 mg, 69%; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ : 0,84 (t, 3H), 1,22-1,43 (m, 4H), 1,43-2,18 (m, 10H), 2,36 (m, 1H), 3,11 (m, 2H), 3,20-3,31 (m, 1H), 3,423,53 (m, 1H), 6,13-6,24 (m, 1H), 7,42-7,59 (m, 3H), 7,84 (m, 2H); LRMS: m/z 411. 8 (MH^+); Analýza nájdené: C, 57,26;

H, 7,40; N, 6,61. $C_{20}H_{30}N_2O_5S$ vypočítané C, 57,18; H, 7,22; N, 6,62 %.

P r í k l a d 2 8

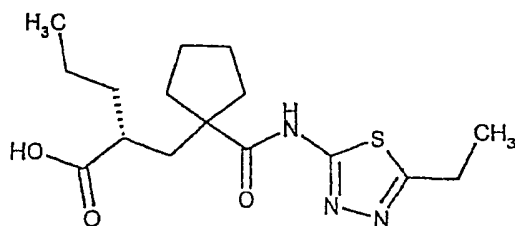
2-({1-[(2-[(Benzylsulfonyl)amino]etyl)amino]karbonyl}-
cyklopentyl)metyl)pentánová kyselina



Titulná zlúčenina sa získa vo forme číreho oleja v 97% výťažku z amínu z preparatívneho postupu 61, spôsobom opísaným v príklade 27. 1H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): δ 0,87 (t, 3H), 1,19-1,72 (m, 11H), 1,80-1,96 (m, 1H), 2,00-2,16 (m, 2H), 2,27-2,38 (m, 1H), 2,92-3,21 (m, 3H), 3,23-3,39 (m, 1H), 4,25 (s, 2H), 5,80-6,06 (m, 1H), 6,38 (m, 1H), 7,29-7,43 (m, 5H); LRMS: m/z 425,8 (MH^+).

P r í k l a d 2 9

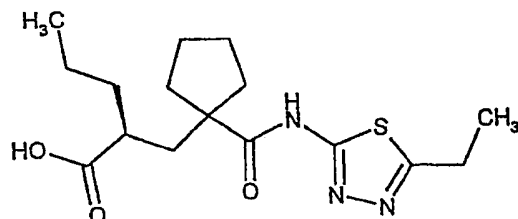
(2R)-2-[(1-{[(5-Etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}-
cyklopentyl)metyl]pentánová kyselina



a

P r í k l a d 3 0

(2S)-2-[(1-{(5-Etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amínolkarbonyl}-
cyklopentyl)metyl]pentánová kyselina



Kyselina z príkladu 4 (824 mg) sa ďalej prečistí HPLC za použitia stĺpca AD a zmesi hexánu, izopropylalkoholu a kyseliny octovej (85 : 15 : 0,2) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina z príkladu 29 vo forme bielej peny, 400 mg, 99,5% enantiomérny nadbytok, ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,90 (t, 3H), 1,36 (m, 6H), 1,50-1,80 (m, 9H), 2,19 (m, 1H), 2,30 (m, 1H), 2,44 (m, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,98 (q, 2H), 12,10-12,30 (bs, 1H), LRMS: m/z 338 (MH^-), $[\alpha]_D = -9,0^\circ$ (c = 0,1, metanol) a titulná zlúčenina z príkladu 30 vo forme bielej peny, 386 mg, 99% enantiomérny nadbytok, ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,90 (t, 3H), 1,38 (m, 6H), 1,50-1,79 (m, 9H), 2,19 (m, 1H), 2,30 (m, 1H), 2,44 (m, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,98 (q, 2H), 12,10-12,27 (bs, 1H); LRMS: m/z 338 (MH^-); $[\alpha]_D = +3,8^\circ$ (c = 0,1, metanol).

Alternatívne je možné zlúčeninu z príkladu 29 pripraviť nasledujúcim spôsobom:

Do roztoku produktu z preparatívneho postupu 51 (574 g, 1,45 mol) v dichlórmetíane (2,87 litra) sa počas 50 minút za

chladenia na 10°C pridá kyselina trifluóroctová (1,15 litra). Po dokončení prídavku sa reakčná zmes počas 24 hodín za miešania pod atmosférou dusíka nechá zahriať na teplotu okolia a pridá sa k nej deionizovaná voda (2,6 litra). Reakčná zmes sa premyje deionizovanou vodou (3 x 2,6 litra). Dichlórmetánová vrstva sa skoncentruje na objem asi 1 liter. Získa sa surový produkt (439 g, 1,29 ml, 96% výťažok) vo forme roztoku v dichlórmetáne. Prečistená vzorka titulnej zlúčeniny sa získa za použitia nasledujúceho postupu: Do dichlórmetánového roztoku (2,34 litra) surového produktu, z ktorého sa filtráciou odstránia kontaminujúce častice, sa pridá izopropylacetát (1,38 litra). Výsledná zmes sa destiluje za atmosferického tlaku za priebežného dopĺňovania izopropylacetátu, dokiaľ teplota roztoku nedosiahne 87°C. Zahrievanie sa skončí a roztok sa počas 14 hodín za miešania nechá schladnúť na teplotu okolia, čím sa získa zakalený hnedý roztok. Rýchlosť miešania sa zvýši a zaháji sa kryštalizácia. Suspenzia sa nechá granulovať 12 hodín pri teplote okolia. Výsledná suspenzia sa 3,5 hodiny chladí na 0°C. Pevná látka sa odfiltruje a filtračný koláč sa premyje izopropylacetátom (2 x 185 ml a potom 2 x 90 ml). Pevná látka sa 18 hodín suší za vákua pri 40 až 45°C. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (602 g, 0,18 ml, 70% výťažok) vo forme krémovo zafarbenej kryštalickej pevnej látky s teplotou tavenia 130 až 136°C. LRMS (negatívna APCI) : m/z [M-H]⁻ 338; ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 0,92 (t, 3H), 1,27-1,52 (m, 7H), 1,52-1,89 (m, 8H), 2,11-2,27 (m, 1H), 2,27-2,37 (m, 1H), 2,42-2,55 (m, 1H), 2,65 (dd, 2H), 3,00 (q, 2H), 12,25 (bs, 1H).

Zlúčeninu z príkladu 29 je možné prečistiť nasledujúcim postupom: Titulná zlúčenina z príkladu 29 sa rozpustí v

metanole. Do metanolickeho roztoku sa pridá metoxid sodný (1 ekv.) v metanole (1 ml/g zlúčeniny z príkladu 29). Vzniknutá zmes sa 20 minút mieša pri teplote miestnosti, hneď potom sa z nej za zníženého tlaku odstráni rozpúšťadlo. Zvyšok sa azeotropicky odparí s etylacetátom. Do hnedého zvyšku sa pridá etylacetát. Roztok sa odfiltruje a hnedá pevná látka sa premyje terc-butylmetyléterom. Získa sa surová sodná soľ zlúčeniny z príkladu 29. Tento surový produkt (35 g) sa rozdelí medzi vodu (200 ml) a etylacetát (350 ml). Prídavkom koncentrovanej kyseliny chlór vodíkovej (asi 7 ml) sa pH vodnej vrstvy upraví na 2. Vodná fáza sa premyje etylacetátom (2 x 100 ml). Spojené vrstvy sa vysušia síranom horečnatým a za zníženého tlaku sa z nich odstráni rozpúšťadlo, čím sa získa svetle hnedý zvyšok (31 g). Do zvyšku sa pridá etylacetát (64 ml, 2 ml/g) a diizopropyléter (155 ml, 5 ml/g). Výsledná zmes sa zahrieva na 68°C, dokiaľ nevznikne číry roztok (asi 30 minút). Po ochladení na teplotu miestnosti vykryštalizuje voľná kyselina. Po 30 minútach miešania pri teplote miestnosti sa produkt zhromaždí filtráciou a premyje diizopropyléterom. Produkt sa cez noc suší vo vákuovej sušárni pri 50°C. Získa sa 20,2 g produktu (izolačný výťažok 61 %, vzťahnuté na sodnú soľ) s teplotou tavenia 135°C (stanovené za použitia zariadenia Perkin Elmer DSC7 pri rýchlosti zahrievania 20°C/min).

V nasledujúcej tabuľke sú uvedené hlavné píky (od 2 do 40° 2-théta) PXRD obrazca. PXRD boli uskutočňované bez porovnania s vnútorným štandardom (napríklad silikónovým práškom). Polohy pík teda podliehajú možným chybám meracích prístrojov a úrovni vzorky.

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

Soli zlúčeniny z príkladu 29

Sodné soli

a) Forma s nižšou teplotou tavenia

Titulný produkt z príkladu 29 sa rozpustí v metanole (80 mg v 2,5 ml, 33 ml/g). Do vzniknutého roztoku sa pridá hydroxid sodný (0,024 ml 10M roztoku). Po odparení metanolu vykryštalizuje sodná soľ, ktorá sa používa bez ďalšieho prečistenia. Získaná soľ sa 5 hodín suší za vysokého vákua. Získa sa 85 mg soli (kvantitatívny výťažok) s teplotou tavenia 214°C (stanovené za použitia TA zariadenia DSC2910 pri rýchlosti zahrievania 10°C/min).

V nasledujúcej tabuľke sú uvedené hlavné píky (od 2 do 40° 2-théta) PXRD obrazca. PXRD boli uskutočňované bez

porovnania s vnútorným štandardom (napríklad silikónovým práškom). Polohy píkov teda podliehajú možným chybám meracích prístrojov a úrovni vzorky.

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

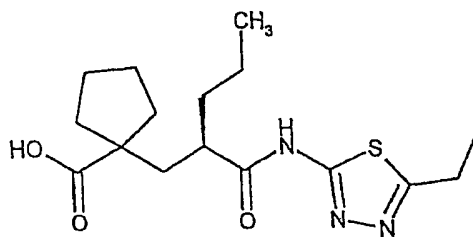
b) Forma s vyššou teplotou tavenia

Titulný produkt z príkladu 29 sa rozpustí v metanole (450 mg v 15 ml, 33 ml/g). Do vzniknutého roztoku sa pridá hydroxid sodný (1,33 ml 1M roztoku). Metanol sa odoženie za zníženého tlaku v rotačnom odparováku. Živičný zvyšok sa azeotropicky odparí raz s izopropylalkoholom (8 ml), aby sa odstránilo zvyškové množstvo metanolu a vody, a pridá sa k nej ďalšia dávka izopropylalkoholu (15 ml). Výsledná zmes sa zahrieva, dokiaľ nevznikne homogénna zmes. Po ochladení vykryštalizuje sodná soľ. Zmes sa 10 minút udržiava pri teplote miestnosti. Soľ sa odfiltruje, premyje izopropylalkoholom a 30 minút suší vo vákuovej sušiarni pri 60°C. Izoluje sa 200 mg sodnej soli s teplotou tavenia 252°C (stanovené za použitia TA zariadenia DSC2910 pri rýchlosti zahrievania 10°C/min).

V nasledujúcej tabuľke sú uvedené hlavné píky (od 2 do 40° 2-théta) PXRD obrazca. PXRD boli uskutočňované bez porovnania s vnútorným štandardom (napríklad silikónovým práškom). Polohy píkov teda podliehajú možným chybám meracích prístrojov a úrovni vzorky.

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

Titulná zlúčenina z príkladu 29 je metabolizovaná na (2R)-1-(2-[(5-etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl)-pentyl)cyklopentánkarboxylovú kyselinu.

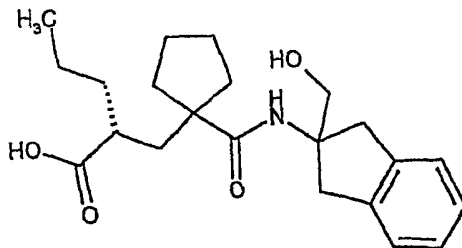


Táto zlúčenina sa pripraví nasledujúcim spôsobom:

Produkt z preparatívneho postupu 102 (430 mg, 1 mmol) sa vyberie do etanolu (5 ml) a metanolu (1 ml). Vzniknutá zmes sa 2 hodiny hydrogenuje za tlaku 206,1 kPa, potom prefiltruje cez Arbocel®. Žltý olej sa prečistí stĺpcovou chromatografiou za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu (najprv 19 : 1 a potom 9 : 1) ako elučného činidla. Získa sa produkt vo forme číreho oleja (120 mg, 35 %). ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 0,88 (t, 3H), 1,20-1,88 (m, 13H), 1,90-2,03 (m, 1H), 2,24-2,38 (m, 1H), 2,43-2,72 (m, 2H), 2,95 (q, 2H); LRMS m/z 340,2 (M+H).

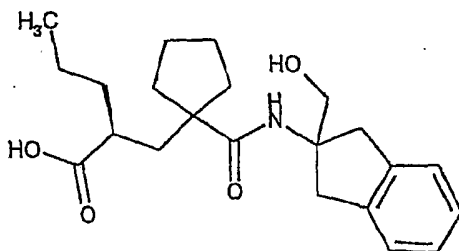
P r í k l a d 3 1

(R)-2-{[1-({[2-(Hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]metyl}pentánová kyselina a



P r í k l a d 3 2

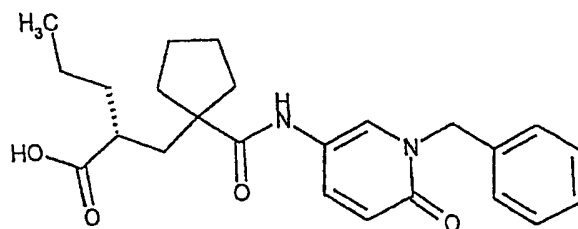
(S)-2-{[1-({[2-(Hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]metyl}pentánová kyselina



2-{[1-([2-(Hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino)karbonyl]cyklopentyl]metyl]pentánová kyselina (WO 9110644, príklad 8) sa ďalej prečistí HPLC na stĺpci AD za použitia zmesi hexánu, izopropylalkoholu a kyseliny trifluóroctovej (90 : 10 : 1) ako elučného činidla. Získa sa titulná zlúčenina z príkladu 31 (99% enantiomérny nadbytok), $[\alpha]_D = +10,4^\circ$ (c = 0,067, etanol) a titulná zlúčenina z príkladu 32 (99% enantiomérny nadbytok), $[\alpha]_D = -10,9^\circ$ (c = 0,046, etanol).

P r í k l a d 3 3

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

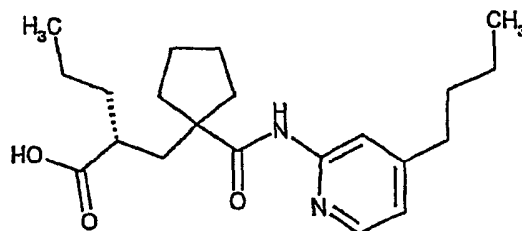


Hydrochlorid 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etylkarbodiimidu (191 mg, 1,0 mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (135 mg, 0,10 mmol), N-metylmorfolín (165 μ l, 1,5 mmol) a nakoniec amín z preparatívneho postupu 28 (150 mg, 0,69 mmol) sa pridajú do roztoku z preparatívneho postupu 2 (284 mg, 1,0 mmol) v N,N-dimetylformamide (8 ml). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri 90°C . Výsledný roztok sa ochladí a zriedi etylacetátom (90 ml) Etylacetátová zmes sa premyje vodou (4 x 50 ml) a vodným chloridom sodným (50 ml), vysuší síranom horečnatým a odparí za zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi etylacetátu a pentánu (30 : 70) ako elučného činidla. Získa

sa žltý olej (191 mg). Tento medziprodukt sa rozpustí v dichlórmetáne (3 ml). Do dichlórmetánového roztoku sa pridá trifluóroctová kyselina (3 ml). Výsledný roztok sa 5 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu (95 : 5) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme peny, 77 mg, ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,86 (t, 3H), 1,20-1,76 (m, 12H), 1,93-2,02 (m, 1H), 2,20-2,46 (m, 3H), 4,95 (d, 1H), 5,04 (d, 1H), 6,61 (d, 1H), 7,21 (m, 1 H), 7,50 (s, 1 H), 8,23 (s, 1 H); LRMS: m/z 411,6 (MH^+); $[\alpha]_D = -3,8^\circ$ ($c = 0,052$, etanol).

P r í k l a d 3 4

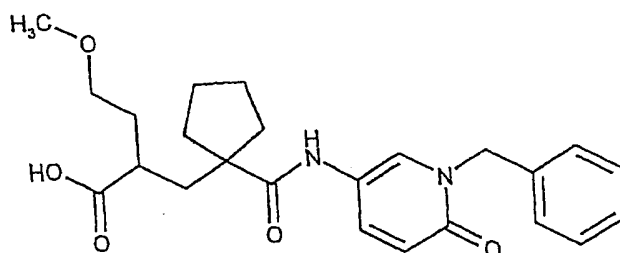
(2R)-2-[(1-{[(1-{[(4-Butyl-2-pyridinyl)amino]karbonyl}-
cyklopentyl)metyl]pentánová kyselina



Titulná zlúčenina sa získa v 43% výťažku z kyseliny z preparatívneho postupu 2 a amínu z preparatívneho postupu 30, podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 33, ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,80-1,00 (m, 6H), 1,22-1,84 (m, 18H), 2,03-2,56 (m, 3H), 2,77 (m, 1H), 7,14 (d, 1H), 8,08 (d, 1H), 8,23 (s, 1H), 11,71 (brs, 1H); LRMS: m/z 361,7 (MH^+), $[\alpha]_D = -1,4^\circ$ ($c = 0,14$, etanol).

P r í k l a d 3 5

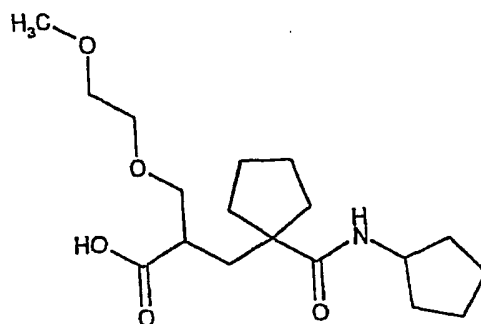
2-[(1-{[(1-Benzyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridinyl)amino]-
karbonyl}cyklopentyl)metyl]-4-metoxybutánová kyselina



Zmes benzylesteru z preparatívneho postupu 62 (850 mg, 1,64mol) a 5% palládia na uhlíku (250 mg) v 40% vodnom etanole (21 ml) sa 30 minút hydrogenuje za tlaku 206,1 kPa pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Hyflo® a filtrát sa odparí za zníženého tlaku. Penovitý zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmétánu a metanolu (97 : 3) ako elučného činidla získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bielej peny, 550 mg, 79%; ^1H NMR (DMSO- d_6 , 300MHz): δ 1,24-2,17 (m, 12H), 2,18-2,31 (m, 1H), 3,07 (s, 3H), 3,21 (t, 2H), 5,08 (s, 2H), 6,63 (d, 1H), 7,23-7,41 (m, 5H), 7,72 (d, 1H), 8,24 (s, 1H); Analýza nájdené: C, 67,46; H, 7,18; N, 6,24. $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_5$ vypočítané C, 67,58; H, 7,09; N, 6,57 %.

P r í k l a d 3 6

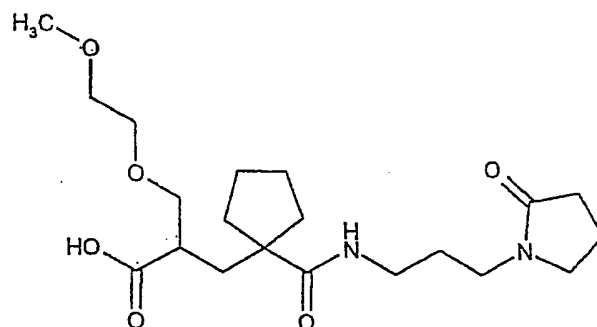
3-{1-[(Cyklopentylamino)karbonyl]cyklopentyl}-2-[(2-metoxyeoxy)metyl]propánová kyselina



Roztok terc-butylesteru z preparatívneho postupu 64 (320 mg, 0,80 mmol) v trifluóroctovej kyseline (2 ml) a dichlórmétáne (2 ml) sa 8 hodín mieša pri teplote miestnosti. Výsledná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí dvakrát s toluénom. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmétánu a metanolu (95 : 5) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme číreho oleja, 171 mg, 62%; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,29-1,40 (m, 2H), 1,42-1,69 (m, 10H), 1,75 (dd, 1H), 1,87-2,03 (m, 5H), 2,64 (m, 1 H), 3,34 (s, 3H), 3,43-3,52 (m, 3H), 3,57 (m, 2H), 3,61 (m, 1H), 4,08-4,20 (m, 1H), 5,89 (d, 1H); LRMS: m/z 340 (MH^+).

P r í k l a d 3 7

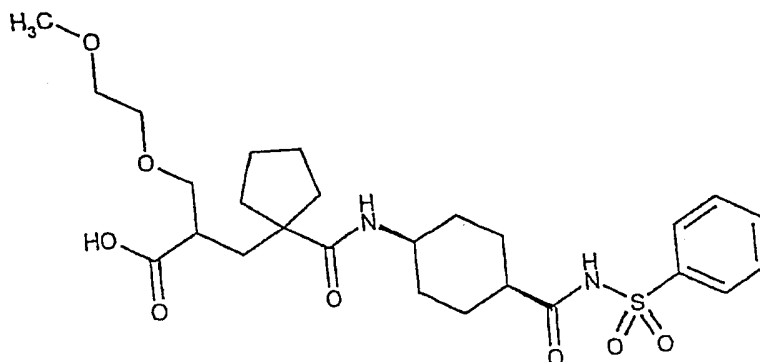
3-(2-Metoxyetoxy)-2-{[1-({[3-(2-oxo-1-pyrrolidiny)propyl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]metylpropánová kyselina



Titulná zlúčenina sa získa vo forme číreho oleja v 57% výťažku z terc-butylesteru z preparatívneho postupu 65, spôsobom opísaným v príklade 36, ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,56-1,78 (m, 8H), 1,94-2,17 (m, 6H), 2,44 (m, 2H), 2,68-2,76 (m, 1H), 3,10-3,21 (m, 1H), 3,22-3,31 (m, 1H), 3,37 (s, 3H), 3,40 (m, 2H), 3,44-3,56 (m, 5H), 3,60 (m, 2H), 3,68 (m, 1H), 6,91-7,01 (m, 1H); LRMS: m/z 398,7 (M^+).

P r í k l a d 3 8

cis-3-(2-Metoxyetoxy)-2-[(1-{[(4-{[(fenylsulfonyl)amino]-karbonyl}cyklohexyl)amínokarbonyl]cyklopentyl)metyl]propánová kyselina

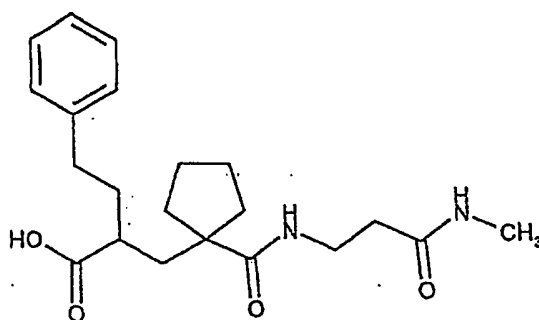


Roztok terc-butylesteru z preparatívneho postupu 66 (446 mg, 0,75 mmol) v dichlórmetáne (5 ml) a trifluóroctová kyselina (5 ml) sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom, potom s toluénom a potom s éterom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bielej peny, 385 mg, 95%; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,48-2,17 (m, 18H), 2,40 (s, 1H), 2,66 (s, 1H), 3,37 (s, 3H), 3,50-3,70 (m, 6H), 3,94 (s, 1H), 6,10 (d, 1H), 6,59 (s, 1H), 7,55 (t, 2H), 7,61 (m, 1H), 8,02 (d, 2H), 9,11 (s, 1H); Analýza nájdené:

C, 54. 88; H, 6,90; N, 5,04. $\text{C}_{26}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_8\text{S} \cdot 1,7\text{H}_2\text{O}$ vypočítané C, 57,97; H, 7,11; N, 5,20 %.

P r í k l a d 3 9

2-{[1-({[3-(Metylamíno)-3-oxopropyl]amíno}karbonyl)-cyklopentyl]metyl}-4-fenylbutánová kyselina

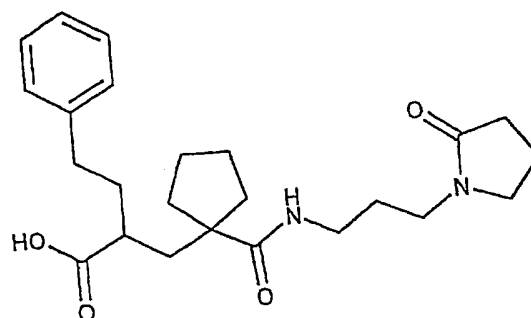


Zmes benzylesteru z preparatívneho postupu 68 (160 mg, 0,34 mmol) a 10% palládia na uhlíku (100 mg) v etanole (30 ml) sa 18 hodín hydrogenuje pri teplote miestnosti za tlaku 343,5 kPa. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Arbocel® a filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou

chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu dichlórmetán : metanol : kyselina octová (95 : 5 : 0 až 95 : 5 : 0,5). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bielej peny, 100 mg, 79%; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,40-1,70 (m, 8H), 1,95 (m, 3H), 2,10 (m, 1H), 2,35 (d, 3H), 2,59 (m, 2H), 2,75 (t, 3H), 3,42 (m, 2H), 6,25 (bs, 1H), 6,70 (bs, 1H), 7,13-7,25 (m, 5H); LRMS: m/z 375,0 (MH^+).

P r í k l a d 4 0

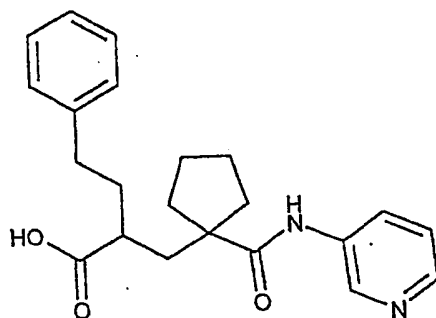
2-{[1-([3-(2-Oxo-1-pyrrolidiny)propyl]amíno)karbonyl-cyklopentyl]metyl}-4-fenylbutánová kyselina



Zmes benzylesteru z preparatívneho postupu 67 (780 mg, 1,55 mmol) a 10% palládia na uhlíku (100 mg) v zmesi etanolu a vody (90 : 10, objemovo, 30 ml) sa 1,5 hodiny hydrogenuje pri teplote miestnosti za tlaku vodíka 412,2 kPa. Katalyzátor sa odfiltruje a filtrát sa odparí za zníženého tlaku. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bielej peny, 473 mg, 74%; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,26-1,77 (m, 10H), 1,78-2,46 (m, 11 H), 2,49-2,70 (m, 2H), 2,95-3,36 (m, 4H), 6,92-7,38 (m, 5H); Anal. nájdené: C, 64,05; H, 7,73; N, 6,22. $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_4$; $0,75\text{H}_2\text{O}$ vypočítané C, 65,88; H, 7,83; N, 6,40 %.

P r í k l a d 4 1

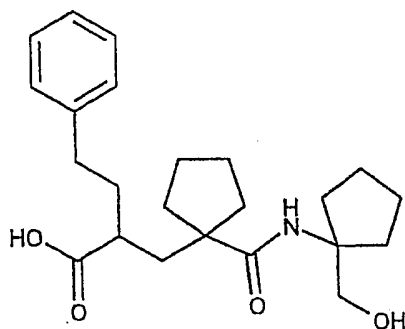
4-Fenyl-2-({1-[(3-pyridinylamino)karbonyl]- cyklopentyl}metyl)butánová kyselina



Zmes benzylesteru z preparatívneho postupu 71 (700 mg, 1,53 mmol) a 5% palládia na uhlíku (70 mg) v zmesi etanolu a vody (90 : 10 objemovo, 50 ml) sa 5 hodín hydrogenuje pri teplote miestnosti za tlaku vodíka 206,1 kPa. Katalyzátor sa odstráni filtráciou cez Arbocel® a dôkladne premyje etanolom. Filtrát sa odparí za zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu (95 : 5) ako elučného činidla. Získa sa titulná zlúčenina vo forme bielej peny, 510 mg, 91 %; s teplotou tavenia 80 až 85°C (zrútenie na živicu); ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,40-2,78 (m, 15H), 6,93-7,39 (m, 5H), 7,93 (m, 1H), 8,59 (d, 1H), 9,17 (d, 1H), 9,41 (s, 1H); Analýza nájdené: C, 70,83; H, 7,10; N, 7,64. $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 0,3\text{H}_2\text{O}$ vypočítané C, 70,94; H, 7,22; N, 7,52 %.

P r í k l a d 4 2

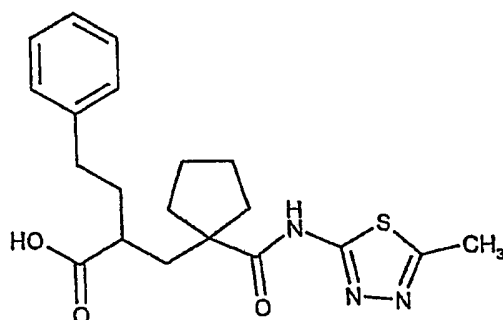
2-{[1-({[1-(Hydroxymetyl)cyklopentyl]amino}-
karbonyl)cyklopentyl]metyl}-4-fenylbutánová kyselina



Zmes benzylesteru z preparatívneho postupu 69 (118 mg, 0,25 mmol) a 10% palládia na uhlíku (100 mg) v etanole (20mol) sa 18 hodín hydrogenuje pri teplote miestnosti za tlaku 412,2 kPa. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Arbocel®. Filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bezfarebnej živice, 95 mg, 98 %; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,41-1,80 (m, 17H), 1,90 (m, 1H), 1,92-2,20 (m, 3H), 2,40 (m, 1H), 2,60 (m, 2H), 3,60 (d, 1H), 3,71 (d, 1H), 5,80 (bs, 1H), 7,15-7,30 (m, 5H); LRMS: m/z 388,1 (MH^+).

P r í k l a d 4 3

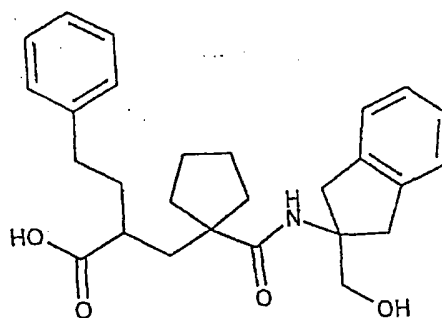
2-[(1-{[(5-Metyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amíno]karbonyl}cyklo-
penty)metyl]-4-fenylbutánová kyselina



Zmes benzylesteru z preparatívneho postupu 70 (187 mg, 0,39 mmol) a 10% palládia na uhlíku (80 mg) v etanole (20 ml) sa 18 hodín hydrogenuje za tlaku 412,2 kPa. Analýza pomocou TLC ukáže, že v zmesi je ešte prítomná východza látka. Do reakčnej zmesi sa teda pridá ďalšia dávka 10% palládia na uhlíku (100 mg) a v reakcii sa pokračuje ďalších 5 hodín. Analýza pomocou TLC znovu ukáže, že v zmesi je ešte prítomná východzia látka. Do zmesi sa teda pridá katalyzátor (100 mg) a v hydrogenácii sa pokračuje 18 hodín. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Arbocel® a filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom. Surový produkt sa prečistí chromatografiou na silikagéli za použitia stĺpca Biotage® a zmesi dichlórmetán : metanol (95 : 5) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme číreho oleja, 80 mg, 53%; ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz): δ1,51-1,89 (m, 9H), 2,03 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 2,40 (m, 2H), 2,60 (m, 5H), 7,15-7,30 (m, 5H); LRMS: m/z 387,8 (MH⁺)

P r í k l a d 4 4

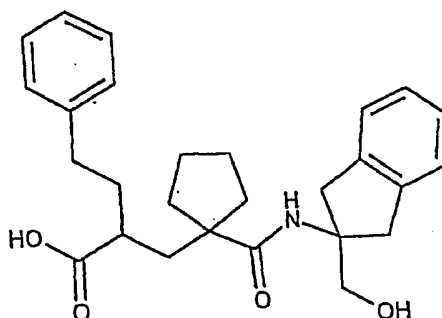
(R)-2-1-([2-(Hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)-cyklopentyl]metyl]-4-fenylbutánová kyselina



a

P r í k l a d 4 5

(S)-2-{[1-([2-(Hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]metyl}-4-fenylbutánová kyselina

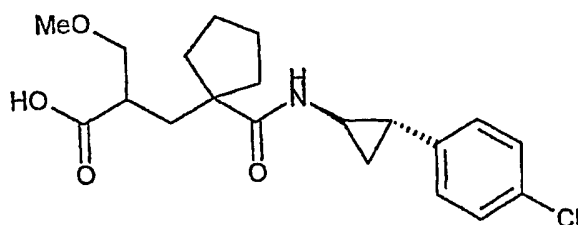


2-{[1-([2-(Hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]metyl}-4-fenylbutánová kyselina (WO 9110644, príklad 9) sa prečistí štandardným HPLC postupom za na stĺpci AD za použitia zmesi hexánu, izopropylalkoholu a kyseliny trifluóroctovej (70 : 30 : 0,2) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina z príkladu 44 (99,5% enantiomérny

nadbytok), $[\alpha]_D = +9,1^\circ$ ($c = 1,76$, etanol); a titulná zlučenina z príkladu 45 (99,5% enantioméreny nadbytok) $[\alpha]_D -10,5^\circ$ ($c = 2,2$, etanol).

P r í k l a d 4 6

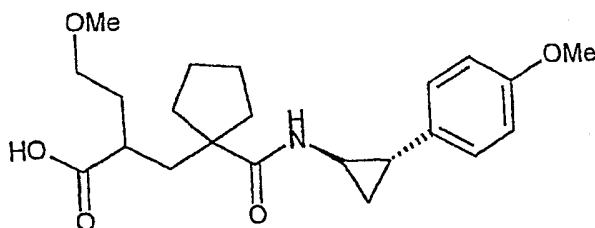
trans-3-[1-([2-(4-Chlórfenyl)cyklopropyl]amino)-
karbonyl)cyklopentyl]-2(metoxymetyl)propánová kyselina



Produkt z preparatívneho postupu 72 (160 mg, 0,39 mmol) sa vyberie do 50 ml DCM. Dichlórmétanový roztok sa ochladí na 0°C a 15 minút sa ním nechá prebublávať plynny chlór vodík. Reakčná zmes sa 16 hodín mieša pri teplote miestnosti a skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou za použitia zmesi metanolu a dichlórmétanu ako elučného činidla. Získa sa titulný produkt (18 mg, 12 %). R_f 5:95 (DCM:MeOH) 0,2; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): 1,04-1,18 (m, 2H), 1,20-1,36 (m, 2H), 1,36-1,79 (m, 7H), 1,83-2,08 (m, 4H), 2,57-2,66 (m, 1 H), 2,73-2,83 (m, 1 H), 3,27 (s, 3H, OMe), 3,32-3,41 (m, 1H), 3,48 (zrej. dd, 1H, CH_2OMe), 6,21 (s, NH), 7,03 (d, 2H, Ar), 7,18 (d, 2H, Ar); LRMS: m/z , M-H 378; HRMS nájdené MH^+ 380,1622, vypočítané MH^+ 380,1623.

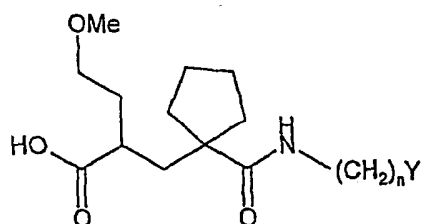
P r í k l a d 4 7

trans-3-[1-([2-(4-Metoxyfenyl)cyklopropyl]amino)-
karbonyl)cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánová kyselina



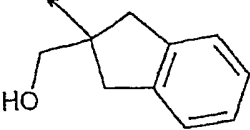
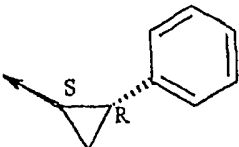
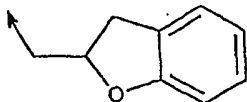
Produkt z preparatívneho postupu 81 (113 mg, 0,25 mmol) sa vyberie do 4M roztoku chlórovodíka v dioxáne (10 ml). Výsledný roztok sa 3 hodiny mieša. Reakčná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou za použitia zmesi metanolu a dichlórmetánu (5 : 95) ako elučného činidla. Získa sa kyselina vo forme bezfarebného filmu (45 mg, 44 %); R_f 95 : 5 (DCM : MeOH) 0,2; LRMS: m/z, M-H, 388; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) 1,01-1,22 (m, 2H), 1,40-2,22 (m, 15H), 2,42 2,57 (m, 1 H), 2,73-2,82 (m, 1 H), 3,23 (s, 3H, OMe), 3,27-3,44 (m, 2H), 3,72 (s, 3H, OMe), 6,12 (s, 1H, NH), 6,78 (d, 2H, Ar), 7,06 (d, 2H, Ar).

Zlúčeniny všeobecného vzorca Id, to je zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde R^1 predstavuje metoxyetyl skupinu, sa pripravia a) z uvedeného terc-butylesteru podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 47, alebo b) z uvedeného benzylesteru podobným spôsobom, aký je opísaný v príklade 42.



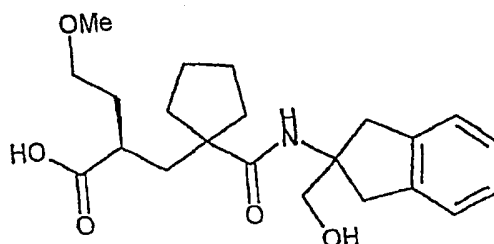
(Id)

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

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

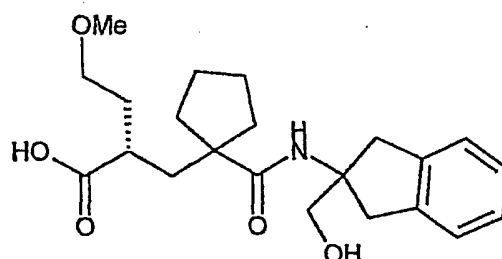
P r í k l a d 5 6

(R) -2- { [1- ({ [2- (Hydroxymetyl) -2,3-dihydro-1H-inden-2-yl] -amíno} karbonyl) cyklopentyl] metyl } -4-metoxybutánová kyselina



Pr í k l a d 5 7

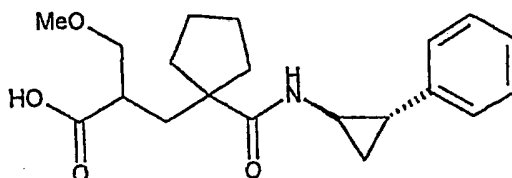
(S)-2-{[1-({[2-(Hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]metyl}-4-metoxybutánová kyselina



Produkt z príkladu 53 sa prečistí HPLC na stĺpci Chiralcel OD (250 x 20 mm) pri teplote okolia za použitia zmesi 70 % hexánu obsahujúceho 0,3 % TFA a 0,2 % DEA a 30 % IPA obsahujúceho 0,3 % TFA a 0,2 % DEA pri prietoku 10 ml/min. Ako prvý je po 6 minútach eluovaný R enantiomér z príkladu 56 (α_D 11,00, c = 1 mg/ml etanolu). Ako druhý je eluovaný S enantiomér z príkladu 57 (α_D -8,62, c = 1,07 mg/ml etanolu).

Pr í k l a d 5 8

3-Metoxy-2-{[1-({[(trans)-2-fenylcyklopropyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]metyl}propánová kyselina



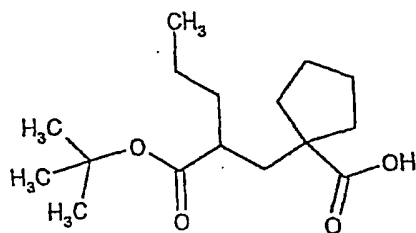
Zlúčenina uvedená v nadpise sa vyrobí spôsobom opísaným v príklade 47 z produktu získaného v preparatívnom postupe 82.

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

V nasledujúcich preparatívnych postupoch je opísaná výroba niektorých medziproduktov, ktoré sa používajú pri uskutočňovaní vyššie opísaných príkladov.

P r e p a r a t í v n y p o s t u p 1

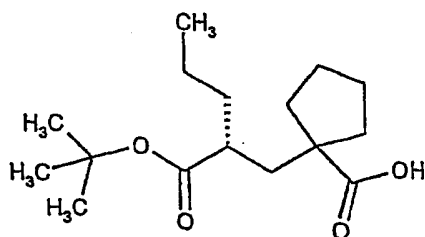
1-[2-(terc-Butoxykarbonyl)-4-fenyl]cyklopentán karboxylová kyselina



Zmes 1-[2-(terc-butoxykarbonyl)-4-pentenyl]-cyklopentánkarboxylovej kyseliny (EP 274234, príklad 44) (23g, 81,5 mmol) a 10% palládia na uhlíku (2 g) v suchom etanole (200ml) sa 18 hodín hydrogenuje za tlaku 206,1 kPa pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Arbocel® a filtrát sa odparí za zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi etylacetátu a pentánu (40 : 60) ako elučného činidla, čím sa získa titulný produkt vo forme číreho oleja, 21 g, 91 %; ^1H NMR (CDCl_3) 0,86 (t, 3H), 1,22-1,58 (m, 15H), 1,64 (m, 4H), 1,78 (dd, 1H), 2,00-2,18 (m, 3H), 2,24 (m, 1H); LRMS : m/z 283 (M-H)⁻.

P r e p a r a t í v n y p o s t u p 2

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



Zmes (R)-1-[2-(terc-butoxykarbonyl)-4-pentenyl]-cyklopentánkarboxylovej kyseliny (WO 9113054, príklad 10) (10g, 35,4 mmol) a 10% palládia na uhlíku (600 mg) v suchom etanole (25ml) sa hydrogenuje 18 hodín za tlaku 0,1 MPa pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Arbocel® a filtrát sa odparí za zníženého tlaku. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme žltého oleja, 9,6 g, 95 %; ^1H NMR (CDCl_3) 0,86 (t, 3H), 1,22-1,58 (m, 15H), 1,64 (m, 4H), 1,78 (dd, 1H), 2,00-2,18 (m, 3H), 2,24 (m, 1 H); $[\alpha]_D = -3,3^\circ$ (c = 0,09, etanol).

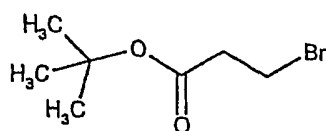
Ďalej je opísaný alternatívny spôsob prípravy titulného produktu z preparatívneho postupu 2:

Roztok produktu zo stupňa f) opísaného ďalej (1,12 kg, 4,0 mol) v etanole (6,5 litra) sa rozdelí na dve rovnaké časti, ktoré sa podrobia nasledujúcim reakčným podmienkam. Do roztoku produktu zo stupňa f) (561 g, 2,0 mol) v etanole (3,25 litra) sa pridá hydrogenačný katalyzátor (50,5 g 5% palládia na uhlíku, vlhkosť 50 %). Reakčná nádoba sa natlakuje vodíkom (206,1 kPa). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša

pri teplote miestnosti. Potom sa obidve várky spoja a filtráciou sa z nich odstráni katalyzátor. Filtračný koláč sa premyje etanolom (2 x 450 ml). Spojené filtráty sa skoncentrujú za zníženého tlaku. Vzniknutá suspenzia sa prefiltruje a pridá sa n-heptán (1 liter). Rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou za zníženého tlaku a do zvyšku sa pridá n-heptán (1 liter). Rozpúšťadlo sa odstráni destiláciou za zníženého tlaku. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (1,1 kg, 3,86 mol, 97% výťažok) vo forme žltého oleja, ktorý sa použije priamo v nasledujúcom stupni. LRMS (negatívna APCI): m/z [M-H] 283; ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 0,79-0,98 (t, 3H), 1,24-1,39 (m, 3H), 1,42-1,50 (s, 9H), 1,50-1,61, (m, 3H), 1,61-1,74 (m, 4H), 1,74-1,84 (m, 1H), 2,02-2,23 (m, 3H), 2,23-2,35 (m, 1H).

Príprava východzích látok

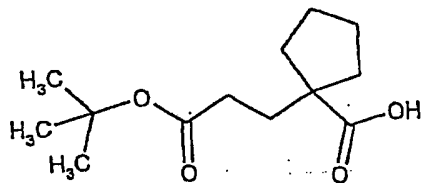
a) terc-Butyl-3-brómpropionát



Do roztoku 3-brómpropiónovej kyseliny (6,0 kg, 39,2 mol) v dichlórmétáne (60 litrov) sa pri 0°C pridá terc-butanol (0,6 litra) a koncentrovaná kyselina sírová (0,33 litra). Výsledný roztok sa ochladí na -15°C a nechá sa ním prebublávať izobutylén (11 kg, 196 mol). Reakčná zmes sa 3 hodiny mieša pri -5°C, počas 4 hodín zahreje na 20°C, pri tejto teplote 15 hodín mieša a rozloží opatrným pridaním nasýteného vodného roztoku hydrogénuhličitanu sodného (0,6M, 72 litrov, 43,2 mol). Vrstvy sa oddelia a organická vrstva sa premyje nasýteným vodným roztokom hydrogénuhličitanu sodného

(2 x 48 litra) a potom deionizovanou vodou (48 litrov). Tento premývací cyklus sa zopakuje. Meraním sa zistí, že pH vodnej vrstvy je 7. Do organickej vrstvy sa pridá uhličitan draselný (90 g, 1,5 % hmotn.) a roztok sa destiláciou za atmosferického tlaku skoncentruje na objem 9 litrov a pridá sa do neho tetrahydrofurán (40 litrov). Zostávajúci dichlórmetán sa odstráni destiláciou za atmosferického tlaku. Získa sa roztok (12 litrov) titulnej zlúčeniny (5,27 kg, 25,2 mol, 64% výťažok) v tetrahydrofuráne, ktorý sa použije priamo v nasledujúcom stupni. ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz,): δ 1,45 (s, 9H), 2,80 (t, 2H), 3,53 (t, 2H); LRMS (EI): m/z $[\text{MH}^+]$ 209 (^{79}Br).

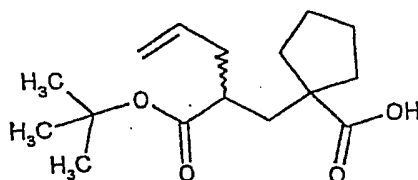
b) 1-(3-terc-Butoxy-3-oxopropyl)cyklopentánkarboxylová kyselina



Do roztoku komerčne dodaného lítiumdiizopropylamidu (20,2 kg 2M roztoku v zmesi tetrahydrofuránu, n-heptánu a etylbenzénu, 51,0 mol) sa pri -15°C opatrne počas 1 hodiny za miešania pod atmosférou dusíka pridá roztok cyklopentánkarboxylovej kyseliny (2,7 kg, 23,7 mol) v bezvodom tetrahydrofuráne (8,1 litra). Výsledný roztok sa 3 hodiny mieša pri 0°C , pričom dôjde na vylúčenie zrazeniny. Vzniknutá suspenzia sa pri -15°C počas 1,25 hodiny pridá do roztoku produktu zo stupňa a) (5,24 g, 25,1 mol) v tetrahydrofuráne (52 litrov). Po dokončení prídavku sa reakčná zmes 1 hodinu mieša pri 0°C , počas 4 hodín zahreje na 20°C , pri tejto teplote 13,5 hodiny mieša, potom ochladí na

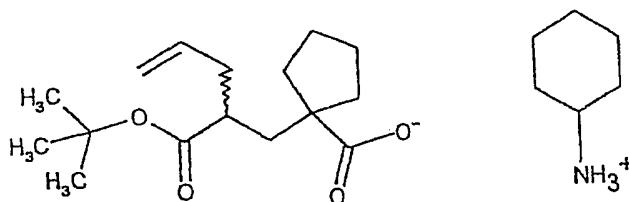
-15°C a opatrne za miešania sa do nej pridá n-heptán (27 litrov) a 5M vodná kyselina chlór vodíková (23,7 litra, 118,5 mol). Vrstvy sa oddelia a vodná fáza sa extrahuje n-heptánom (13,5 litra). Spojené organické fázy sa extrahujú 5% vodným roztokom hydrogénuhličitanu sodného (3 x 30 litrov) a potom 10% vodným roztokom uhličitanu draselného (3 x 30 litrov). Vodné extrakty sa udržuujú oddelené a skúšajú na obsah produktu. Tri extrakty vo vodnom uhličitanu draselnom sa spoja a pridá sa k nim n-heptán (27 litrov). Potom sa pH zmesi za použitia 5M vodnej kyseliny chlór vodíkovej (10,5 litra) upraví na 7 až 8. Vrstvy sa oddelia a pridá sa ďalší n-heptán (40,5 litra). Hodnota pH zmesi sa za použitia 5M vodnej kyseliny chlór vodíkovej (19,5 litra) ďalej upraví na 3. Vrstvy sa oddelia a organická vrstva sa premyje deionizovanou vodou (2 x 27 litrov). Organická fáza sa vysuší azeotropickou destiláciou za zníženého tlaku a objem rozpúšťadla sa zníži na asi 4 litre. Výsledný roztok sa za miešania ochladí na 0°C, aby sa umožnila kryštalizácia. V miešaní sa pokračuje 5 hodín pri 0°C. Produkt sa zhromaždí filtráciou. Oddelená pevná látka sa 22,5 hodiny suší za vákua pri 50°C. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (1,17 gk, 4,8 mol, 20% výťažok) vo forme kryštalickej pevnej látky s teplotou tavenia 89 až 92°C. LRMS (negatívna APCI) : m/z [M-H]⁻ 241; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 1,47 (s, 9H), 1,50-1,60 (m, 2H), 1,60-1,82 (m, 4H), 1,69-2,0 (m, 2H), 2,08-2,23 (m, 2H), 2,23-2,34 (m, 2H).

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



Do roztoku komerčne dodávaného lítiumdiizopropylamidu (7,63 kg 2M roztoku v zmesi tetrahydrofuránu, n-heptánu a etylbenzénu, 19,3 mol) v bezvodom tetrahydrofuráne (18,3 litra) sa za miešania počas 4 hodiny, keď sa teplota zmesi udržiava na -10°C , pridá produkt zo stupňa b) (2,0 g, 8,25 mol) v bezvodom tetrahydrofuráne (10 litrov). Do vzniknutého roztoku sa počas 2 hodín pridá allylbromid (1,2 kg, 9,9 mol) v tetrahydrofuráne (10 liter). Reakčná zmes sa počas 4 hodín zahreje na 20°C , pri tejto teplote 9,5 hodiny mieša a potom rozloží prídavkom vody (40 litrov). Oddelia sa dve fázy. Organická fáza sa extrahuje postupne vodou (20 liter) a 0,3M vodným roztokom hydroxidu draselného (12 litrov). K spojeným vodným fázam sa pridá n-heptán (20 litrov) a 5M vodná kyselina chlór vodíková (7,5 litra, do pH vodnej zmesi = 2). Vrstvy sa oddelia a vodné fázy sa extrahujú n-heptánom (20 litrov). Spojené organické fázy sa premyjú nasýteným vodným chloridom sodným (2 x 8,0 litra) a skoncentrujú za zníženého tlaku. Získa sa surový produkt (2,22 kg, 7,86 mol, výťažok 95 %) vo forme roztoku v n-heptáne (celková hmotnosť 12,5 kg), ktorý sa použije priamo v nasledujúcom stupni. LRMS (EI) : $[M^+ - C_4H_8]$ 226, $[M^+ - HOTBu]$ 208, $[208 - CO]$ 180; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz): δ 1,45 (s, 9H), 1,48-1,60 (m, 2H), 1,60-1,76 (m, 4H), 1,80 (dd, 1H), 2,03-2,27 (m, 4H), 2,27-2,45 (m, 2H), 5,06 (dd, 2H), 5,75 (ddt, 1 H).

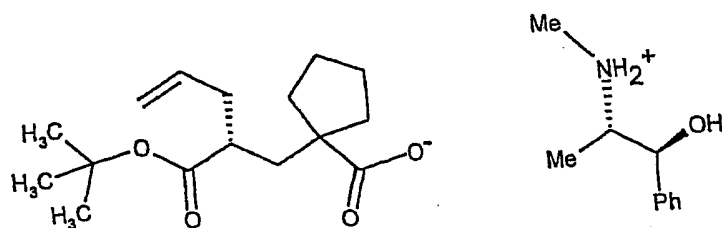
d) Cyklohexánamínium-1-[2-(terc-butoxykarbonyl)-4-pentenyl]-
cyklopentánkarboxylát



Do roztoku surového produktu zo stupňa c) (3,83 kg, 13,6 mol) v n-heptáne (23 litrov) sa počas 0,5 hodiny pridá cyklohexylamín (1,35 kg, 13,8 mol) v n-heptáne (7,0 litra). Prívodné potrubie sa premyje n-heptánom (0,7 litra, 0,2 ml/g) a premývací roztok sa pridá do reakčnej zmesi. Výsledná suspenzia sa 2 hodiny nechá granulovať pri 20°C. Pevná látka sa odfiltruje. Filtračný koláč sa premyje n-heptánom (2 x 1,9 litra) a 23 hodín suší za vákua pri 50°C. Získaná biela pevná látka (4,42 kg, 11,6 mol, 85% výťažok) sa rozpustí v etylacetáte (24 litrov, 5,4 ml/g). Výsledný roztok sa zahreje na 70°C, čím sa získa číry roztok. Tento roztok sa ochladí na 50°C a zaočkuje autentickou zlúčeninou (1 g). Suspenzia sa počas 4 hodín ochladí z 50°C na 20°C a pri tejto teplote nechá 0,5 hodiny granulovať. Pevná látka sa odfiltruje. Filtračný koláč sa premyje etylacetátom (2 x 1,8 litra). Pevný produkt sa 14,5 hodiny suší za vákua pri 45°C. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (3,76 kg, 9,85 mol, 85% izolovaný výťažok) vo forme kryštalickej pevnej látky s teplotou tavenia 129,5 až 131,0°C. Analýza nájdené: C, 69,28; H, 10,31; N, 3,60. C₂₂H₃₉NO₄ vypočítané C, 69,25; H, 10,30; N, 3,67%; ¹H NMR (CDCl₃, 300 MHz): δ 1,05-1,35 (m, 6H), 1,35-1,53 (m, 10H), 1,53-1,69 (m, 5H), 1,69-1,89 (m, 3H), 1,89-2,02 (m, 3H), 2,02-2,18 (m, 2H), 2,18-2,31 (m, 2H), 2,31-2,44 (m, 1H),

2,71-2,94 (m, 1H), 5,03 (dd, 2H), 5,73 (ddt, 1H), 6,4 (bs, 3H).

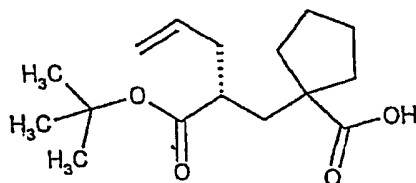
e) (1S,2S)-1-Hydroxy-N-metyl-1-fenyl-2-propánamínium-1-
-[(2R)-2-(terc-butoxykarbonyl)-4-pentenyl]cyklopentán-
karboxylát



Do zmesi vody (22,6 litra) a n-heptánu (22,6 litra) sa za miešania pridá produkt zo stupňa d) (3,76 kg, 9,85 mol). Do výslednej zmesi sa pridáva 5M vodná kyselina chlór vodíková, dokiaľ sa pH vodnej vrstvy nezníži na 3. Vrstvy sa oddelia a vodná fáza sa extrahuje ďalším n-heptánom (2 x 22,6 litra). Spojené organické extrakty sa premyjú nasýteným vodným roztokom chloridu sodného (3,8 litra, 10 ml/g) a skoncentrujú za zníženého tlaku na celkový objem roztoku 20,3 litra. Do tohto roztoku sa za miešania pridá (1S,2S)-(+)-pseudoefedrín (1,63 kg, 9,86 mol, 1,0 ekv.). Vzniknutá suspenzia sa zahrieva na 80°C, dokiaľ nedôjde na úplné rozpustenie. Výsledný roztok sa 20 minút udržiava pri tejto teplote, potom ochladí na 45°C a pridá sa k nemu vzorka očkovacích kryštálov (0,2 g). Suspenzia sa počas 2 hodín ochladí na 0°C, nechá 4 hodiny granulovať a prefiltruje. Filtračný koláč sa premyje n-heptánom (3 x 0,5 litra) a 23 hodín suší za vákua pri 40 až 45°C. Získa sa biela pevná látka (2,15 kg, 4,8 mol, 49% výťažok). Suspenzia tejto látky (2,15 kg, 4,8 mol) v n-heptáne (10,8 litra) sa zahreje na 80°C, čím sa získa čirý roztok. Tento roztok sa po 10

minútach pri tejto teplote ochladí na 60°C a pridá sa k nemu vzorka očkovacích kryštálov (1 g). Výsledná suspenzia sa počas 2 hodín ochladí na 20°C a 1,5 hodiny nechá granulovať pri tejto teplote. Pevná látka sa odfiltruje, premyje n-heptánom (2 x 0,59 litra) a 17,5 hodiny suší za vákua pri 50°C. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (1,80 kg, 4,0 mol, izolovaný výťažok 84 %) vo forme bielej kryštalickej pevnej látky s teplotou tavenia 109 až 110°C. Analýza nájdené: C, 69,48; H, 9,25; N, 3,17. $C_{26}H_{41}NO_5$ vypočítané C, 69,77; H, 9,23; N, 3,17%; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 1,05 (d, 3H), 1,34-1,55 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,55-1,73 (m, 4H), 1,82-2,03 (m, 2H), 2,03-2,21 (m, 2H), 2,21-2,35 (m, 2H), 2,35-2,41 (m, 1H), 2,60 (s, 3H), 3,03 (pent, 1 H), 4,52 (d, 1 H), 5,03 (dd, 2H), 5,76 (ddt, 1 H), 7,21-7,45 (m, 5H).

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

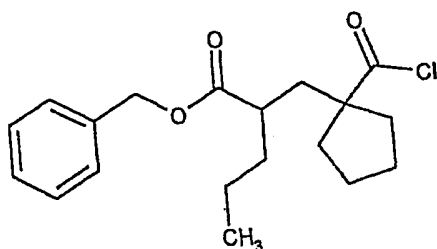


Do zmesi deionizovanej vody (10,8 litra) a n-heptánu (10,8 litra) sa pridá produkt zo stupňa e) (1,80 kg, 4,0 mol) a 5M vodná kyselina chlór vodíková (1,3 litra, 6,5 mol, do pH vodnej zmesi = 3). Vrstvy sa oddelia a vodná vrstva sa extrahuje n-heptánom (2 x 10,8 litra). Spojené organické vrstvy sa premyjú vodným roztokom chloridu sodného (1,8 litra) a skoncentrujú destiláciou za atmosferického tlaku na objem 6,4 litra, hneď potom sa k nim pridá etanol (18,0 litra). Vzniknutý roztok sa znovu skoncentruje destiláciou za

atmosferického tlaku. Získa sa titulná zlúčenina (1,14 kg, 4,0 mol, 100% izolovaný výťažok) vo forme roztoku v etanole (celkový objem 6,4 litra), ktorý sa priamo použije v nasledujúcom stupni (pozri vyššie). LRMS (EI): $[M^+-C_4H_8]$ 226, $[M^+-HOTBu]$ 208, $[208-CO]$ 180; 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ 1,45 (s, 9H), 1,48-1,60 (m, 2H), 1,60-1,76 (m, 4H), 1,80 (dd, 1H), 2,03-2,27 (m, 4H), 2,27-2,45 (m, 2H), 5,06 (dd, 2H), 5,75 (ddt, 1H).

P r e p a r a t í v n y p o s t u p 3

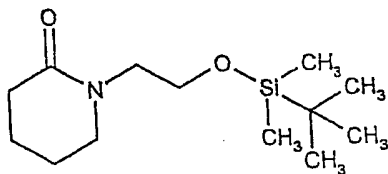
Benzyl-2-{[1-(chlórkarbonyl)cyklopentyl]metyl}pentanoát



Do ľadom chladeného roztoku 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]-pentyl}cyklopentánkarboxylovej kyseliny (EP 274234, príklad 16) (2,0 g, 6,3 mmol) v suchom dichlórmétáne (20 ml) sa pridá oxalylchlorid (1,15 ml, 13,2 mmol). Výsledný roztok sa 2 hodiny mieša pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmétánom (3x). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme zlatého oleja (2,1 g). 1H NMR ($CDCl_3$, 300MHz): δ 0,88 (t, 3H), 1,28 (m, 2H), 1,43 (m, 2H), 1,63 (m, 6H), 2,00 (m, 1H), 2,08-2,35 (m, 3H), 2,44 (m, 1H), 5,15 (s, 2H), 7,28 (m, 5H).

P r e p a r a t í v n y p o s t u p 4

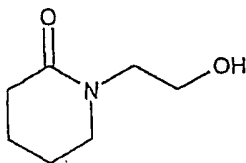
1-(2-{[terc-Butyl(dimetyl)silyl]oxy}etyl)-2-piperidinón



Hydrid sodný (807 mg, 60% disperzia v minerálnom oleji, 20,18 mmol) sa po častiach pod atmosférou dusíka pridá do roztoku d-valerolaktámu (2,0 g, 20,2 mmol) v tetrahydrofuráne (100 ml). Do vzniknutej zmesi sa po častiach pridá (2-brómetoxy)-(terc-butyl)dimetylsilán (od Aldrich Chemical Co.) (4,33 ml, 20,2 mmol). Reakčná zmes sa 18 hodín zahrieva na 70°C, ochladí a pridá sa k nej voda (50 ml). Výsledná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku na žltý olej. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu dichlórmetán : metanol (98: 2 až 97: 3). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise, 3,25 g; ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,00 (s, 6H), 0,83 (s, 9H), 1,75 (m, 4H), 2,35 (m, 2H), 3,39 (m, 4H), 3,75 (t, 2H); LRMS: m/z 257,9 (M^+).

P r e p a r a t í v n y p o s t u p 5

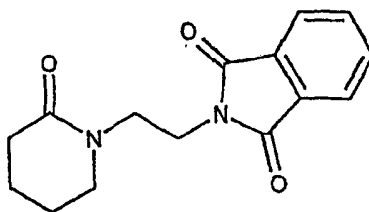
1-(2-Hydroxyetyl)-2-piperidinón



Tetra-n-butylamóniumfluorid (14 ml 1M roztoku v tetrahydrofuráne, 14 mmol) sa pridá do roztoku laktámu z preparatívneho postupu 4 (3,3 g, 12,8 mmol) v tetrahydrofuráne (50 ml). Reakčná zmes sa 2 hodiny mieša pri teplote miestnosti a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom a prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu dichlórmetán : metanol (97 : 3 až 95 : 5). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme oleja. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,80 (m, 4H), 2,40 (t, 2H), 3,38 (t, 2H), 3,42 (t, 1H), 3,56 (t, 2H), 3,80 (t, 2H).

P r e p a r a t í v n y p o s t u p 6

2-[2-(2-Oxo-1-piperidiny)etyl]-1H-izoindol-1,3(2H)-dión

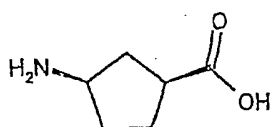


Ftalimid (952 mg, 6,47 mmol) sa pridá do roztoku produktu z preparatívneho postupu 5 (842 mg, 5,88 mmol) v tetrahydrofuráne (30 ml). Vzniknutá zmes sa sonikuje, dokiaľ nevznikne roztok. Do tohto roztoku sa pridá trifenyľfosfín na polymérnom nosiči (2,5 g, 7,5 mmol) a dietylazodikarboxylát (1,15 ml, 7,31 mmol). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti, prefiltruje cez Arbocel® a filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu etylacetát : pentán (70 : 30 až 100 : 0). Získa sa zlúčenina

uvedená v nadpise vo forme bielej peny, 1,6g (obsahujúca nečistoty); ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,60-1,80 (m, 4H), 2,17 (m, 2H), 3,30 (m, 2H), 3,60 (m, 2H), 3,83 (m, 2H), 7,62 (m, 2H), 7,79 (m, 2H); LRMS: m/z 273,2 (MH^+).

P r e p a r a t í v n y p o s t u p 7

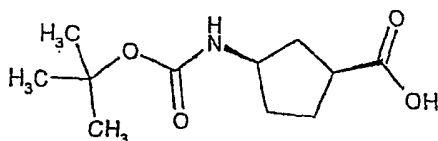
(1S,3R)-3-Aminocyklopentánkarboxylová kyselina



Oxid platiny (1 g) sa pridá do roztoku (1R,4S)-4-amínocyklopent-2-enkarboxylovej kyseliny (Taylor et al., J. Chem. Soc., Chem. Commun. (1990), (16), 1120-1) (5,3 g, 41,7 mmol) vo vode (70 ml). Výsledná zmes sa 18 hodín hydrogenuje za tlaku 309,15 kPa pri teplote miestnosti, potom prefiltruje cez Arbocel® a filtrát sa odparí za zníženého tlaku. Zvyšok sa azeotropicky odparí s toluénom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme špinavo bielej pevnej látky. ^1H NMR (D_2O , 400MHz): δ 1,70-1,92 (m, 3H), 2,00 (m, 2H), 2,18 (m, 1H), 2,77 (m, 1H), 3,68 (m, 1H); LRMS: m/z 129,8 (MH^+).

P r e p a r a t í v n y p o s t u p 8

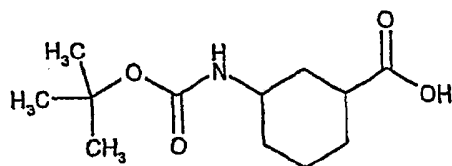
(1S,3R) - [(terc-Butoxykarbonyl)amino]cyklopentánkarboxylová kyselina



Diterc-butylidikarbonát (10 g, 45,8 mmol) sa pridá do ľadom chladenho roztoku produktu z preparatívneho postupu 7 (5,4 g, 41,8 mmol) v dioxáne (42,5 ml) a roztoku hydroxidu sodného (42,5 ml, 1M, 42,5 mmol). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom skoncentruje za zníženého tlaku, aby sa odstránil dioxán. Zvyšok sa 2M kyselinou chlór vodíkovou okyslí na pH 2. Vodný roztok sa extrahuje etylacetátom (5 x 100 ml). Spojené organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým a odparia za zníženého tlaku. Biely pevný zvyšok sa triture s hexánom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise, 8,0 g, 83 %. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,41 (s, 9H), 1,58-2,06 (m, 5H), 2,21 (m, 1H), 2,84 (m, 1H), 4,01 (m, 1H), 4,84 (m, 1H); LRMS: m/z 228 (M-H^-).

P r e p a r a t í v n y p o s t u p 9

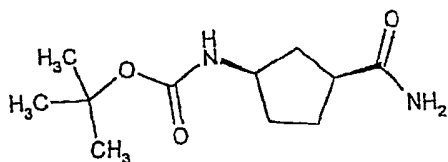
3-[(terc-Butoxykarbonyl)amino]cyklohexánkarboxylová kyselina



Titulná zlúčenina sa získa vo forme bielej pevnej látky (výťažok 81 %) z 3-aminocyklohexánkarboxylovej kyseliny spôsobom opísaným v preparatívnom postupe 8. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,04 (m, 1H), 1,19-1,50 (m, 13H), 1,83 (m, 1H), 1,97 (m, 2H), 2,24 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 3,44 (bs, 1H), 4,42 (bs, 1H).

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

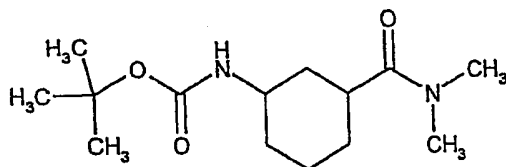
terc-Butyl- (1R,3S) -3- (amínokarbonyl)cyklopentylkarbamát



Benzotriazol-1-yloxytris (pyrrolidino) fosfoniumhexafluórfosfát (3,4 g, 6,54 mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (883 mg, 6,54 mmol), chlorid amónny (467 mg, 8,72 mmol) a N-etyldiizopropylamín (3,04 ml, 17,5 mmol) sa postupne pridávajú do roztoku kyseliny z preparatívneho postupu 8 (1,0 g, 4,37 mmol) v N,N-dimetylformamide (16 ml). Reakčná zmes sa 2 hodiny mieša pri teplote miestnosti, potom zriedi etylacetátom (100 ml), premyje vodou (3x) a vodným chloridom sodným, vysuší síranom horečnatým a odparí za zníženého tlaku. Živičný zvyšok sa prečistí chromatografiou na stĺpci Biotage® za použitia elučného gradientu dichlórmétán : metanol (98 : 2 až 95 : 5). Produkt sa tritureje s éterom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bielej pevnej látky (438 mg, 44 %). ^1H NMR (DMSO-d_6 , 400MHz): δ 1,34 (s, 9H), 1,40 (m, 2H), 1,64 (m, 3H), 1. 90, (m, 1H), 2,55 (m, 1H), 3,70 (m, 1H), 6,70 (bs, 1H), 6,80 (d, 1H), 7,22 (bs, 1H).

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

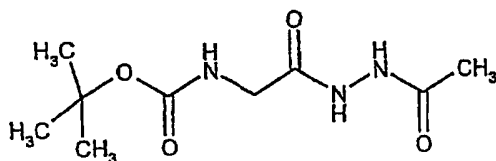
terc-Butyl 3-[(dimetylamino)karbonyl]cyklohexylkarbamát



Hydrochlorid 1-(3-dimetylamínopropyl)-3-etylkarbodiimidu (1,19 g, 6,19 mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (840 mg, 6,19 mmol), N-metylmorfolín (1,1 ml, 10,1 mmol) a nakoniec 33% etanolícky dimetylamín (1,5 ml) sa pridajú do roztoku kyseliny z preparatívneho postupu 9 (1,37 g, 5,6 mmol) v N,N-dimetylformamide (30 ml). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa zriedi etylacetátom a etylacetátová zmes sa premyje vodou (2x), vysuší síranom horečnatým a odparí za zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu metanol : dichlórmetán (5 : 95 až 10 : 90). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise, 998 mg, 66%. ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ : 1,12 (m, 1H), 1,40 (m, 11H), 1,70 (m, 2H), 1,85 (m, 1H), 2,00 (m, 2H), 2,62 (m, 1 H), 2,96 (s, 3H), 3,05 (s, 3H), 3,50 (m, 1 H), 4,50 (m, 1 H).

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

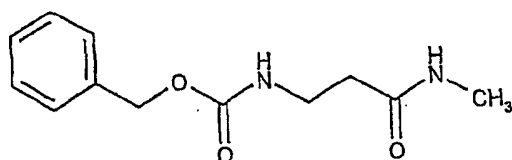
terc-Butyl-2-(2-acetylhydrazino)-2-oxoethylkarbamát



2-Etoxy-1-etoxykarbonyl-1,2-dihydrochinolín (7,06 g, 28,5 mmol) sa pridá do roztoku N-terc-butoxykarbonylglycínu (5,0g, 28,6 mmol) v dichlórmetáne (75 ml). Vzniknutý roztok sa 15 minút mieša a pridá sa k nemu acetylhydrazid (2,6 g, 35,1 mmol). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti. Vylúčená zrazenina sa odfiltruje a vysuší za vákua. Získa sa biela kryštalická pevná látka (2,42 g). Filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa zriedi éterom. Vylúčená zrazenina sa odfiltruje a vysuší za vákua. Získa sa ďalší produkt vo forme bielej pevnej látky (4,4 g, celkový výťažok 67 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,41 (s, 9H), 2,02 (s, 3H), 3,87 (d, 2H), 5,22 (bs, 1H), 8,27 (bs, 1 H), 8,84 (bs, 1 H); LRMS: m/z 249,2 (MNH_4^+); Analýza nájdené: C, 46,41; H, 7,36; N, 17,98, $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4$ vypočítané C, 46,66; H, 7,41; N, 18,13 %.

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

Benzyl-3-(metylamino)-3-oxopropylkarbamát

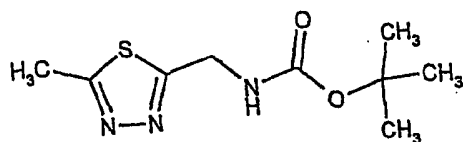


Zmes N-[(benzyloxy)karbonyl]-p-alanínu (10 g, 44,8 mmol), hydrochlorid metylamínu (3,33 g, 49,28 mol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (6,05 g, 44,8 mmol), hydrochlorid 1-(3-dimetylamínopropyl)-3-etylkarbodiimidu (10,3 g, 53,76 mmol) a N-metylmorfolínu (11,33 ml, 103 mmol) v dichlórmetáne (200 ml) sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti. Vzniknutá zrazenina sa odfiltruje. Získa sa požadovaný produkt vo forme bezfarebnej peny. Filtrát sa odparí za zníženého tlaku a

zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu etylacetát : hexán (90 : 10 až 100 : 0). Získa sa ďalší produkt (7,96 g, celkom 75 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ : 2,42 (t, 2H), 2,80 (s, 3H), 3,50 (m, 2H), 5,21 (s, 2H), 5,49 (bs, 1 H), 5,63 (bs, 1H), 7,36 (m, 5H); Analýza nájdené: C, 60,68; H, 7,00; N, 11,95. $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$ vypočítané C, 61,00; H, 6,83; N, 11,86 %.

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

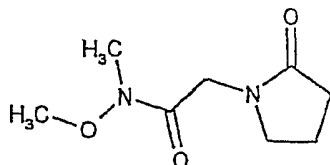
terc-Butyl-(5-metyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)metylkarbamát



Do roztoku hydrazidu z preparatívneho postupu 12 (500 mg, 2,16 mmol) v tetrahydrofuráne (40 ml) sa pridá Lawessonovo činidlo (960 mg, 2,38 mmol). Reakčná zmes sa 3 hodiny zahrieva k spätnému toku, potom 18 hodín mieša pri teplote miestnosti a odparí za zníženého tlaku. Zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu etylacetát : pentán (70 : 30 až 80 : 20), čím sa získa olej. Do tohto oleja sa pridá etylacetát (100 ml) a aktívne uhlie (2 g). Výsledná zmes sa 10 minút mieša a potom prefiltruje. Filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme kryštalickej pevnej látky (441 mg, 89 %); ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,45 (s, 9H), 2,77 (s, 3H), 4,66 (d, 2H), 5,22 (bs, 1 H); LRMS: m/z 230,1 (MH^+).

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

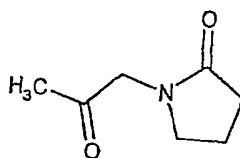
N-Metoxy-N-metyl-2-(2-oxo-1-pyrrolidiny)acetamid



2-Chlór-N-metoxý-N-metylacetamid (od Aldrich Chemical Co.) (3,2 g, 23,3 mmol) sa pridá k suspenzii 2-pyrrolidinónu (2,0 g, 23,5 mmol) a hydridu sodného (940 mg, 60% disperzia v minerálnom oleji, 23,5 mmol) v tetrahydrofuráne (60 ml). Reakčná zmes sa 48 hodín mieša pri teplote miestnosti, potom rozloží vodou (150 ml) a extrahuje etylacetátom (200 ml) a dichlórmetánom (200 ml). Spojené organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým a odparia za zníženého tlaku. Zvyšok sa tritureje s hexánom a potom s éterom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bielych kryštálov (1,8 g, 41 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 2,02 (m, 2H), 2,40 (t, 2H), 3,17 (s, 3H), 3,48 (t, 2H), 3,72 (s, 3H), 4,19 (s, 2H); LRMS: m/z 186,9 (MH^+).

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

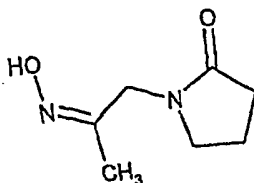
1-(2-Oxopropyl)-2-pyrrolidinón



Metylmagnéziumbromid (2,7 ml, 3M v tetrahydrofuráne, 8,1 mmol) sa pridá k chladenému (-20°C) roztoku amidu z preparatívneho postupu 15 (1,5 g, 8,1 mmol) v tetrahydrofuráne (50 ml). Reakčná zmes sa nechá zahriať na teplotu miestnosti, hodinu mieša a rozloží prídavkom vodného roztoku chloridu amónneho a extrahuje etylacetátom (3 x 50 ml). Spojené organické roztoky sa vysušia síranom horečnatým a odparia za zníženého tlaku. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme oleja (645 mg, 56 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 2,07 (m, 2H), 2,17 (s, 3H), 2,42 (t, 2H), 3,42 (t, 2H), 4,10 (s, 2H).

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

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

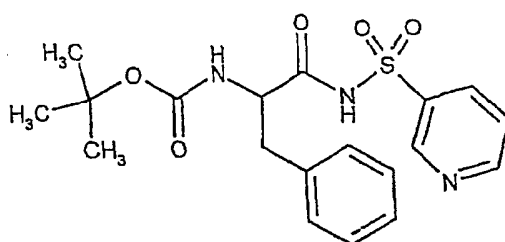


Do roztoku amidu z preparatívneho postupu 16 (643 mg, 4,55 mmol) v etanole (30 ml) sa pridá hydrochlorid hydroxylamínu (316 mg, 4,55 mmol) a potom pyridín (370 μl , 4,55 mmol). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom odparí za zníženého tlaku. Zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu dichlórmetán : metanol (97 : 3 až 90 : 10). Produkt sa triture s éterom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bielej pevnej látky (375 mg, 53 %). ^1H NMR (DMSO-d_6 , 400MHz): δ 1,60 (s, 3H), 1,87 (m, 2H),

2,20 (t, 2H), 3,19 (t, 2H), 3,78 (s, 2H), 10,77 (s, 1H);
LRMS: m/z 157,4 (MH⁺).

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

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

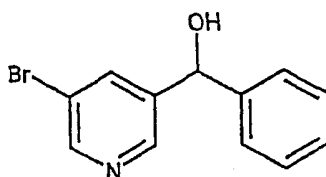


Hydrochlorid 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etylkarbodiimidu (939 mg, 4,9 mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (562 mg, 4,15 mmol) a N-metylmorfolín (952 mg, 9,42 mmol) sa pridajú k ľadovo chladnému roztoku N-terc-butoxykarbonyl-L-fenylalanínu (1,0 g, 3,77 mmol) v dichlórmetáne (20 ml). Vzniknutá zmes sa 15 minút mieša a pridá sa k nej pyridinsulfónamid (Mon. für chemie; 72; 77; 1938) (596 mg, 3,77 mmol). Reakčná zmes sa 24 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom odparí za zníženého tlaku. Zvyšok sa rozdelí medzi etylacetát (50 ml) a vodu (50 ml). Vrstvy sa oddelia. Vodná vrstva sa extrahuje etylacetátom a potom dichlórmetánom. Spojené organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým a odparia za zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí dvakrát stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu etylacetát : etanol (100 : 0 až 90 : 10). Získa sa požadovaný produkt vo forme bielej peny, (1,01 g, 66 %). ¹H NMR (DMSO-d₆, 300MHz): δ 1,30 (s, 9H), 2,77 (m, 1 H), 2,97 (m, 1 H), 3,84 (m, 1 H), 5,95 (bs, 1 H), 6,96

(m, 2H), 7,08 (m, 3H), 7,42 (m, 1H), 8,05 (d, 1H), 8,60 (d, 1H), 8,84 (m, 1H); $[\alpha]_D = -10^\circ$ (0,1% roztok v metanole).

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

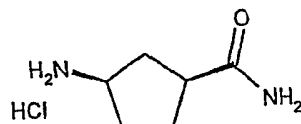
(5-Bróm-3-pyridinyl) (fenyl)metanol



n-Butyllítium (17 ml, 2,5M v hexánoch, 42,5 mmol) sa prikvapká k chladenému roztoku 3,5-dibrómpyridínu (10 g, 42,2 mmol) v éteri (200 ml) tak, aby sa vnútorná teplota udržala pod -70°C . Reakčná zmes sa 15 minút mieša a prikvapká sa k nej roztok benzaldehydu (4,5 g, 42,5 mmol) v éteri (20 ml) tak, aby sa teplota udržala pod -70°C . Reakčná zmes sa 15 minút mieša, počas hodiny nechá zahriať na teplotu miestnosti a rozloží prídavkom 0,9M roztoku chloridu amónneho (200 ml). Vrstvy sa oddelia a vodná fáza sa extrahuje éterom. Spojené organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým a odparia za zníženého tlaku. Žltý olejovitý zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu dichlórmétán : éter (95 : 5 až 80 : 20). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme žltého oleja (7,6 g, 68 %). ^1H NMR (D_2O , 300MHz): δ 5,80 (s, 1H), 7,37 (m, 5H), 7,90 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,44 (s, 1H).

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

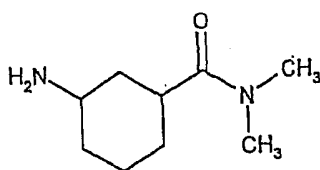
Hydrochlorid (1S,3R)-3-aminocyklopentánkarboxamidu



Ľadovo chladným roztokom amidínu z preparatívneho postupu 10 (438 mg, 1,92 mmol) v dichlórmetáne (50 ml) sa 10 minút nechá prebublávať plynný chlór vodík. Výsledná suspenzia sa 2 hodiny mieša pri teplote miestnosti. Zmes sa premyje dusíkom a odparí za zníženého tlaku. Zvyšok sa tritureuje s éterom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme pevnej látky. ^1H NMR (D_2O , 400MHz): δ 1,63-1,82 (m, 3H), 1,92-2,07 (m, 2H), 2,19 (m, 1H), 2,82 (m, 1H), 3,62 (m, 1H).

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

3-Amino-N,N-dimetylcyklohexánkarboxamid

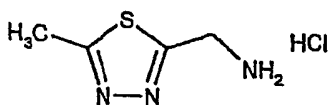


Roztok amidu z preparatívneho postupu 11 (997 mg, 3,69 mmol) v trifluóroctovej kyseline (8 ml) a dichlórmetáne (8 ml) sa 4 hodiny mieša pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa rozdelí medzi dichlórmetán (25 ml) a vodný roztok hydrogénuhličitanu sodného (25 ml). Hodnota pH sa za použitia roztoku hydroxidu sodného upraví na 9. Vrstvy sa oddelia a vodná fáza sa odparí

za zníženého tlaku. Pevný zvyšok sa trituruje s horúcim etylacetátom. Získaná suspenzia sa prefiltruje a filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmétanu, metanolu a 0,88 amoniaku (84 : 14 : 2) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bezfarebného oleja (346 mg, 55 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,08 (m, 1H), 1,25-1,54 (m, 6H), 1,72 (m, 1 H), 1,86 (m, 2H), 2,53-2,75 (m, 2H), 2,96 (s, 3H), 3, 03 (s, 3H).

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

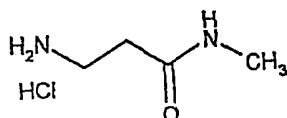
Hydrochlorid (5-Metyl-3,4-tiadiazol-2-yl)metylamínu



Ľadovo chladným roztokom tiadiazolu z preparatívneho postupu 14 (425 mg, 1,85 mmol) v dichlórmétáne (50 ml) sa 15 minút nechá prebublávať plynný chlórôvodík. Reakčná zmes sa 1 hodinu mieša pri teplote miestnosti. Zmes sa premyje dusíkom a odparí za zníženého tlaku. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bielej pevnej látky. ^1H NMR (DMSO-d_6 , 400MHz): δ 2,75 (s, 3H), 4,48 (m, 2H), 8,80 (bs, 3H).

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

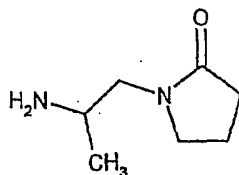
Hydrochlorid 3-amino-N-metylpropánamidu



Zmes benzylkarbamátu z preparatívneho postupu 13 (7,92 g, 33,5 mmol) a 5% palládia na uhlíku (800 mg) v etanole (300 ml) sa 4 hodiny hydrogenuje za tlaku 343,5 kPa pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Arbocel®. Filtračná vrstva sa premyje etanolom a premývací roztok sa spojí s filtrátom. Filtráty sa odparia za zníženého tlaku. Zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (4,66 g). ^1H NMR (DMSO-d_6 , 300MHz): δ 2,46 (t, 2H), 2,60 (s, 3H), 2,95 (m, 2H), 7,98-8,16 (m, 2H).

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

1-(2-Aminopropyl)-2-pyrrolidinón

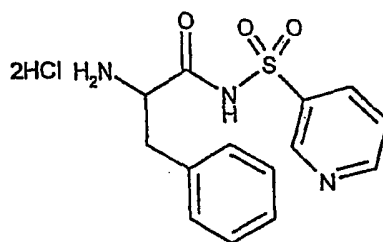


Zmes oximu z preparatívneho postupu 17 (375 mg, 2,40 mmol) a oxidu platiny (300 mg) v etanole sa 18 hodín hydrogenuje za tlaku 412,2 kPa. Analýza pomocou TLC ukáže, že v zmesi je ešte prítomná východzia látka. Do zmesi sa teda pridá ďalší oxid platiny (100 mg) a v reakcii sa pokračuje ďalšie 4 hodiny. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Arbocel® a filtrát sa odparí za zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu dichlórmetán : metanol : 0,88 amonial (95 : 5 : 0,5 až 90 : 10 : 1). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme číreho oleja (170 mg, 50 %). ^1H NMR (CDCl_3 ,

400MHz): δ 1,02 (d, 3H), 1,36 (bs, 2H), 2,00 (m, 2H), 2,38 (t, 2H), 3,00-3,16 (m, 2H), 3,21 (m, 1H), 3,35-3,45 (m, 2H); LRMS : m/z 143 (MH^+).

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

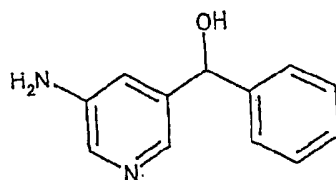
Dihydrochlorid N-(2-Amino-3-fenylpropanoyl)pyridinsulfónamidu



Nasýtený roztok kyseliny chlórovodíkovej v éteri (40 ml) sa pridá k ľadovo chladnému roztoku sulfónamidu z preparatívneho postupu 18 (959 mg, 2,37 mmol) v etylacetáte (30 ml) a éteri (10 ml). Výsledný roztok sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom (3x). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bielej pevnej látky (959 mg). 1H NMR ($DMSO-d_6$, 300MHz): δ 3,23-3,50 (m, 1H), 3,70-3,98 (m, 1H), 4,13 (m, 1H), 7,05 (m, 2H), 7,20 (m, 3H), 7,78 (m, 1H), 8,36 (d, 1H), 8,44 (bs, 2H), 8,95 (d, 1H), 9,02 (s, 1H); $[a]_D = +138^\circ$ (0,5% roztok v metanole).

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

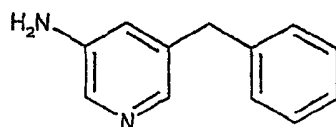
(5-Amíno-3-pyridinyl) (fenyl)metanol



Zmes bromidu z preparatívneho postupu 19 (2,0 g, 7,60 mmol) a pentahydrátu síranu meďnatého (350 mg, 1,40 mmol) v 0,88 amoniaku (18 ml) sa v uzavrenej nádobe 24 hodín zahrieva na 135°C. Vzniknutý roztok sa ochladí a pridá sa k nemu roztok hydroxidu sodného (1M, 10 ml). Výsledná zmes sa extrahuje éterom (6x). Spojené organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým a skoncentrujú za zníženého tlaku. Vytvorená zrazenina sa odfiltruje, premyje éterom a vysuší. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme pevnej látky (1,25g, 83 %) s teplotou tavenia 92 až 94°C. ¹H NMR (DMSO-d₆, 300MHz): δ 5,22 (s, 2H), 5,59 (d, 1H), 5,86 (d, 1H), 6,83 (s, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,34 (m, 4H), 7,78 (m, 2H).

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

5-Benzyl-3-pyridinylamín

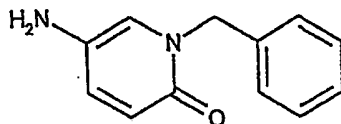


Zmes alkoholu z preparatívneho postupu 26 (700 mg, 3,5 mmol) a 5% palládia na uhlíku (70 mg) v kyseline chlór vodíkovej (5 ml, 1M) a etanole (20 ml) sa 6 hodín

hydrogenuje pri teplote miestnosti za tlaku 206,1 kPa. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Arbocel® a filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa zalkalizuje vodným roztokom hydrogénuhličitanu sodného a extrahuje dichlórmetánom (3x). Spojené organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým a odparia za zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmetánu, metanolu a 0,88 amoniaku (92 : 8 : 0,4) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme pevnej látky (500 mg, 78 %) s teplotou tavenia 107 až 109°C. ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 3,61 (bs, 2H), 3,94 (s, 2H), 6,78 (s, 1 H), 7,24 (m, 5H), 7,98 (s, 2H).

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

5-Amíno-1-benzyl-2(1H)-pyridinón

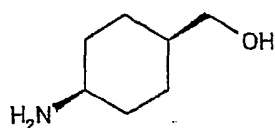


Zmes 1-benzyl-5-nitro-1H-pyridin-2-ónu (Justus Liebigs Ann. Chem. 484; 1930; 52) (1,0 g, 4,35 mmol) a granulovaného cínu (3,5 g, 29,5 mmol) v koncentrovanej kyseline chlór vodíkovej (14 ml) sa 1,5 hodiny zahrieva na 90°C. Vzniknutý roztok sa ochladí, zriedi vodou, zneutralizuje roztokom uhličitanu sodného a extrahuje etylacetátom. Spojené organické extrakty sa prefiltrujú, vysušia síranom horečnatým a odparia za zníženého tlaku. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme svetlo zelenej pevnej látky (ktorá časom zmodrie) (440 mg, 51 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 250MHz): δ 4,12-4,47

(bs, 2H), 5,00 (s, 2H), 6,31 (d, 1H), 6,86 (s, 1H), 7,07 (m, 1H), 7,14-7,42 (m, 5H).

P r e p a r a t í v n y p o s t u p 2 9

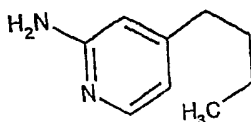
Cis-(4-Amínocyklohexyl)metanol



Lítiumalumíniumhydrid (14 ml, 1M roztok v tetrahydrofuráne, 14 mmol) sa prikvapká do ľadom chladeného roztoku cis-4-amínocyklohexánkarboxylovej kyseliny (1,33 g, 9,29 mmol) v tetrahydrofuráne (50 ml). Po dokončení prídavku sa reakčná zmes 6 hdon zahrieva k spätnému toku, potom ochladí na 5°C a postupne sa k nej pridá voda (0,6 ml), vodný roztok hydroxidu sodného (1,1 ml, 2M) a voda (0,6 ml). Vzniknutá suspenzia sa prefiltruje a filtrát sa odparí za zníženého tlaku na olejovitý zvyšok, ktorý sa použije bez ďalšieho prečistenia. ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 1,40-1,80 (m, 12H), 3,00 (m, 1H), 3,55 (d, 2H); LRMS: m/z 130,2 (MH⁺).

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

2-Amíno-4-butylpyridín

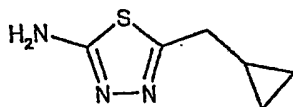


Zmes 4-butylpyridínu (5,0 g, 37,0 mmol) a 95% amidu sodného (1,7 g, 40,7 mmol) v xyléne (10 ml) sa 18 hodín

zahrieva na 150°C. Reakčná zmes sa ochladí a zriedi éterom (100 ml). Éterová zmes sa extrahuje 2M kyselinou chlór vodíkovou (2x). Vodné extrakty sa zalkalizujú vodným roztokom hydroxidu sodného a reextrahujú éterom. Tieto spojené organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým a odparia za zníženého tlaku. Olejovitý zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmetánu, metanolu a 0,88 amoniaku (97 : 3 : 0,15) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme kryštalickej pevnej látky, (2,1 g, 38 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,96 (t, 3H), 1,38 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 2,52 (t, 2H), 4,38 (bs, 2H), 6,38 (s, 1H), 6,55 (d, 1H), 7,98 (d, 1H); Analýza nájdené: C, 72,01; H, 9,47; N, 18,53. $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_2$ vypočítano C, 71,96; H, 9,39; N, 18,65 %.

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

5-(Cyklopropylmetyl)-1,3,4-tiadiazol-2-amín

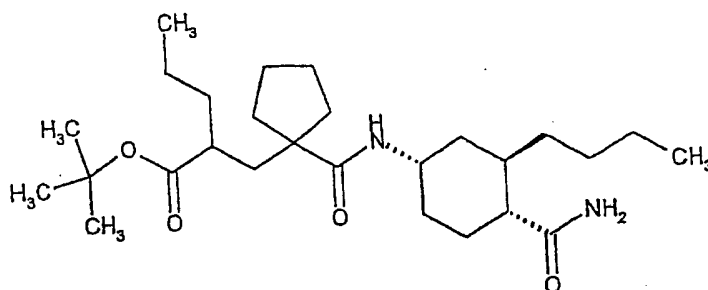


Oxalylchlorid (3,13 ml, 35,9 mmol) a N,N-dimetylformamid (1 kvapka) sa pridajú do roztoku cyklopropyloctovej kyseliny (3 g, 29,9 mmol) v dichlórmetáne (30 ml). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom, čím sa získa hnedý olej. Zmes tohto intermediárneho chloridu kyseliny (887 mg, 7,48 mmol) a tiosemikarbazidu (455 mg, 4,99 mmol) sa 18 hodín zahrieva na 70°C, potom ochladí a pridá sa k nej voda. Vodná zmes sa za použitia 50% vodného roztoku hydroxidu sodného zalkalizuje na

pH 9. Vylúčená zrazenina sa odfiltruje a vysuší. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (410 mg, 53 %). ^1H NMR (CD_3OD , 400MHz): δ 0,28 (m, 2H), 0,60 (m, 2H), 1,02 (m, 1H), 2,77 (d, 2H); LRMS: m/z 155,2 (MH^+).

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

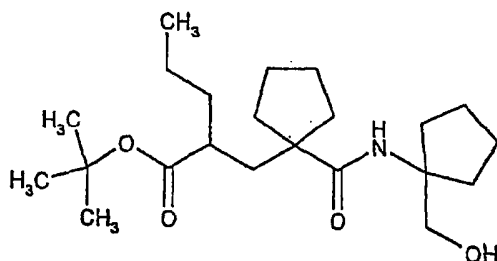
(1R,2R,4S)-4-[(1-[2-(terc-Butoxykarbonyl)pentyl]cyklopentyl)karbonyl)amino]-2-butylcyklohexánkarboxamid



Produkt z preparatívneho postupu 49 (65 mg, 0,14 mmol) sa vyberie do dichlórmetánu (2 ml). Do vzniknutého roztoku sa v jednej dávke pridá 1,1'-karbonyldiimidazol (23 mg, 0,15 mmol) a potom 0,88 vodný roztok amoniaku (0,5 ml). Vzniknutá zmes sa 16 hodín mieša, hneď potom sa z nej za zníženého tlaku odstránia prchavé látky. Získaná suspenzia sa zmieša s nasýteným vodným roztokom hydrogénuhličitanu sodného (5 ml). Organické látky sa extrahujú etylacetátom (2x), vysušia síranom horečnatým a odparia. Olejovitý zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu (19 : : 1) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (43 mg). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,81 (t, 6H), 1,02-1,28 (m, 37H), 2,22 (m, 1H), 4,13 (m, 1H), 5,42-5,97 (m, 3H).

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

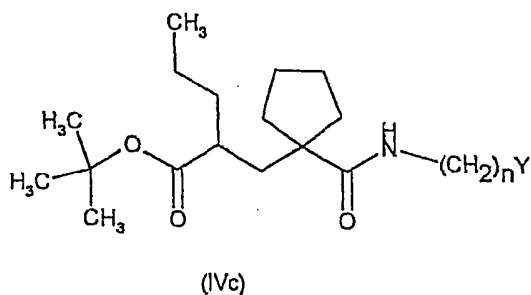
terc-Butyl-2-{[1-({[1-(hydroxymetyl)cyklopentyl]amíno}-
karbonyl)cyklopentyl]metyl}pentanoát



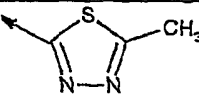
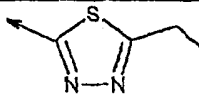
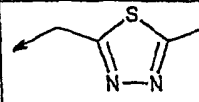
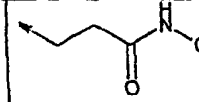
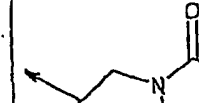
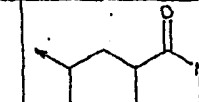
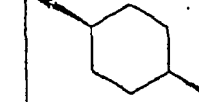
Hydrochlorid 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etylkarbodi-
imidu (41 mg, 0,21 mol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (2 mg,
0,2 mmol), N-metylmorfolín (35 μ l, 0,31 mmol) a na záver 1-
amíno-1-cyklopentánmetanol (od Aldrich Chemical Co.) (25 mg,
0,22 mmol) sa pridajú do roztoku kyseliny z preparatívneho
postupu 1 (150 mg, 0,53 mmol) v N,N-dimetylformamide (3 ml).
Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri 90°C. Vzniknutý roztok sa
ochladí a zriedi etylacetátom (90 ml). Etylacetátová zmes sa
premyje vodou (3 x 25 ml) a vodným chloridom sodným (25 ml),
vysuší síranom horečnatým a odparí za zníženého tlaku. Surový
produkt sa prečistí chromatografiou na silikagéli za použitia
zmesi etylacetátu a pentánu (30 : 70) ako elučného činidla.
Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (38 mg, 57 %). ^1H NMR
(CDCl_3 , 400MHz): δ 0,88 (t, 3H), 1,29 (m, 3H), 1,41-1,78 (m,
26H), 1,78-1,98 (m, 4H), 2,04 (m, 1 H), 2,26 (m, 1 H), 3,59
(dd, 1H), 3,70 (dd, 1H), 4,80 (t, 1H), 5,81 (s, 1H); LRMS:
m/z 380 (MH^+).

P r e p a r a t í v n e p o s t u p y 3 4 a ž 4 3

Zlúčeniny všeobecného vzorca IVc, to je zlúčeniny všeobecného vzorca IV, kde Prot predstavuje terc-butylskupinu a R¹ predstavuje propylskupinu, sa pripravia z titulnej zlúčeniny z preparatívneho postupu 1 a uvedeného amínu podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 33.



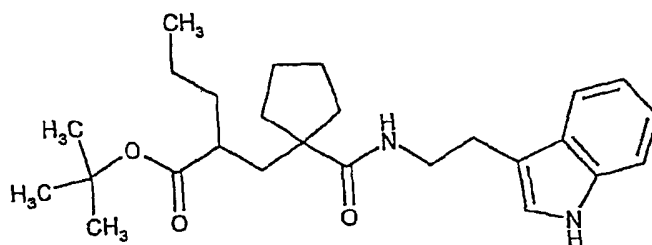
Prep.	-(CH ₂) _n Y	Prec. amín.	Dáta
34		piperonylamín (od Aldrich Chemical Co.)	¹ H NMR (CDCl ₃ , 400MHz) δ: 0,85 (t, 3H), 1,26 (m, 4H), 1,42 (s, 9H), 1,46 (m, 2H), 1,59-1,75 (m, 5H), 1,95 (m, 2H), 2,06 (m, 1H), 2,22 (m, 1H), 4,26 (dd, 1H), 4,39 (dd, 1H), 5,95 (m, 3H), 6,78 (m, 3H); LRMS : m/z 418,3 (MH ⁺)
35 ¹		2-amínoindán hydrochlorid (od Aldrich Chemical Co.)	¹ H NMR (CDCl ₃ , 400MHz) δ: 0,87 (t, 3H), 1,25 (m, 3H), 4H), 1,42 (m, 12H), 1,56-1,70 (m, 4H), 1,90 (m, 2H), 2,02 (m, 1H), 2,22 (m, 1H), 2,80 (m, 2H), 3,35 (m, 2H), 4,76 (m, 1H), 5,86 (d, 1H), 7,19 (m, 4H). LRMS : m/z 400,3 (MH ⁺)

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

- 1 = reakcia sa uskutočňuje pri teplote miestnosti
 2 = ako elučné činidlo sa použije zmes metanolu a dichlórmetánu

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

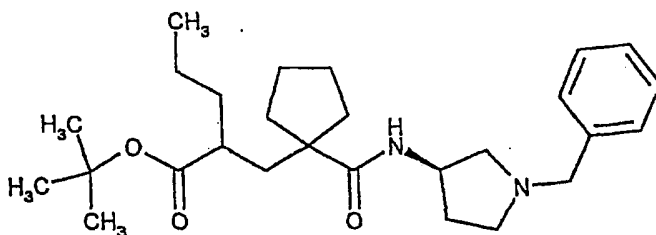
terc-Butyl-2-{[1-([2-(1H-indol-3-yl)etyl]amino)karbonyl]-
 cyklopentyl]metyl}pentanoát



Titulná zlúčenina sa získa vo forme svetlo žltého oleja (výťažok 80 %) z kyseliny z preparatívneho postupu 1 a tryptamínu podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 33 s tým rozdielom, že reakcia sa uskutočňuje v dichlórmetáne pri teplote miestnosti. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,86 (t, 3H), 1,26 (m, 3H), 1,42 (m, 11H), 1,50-1,69 (m, 6H), 1,83 (m, 1H), 1,90-2,05 (m, 2H), 2,22 (m, 1H), 2,99 (t, 3H), 3,60 (m, 2H), 5,78 (m, 1H), 7,06 (s, 1H), 7,14 (m, 1H), 7,20 (m, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,63 (d, 1H), 8,02 (bs, 1 H); LRMS: m/z 427,5 (MH^+).

Preparatívny postup 45

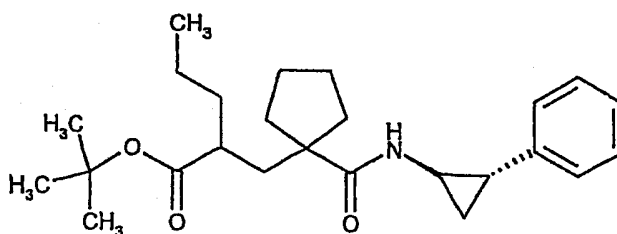
terc-Butyl 2-[(1-{[(3S)-1-benzylpyrrolidiny]amino}-
cyklopentyl)metyl]pentanoát



Titulná zlúčenina sa získa v kvantitatívnom výťažku z kyseliny z preparatívneho postupu 1 a (3S)-1-benzyl-3-amíno-pyrrolidínu (ex. Aldrich Chemical Co.), podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 44. ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,84 (t, 3H), 1,10-1,76 (m, 21H), 1,90-2,05 (m, 3H), 2,20-2,38 (m, 3H), 2,58 (m, 2H), 2,84 (m, 1H), 3,62 (s, 2H), 4,45 (m, 1H), 6,02 (m, 1H), 7,33 (m, 5H).

Preparatívny postup 46

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

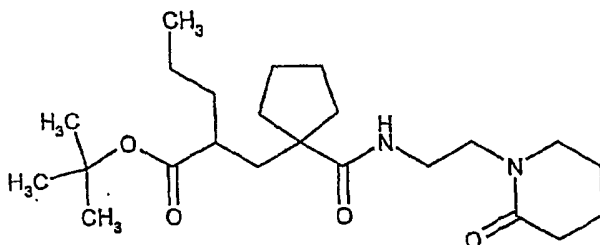


Hydrochlorid 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etylkarbodiimidu (81 mg, 0,42 mol), N-metylmorfolín (0,15 ml, 1,06 mmol)

a hydrochlorid 1-S-amino-2-R-fenylcyklopropánu (J. Med. Chem., 1986,29,2044) (60 mg, 0,35 mmol) sa pridajú do roztoku kyseliny z preparatívneho postupu 1 (100 mg, 0,35 mmol) v dichlórmetáne (10 ml). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti a odparí za zníženého tlaku. Zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu dichlórmetán : metanol (98 : 2 až 95 : 5). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme žltého oleja (85 mg, 55 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,88 (t, 3H), 1,16 (m, 1H), 1,20-1,58 (m, 16H), 1,63 (m, 5H), 1,90-2,14 (m, 4H), 2,23 (m, 1H), 2,90 (m, 1 H), 6,00 (m, 1 H), 7,19 (m, 3H), 7,24 (m, 2H); LRMS: m/z 400 (MH^+).

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

terc-Butyl-2-{[1-({[2-(2-oxo-1-piperidinyl)etyl]amino}-
karbonyl)cyklopentyl]metyl}pentanoát

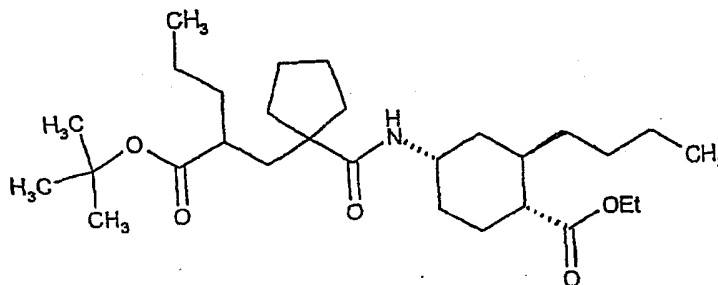


Mohohydrát hydrazínu (34 μl , 0,70 mmol) sa pridá do roztoku zlúčeniny z preparatívneho postupu 6 (171 mg, 0,63 mmol) v etanole (10 ml). Reakčná zmes sa 5 hodín zahrieva k spätnému toku, ochladí a prefiltruje. Filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa suspenduje v dichlórmetáne a získaná suspenzia sa prefiltruje. Filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmetánu, metanolu a

0,88 amoniaku (90 : 10 : 1) ako elučného činidla. Získa sa amín (16 mg). Kyselina z preparatívneho postupu 1 (32 mg, 0,11 mmol), hydrochlorid 1-(3-dimetylamínopropyl)-3-etylkarbodiimidu (25 mg, 0,13 mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (17 mg, 0,13 mmol) a N-metylmorfolín (25 µl, 0,23 mmol) sa pridajú do roztoku tohto amínu v N,N-dimetylformamide (2 ml). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom rozdelí medzi etylacetát a vodu. Vrstvy sa oddelia. Organická fáza sa premyje vodou (2x), vysuší síranom horečnatým a odparí za zníženého tlaku. Olejovitý zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu dichlórmetán : metanol (98,5 : 1,5 až 95 : 5). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme oleja (43 mg, 17 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,82 (t, 3H), 1,22 (m, 3H), 1,38-1,65 (m, 17H), 1,58 (m, 4H), 1,95 (m, 3H), 2,17 (m, 1H), 2,37 (m, 2H), 3,30 (m, 2H), 3,38 (m, 2H), 3,50 (m, 2H), 6,76 (m, 1H); LRMS: m/z 409,2 (MH^+)

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

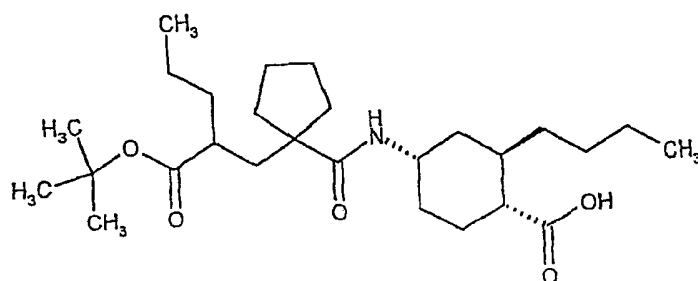
Etyl (1R,2R,4S)-4-[(1-[2-(terc-butoxykarbonyl)pentyl]cyklopentyl)karbonyl)amíno]-2-butylcyctohexánkarboxylát



Zmes kyseliny z preparatívneho postupu 1 (109 mg, 0,38 mmol), hydrochloridu (1R,2R,4S)-4-amino-2-butyl-cyklohexánkarboxylovej kyseliny (W09009374) (101 mg, 0,38 mmol), hydrochlorid 1-(3-dimetylamínopropyl)-3-etylkarbodiimidu (95 mg, 0,50 mol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (60 mg, 0,40 mmol) a trietylamin (0,12 ml, 0,87 mmol) v dichlórmetáne (3 ml) sa 16 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom odparí za zníženého tlaku. Zvyšok sa zmieša s roztokom hydrogénuhličitanu sodného a extrahuje etylacetátom. Spojené organické extrakty sa vysušia síranom sodným a odparia za zníženého tlaku na živičný zvyšok. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi etylacetátu a pentánu (50 : 50) ako elučného činidla a azeotropicky odparí s dichlórmetánom. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (190 mg). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,88 (m, 6H), 1,20-1,40 (m, 13H), 1,40-2,10 (m, 25H), 2,16-2,30 (m, 2H), 4,18 (m, 3H), 5,83 (d, 1H).

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

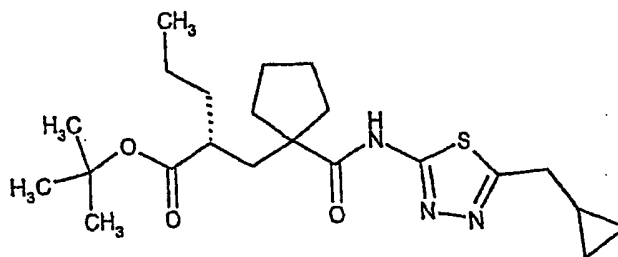
(1R,2R,4S)-4-[(1-[2-(terc-Butoxykarbonyl)pentyl]cyklopentyl)-karbonyl)amino]-2-butylcyklohexánkarboxylová kyselina



Zmes etylesteru z preparatívneho postupu 48 (190 mg, 0,39 mmol) a 1M roztoku hydroxidu sodného (0,85 ml, 0,85 mmol) v metanole (1,5 ml) sa 22 hodín mieša pri teplote miestnosti, potom 2M kyselinou chlór vodíkovou okyslí na pH 1 a rozdelí medzi etylacetát a vodu. Vrstvy sa oddelia a organická fáza sa vysuší síranom horečnatým a odparí za zníženého tlaku. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise ((130 mg, 72 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz) 8 : 0,86 (m, 6H), 1. 202,12 (m, 36H), 2,24 (m, 2H), 4,18 (m, 1 H), 5,82 (d, 1 H); LRMS: m/z 464 (M-H) $^-$.

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

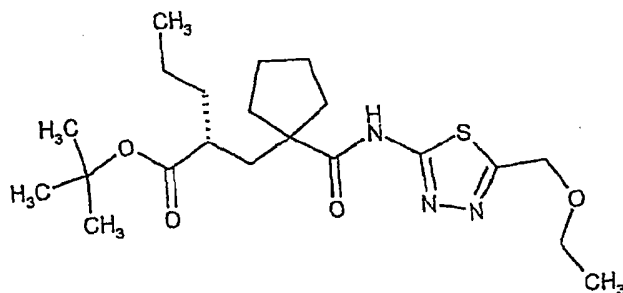
terc-Butyl-(2R)-2-{[1-([5-(cyklopropylmetyl)-1,3,4-tiadiazol-2-yl]amino)karbonyl]cyklopentyl]metyl}pentanoát



Zlúčenina uvedená v nadpise sa vyrobí z kyseliny z preparatívneho postupu 2 a amínu z preparatívneho postupu 31 (výťažok 65 %) spôsobom opísaným v preparatívnom postupe 33. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,35 (m, 2H), 0,63 (m, 2H), 0,80 (m, 3H), 1,10 (m, 1H), 1,20-1,94 (m, 20H), 2,19 (m, 4H), 2,93 (t, 2H), 3,50 (s, 1H); LRMS: m/z 422,4 (MH^+); $[\alpha]_D = -14,15^\circ$ (c = 0,082, metanol).

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

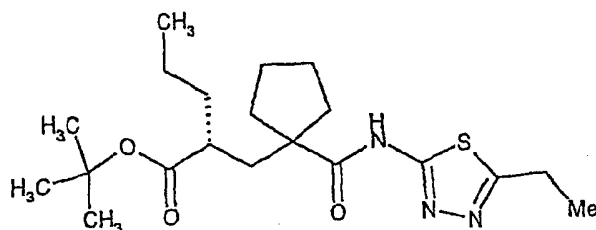
terc-Butyl-(2R)-2-{[1-([5-(etoxymetyl)-1,3,4-tiadiazol-2-yl]amino)karbonyl]cyklopentyl]metyl}pentanoát



Titulná zlúčenina sa pripraví z kyseliny z preparatívneho postupu 2 a titulného produktu z preparatívneho postupu 97 (výťažok 51 %) spôsobom opísaným v preparatívnom postupe 33. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,10-1,78 (m, 25H), 1,82 (m, 1H), 2,19 (m, 5H), 3,48 (s, 1 H), 4,82 (s, 2H), 10,16 (brs, 1 H); LRMS: m/z 426,4 (MH^+); $[\alpha]_D = -12,50$ ($c=0,08$, metanol).

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

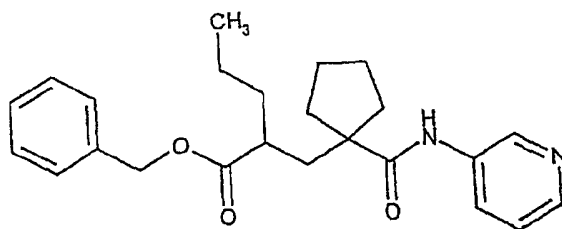
terc-Butyl-(2R)-2-[(1-([5-etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl]amino)karbonyl]cyklopentyl)metyl]pentanoát



Do zmesi dichlórmetánu (2,39 litra) a pyridínu (2,39 litra) sa za miešania pod atmosférou dusíka pri -14°C počas 1 hodiny pridá tionylchlorid (135 ml, 1,85 mmol). Po 5minútovom miešaní sa do vzniknutej oranžovej suspenzie počas 45 minút pridá roztok produktu z preparatívneho postupu 2 (477 g, 1,67 mol) v dichlórmetáne (477 ml), pričom sa zmes zakalí. Reakčná zmes sa 3 hodiny mieša a počas 20 minút sa k nej pridá trietylamín (20,5 g, 168 mmol). Do vzniknutej zmesi sa počas 10 minút v 3 dávkach pridá 2-amino-5-etyl-1,3,4-tiadiazol (od Lancaster) (282 g, 2,18 mol). Reakčná zmes sa nechá zahriať na teplotu okolia, 43 hodín mieša a pridá sa k nej n-heptán (2,4 litra) a deionizovaná voda (1 liter). Do výslednej zmesi sa za miešania a chladenia v ľadovom kúpeli počas 0,5 hodiny pridá koncentrovaná kyselina chlór vodíková (3,56 litra). Vrstvy sa oddelia a k organickej vrstve sa za miešania pridá deionizovaná voda (2 litre) a koncentrovaná kyselina chlór vodíková (250 ml). Vrstvy sa znovu oddelia a k organickej vrstve sa za miešania pridá deionizovaná voda (2 litre) a koncentrovaná kyselina chlór vodíková (250 ml) a potom nasýtený vodný roztok uhličitanu draselného (250 ml). Organická fáza sa zhromaždí a premyje nasýteným vodným roztokom chloridu sodného (2 x 1 liter). Výsledný roztok sa skoncentruje za zníženého tlaku. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (546 g, 1,38 mol, 85% výťažok) vo forme viskózneho hnedého oleja, ktorý sa použije v nasledujúcom stupni bez ďalšieho prečistenia. LRMS (negatívna APCI): m/z $[\text{M-H}]^{-}$ 394; ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,76 (t, 3H), 1,08-1,23 (m, 3H), 1,23-1,27 (m, 2H), 1,32 (s, 9H), 1,34-1,42 (m, 2H), 1,42-1,53 (m, 4H), 1,53-1,68 (m, 2H), 1,87 (dd, 1H), 1,95-2,06 (m, 1H), 2,06-2,24 (m, 3H), 2,98 (q, 2H), 12,15 (bs, 1H).

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

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

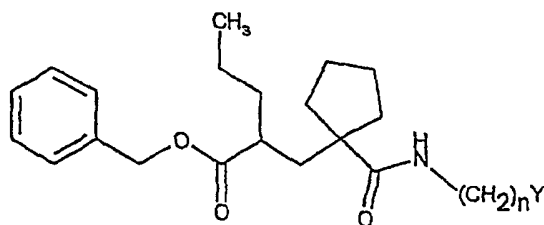


Do zmesi chloridu kyseliny z preparatívneho postupu 3 (200 mg, 0,60 mmol) a 2-aminopyridínu (61 mg, 0,65 mmol) v dichlórmétáne (3 ml) sa pridá trietylamin (0,11 ml, 0,78 mmol). Reakčná zmes sa 16 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom odparí za zníženého tlaku. Zvyšok sa rozdelí medzi roztok hydrogénuhličitanu sodného (5 ml) a etylacetát (20 ml). Vrstvy sa oddelia a organická vrstva sa vysuší síranom horečnatým a odparí za zníženého tlaku na živicu. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia etylacetátu ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (130 mg). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,82 (t, 3H), 1,21 (m, 3H), 1,40 (m, 1H), 1. 43-1,72 (m, 6H), 1,81 (d, 1H), 1,98 (m, 1H), 2,18 (m, 1H), 2,24 (m, 1H), 2,46 (m, 1H), 4,98 (m, 2H), 7,20-7,38 (m, 6H), 7,42 (s, 1H), 8,06 (d, 1H), 8,35 (d, 1H), 8,56 (s, 1H).

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

Zlúčeniny všeobecného vzorca IVd, to je zlúčeniny všeobecného vzorca IV, kde Prot predstavuje benzylskupinu a R^1 predstavuje propylskupinu, sa pripravujú z chloridu kyseliny

z preparatívneho postupu 3 a uvedeného amínu podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 52.



(IVd)

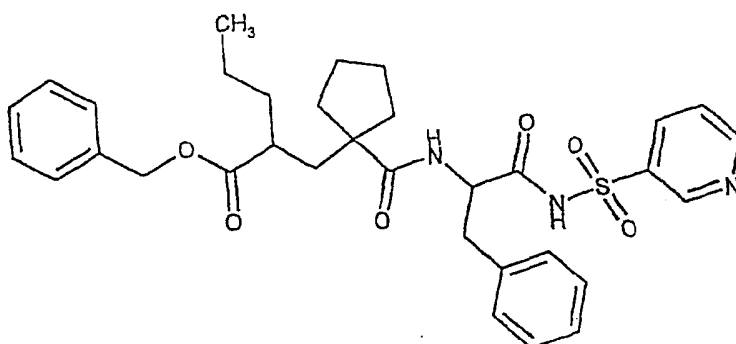
Prep.	$-(\text{CH}_2)_n\text{Y}$	Prec. amín	Dáta
53 ¹		od Trans World Chemicals	¹ H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ : 0,84 (t, 3H), 1,24 (m, 2H), 1,40-1,76 (m, 7H), 1,84 (dd, 1H), 1,98 (m, 1H), 2,19 (dd, 1H), 2,28 (m, 1H), 2,56 (m, 1H), 3,98 (s, 2H), 4,99 (dd, 2H), 6,98 (d, 1H), 7,19-7,42 (m, 15H).
54		Prep.27	¹ H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ : 0,85 (t, 3H), 1,24 (m, 3H), 1,39-1,78 (m, 6H), 1,82 (dd, 1H), 1,98 (m, 2H), 2,20 (dd, 1H), 2,25 (m, 1H), 2,50 (m, 1H), 3,98 (s, 2H), 4,98 (dd, 2H), 7,18-7,40 (m, 10H), 7,45 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 8,42 (s, 1H).
55		Prep.30	¹ H NMR (CDCl_3 , 400MHz) δ : 0,80 (t, 3H), 0,92 (t, 3H), 1,21 (m, 2H), 1,30-1,70 (m, 12H), 1,82 (dd, 1H), 2,04 (m, 1H), 2,20 (m, 2H), 2,50 (m, 1H), 2,58 (t, 2H), 4,98 (dd, 2H), 6,83 (d, 1H), 7,30 (m, 5H), 7,90 (s, 1H), 8,08 (s, 1H), 8,15 (d, 1H).
56 ²		Prep.28	¹ H NMR (CDCl_3 , 300MHz) δ : 0,84 (t, 3H), 1,25 (m, 2H), 1,27-1,99 (m, 10H), 2,07-2,30 (m, 2H), 2,47 (m, 1H), 4,99 (s, 2H), 5,10 (dd, 2H), 6,59 (d, 1H), 7,15 (d, 1H), 7,34 (m, 11H), 8,10 (s, 1H).

1 = ako elučné činidlo sa použije dichlórmetán

2 = ako báza sa použije N-metylmorfolín.

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

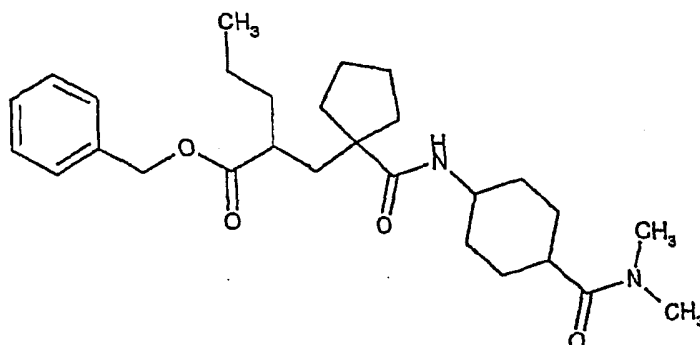
Benzyl-2-({1-[(1-benzyl-2-oxo-2-[(3-pyridinylsulfonyl)amino] -
etyl}amino) karbonyl]cyklopentyl}metyl)pentanoát



Hydrochlorid amínu z preparatívneho postupu 25 (828 mg, 2,19 mmol) a N-metylmorfolín (2,21 g, 21,9 mmol) sa pridajú k ľadovo chladnému roztoku chloridu kyseliny z preparatívneho postupu 3 (737 mg, 2,19 mmol) v dichlórmétáne (50 ml). Reakčná zmes sa 24 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom odparí za zníženého tlaku. Zvyšok sa rozdelí medzi etylacetát (50 ml) a vodu (50 ml). Vrstvy sa oddelia a organická fáza sa premyje vodným roztokom chloridu sodného (25 ml), vysuší síranom horečnatým a odparí za zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu etylacetát : metanol (100 : 0 až 95 : 5). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme krémovo zafarbenej peny (975 mg, 73 %). ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz) δ: 0,72 (m, 3H), 0,94-2,20 (m, 17H), 2,84 (m, 1H), 3,00 (m, 1H), 4,18 (m, 1H), 5,00 (m, 2H), 6,95 (m, 2H), 7,02 (m, 3H), 7,38 (m, 6H), 8,06 (m, 1 H), 8,60 (m, 1H), 8,87 (s, 1H).

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

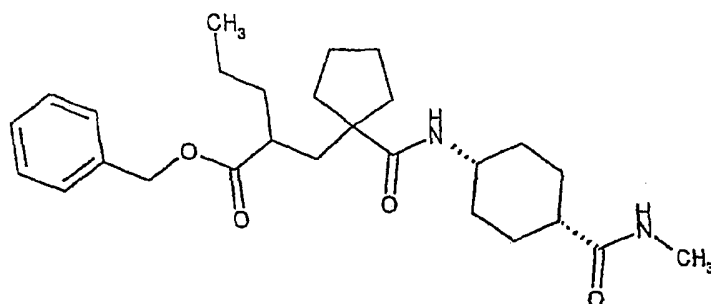
cis-Benzyl 2-({1-[(4-[(dimetylamino)karbonyl]-
cyklohexyl}amino)karbonyl]cyklopentyl}metyl)pentanoát



Zmes cis-4-{[(1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]pentyl}cyklo-
pentyl)karbonyl]amínocyklohexánkarboxylovej kyseliny (EP
274234, príklad 310) (200 mg, 0,45 mmol), hydrochloridu 1-(3-
-dimetylamínopropyl)-3-etylkarbodiimidu (112 mg, 0,58 mmol),
hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (70 mg, 0,46 mmol) a
dimetylamín (0,56 ml, 2M v tetrahydrofuráne, 1,12 mmol) v
dichlórmetíáne (5 ml) sa 16 hodín mieša pri teplote
miestnosti. Výsledná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku
a zvyšok sa rozdelí medzi roztok hydrogénuhličitanu sodného a
etylacetát. Vrstvy sa oddelia a organická fáza sa vysuší
síranom horečnatým a odparí za zníženého tlaku na živicu.
Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na
silikagéli za použitia etylacetátu ako elučného činidla.
Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (150 mg). ^1H NMR (CDCl_3 ,
300MHz): δ 0,82 (t, 3H), 1,22 (m, 3H), 1,32-1,88 (m, H), 2,00
(m, 4H), 2,40 (m, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,97 (s, 3H), 3,04 (s,
3H), 4,04 (m, 1H), 5,12 (s, 2H), 5,80 (bd, 1H), 7,37 (m, 5H).

Preparatívny postup 59

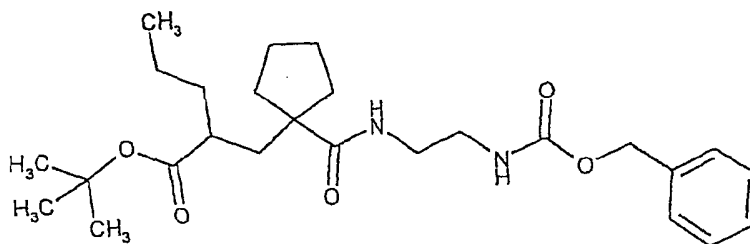
cis-Benzyl-2-({1-[[{4-[(metylamino)karbonyl]-
cyklohexyl}amino)karbonyl]cyklopentyl)metyl}pentanoát



Titulná zlúčenina sa pripraví vo výťažku 49% výťažku z cis-4-{{1-{{2[(benzyloxy)karbonyl]pentyl}cyklopentyl)-karbonyl}amino}cyklohexánkarboxylovej kyseliny (EP 274234, príklad 310) a metylamínu (2M v tetrahydrofuráne) spôsobom opísaným v preparatívnom postupe 58. ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 0,82 (t, 3H), 1,172,12 (m, 22H), 2,21 (m, 1H), 2,41 (m, 1H), 2,80 (d, 3H), 4,00 (m, 1H), 5,12 (s, 2H), 5.61 (m, 1H), 5,79 (d, 1H), 7,38 (m, 5H).

Preparatívny postup 60

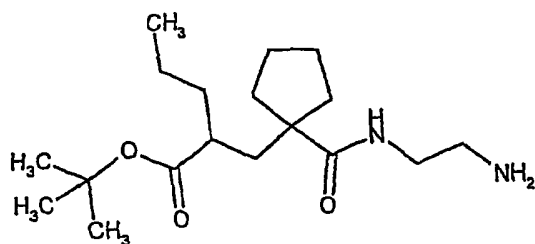
terc-Butyl-2-{{1-{{2-{{2-{{(benzyloxy)karbonyl}amino}-etyl)amino}karbonyl}cyklopentyl)metyl}pentanoát



Zlúčenina uvedená v nadpise sa získa vo forme žltého oleja (výťažok 55 %) z kyseliny z preparatívneho postupu 1 a N-benzyloxykarbonyl-1,2-diaminoetánu (od Aldrich Chemical Co.) podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 33. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,84 (t, 3H), 1,20-1,38 (m, 3H), 1,40-1,74 (m, 17H), 1,90 (m, 2H), 2,04 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 3,32 (m, 3H), 3,44 (m, 1H), 5,10 (s, 2H), 5,61 (m, 1H), 6,20 (m, 1H), 7,36 (m, 5H).

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

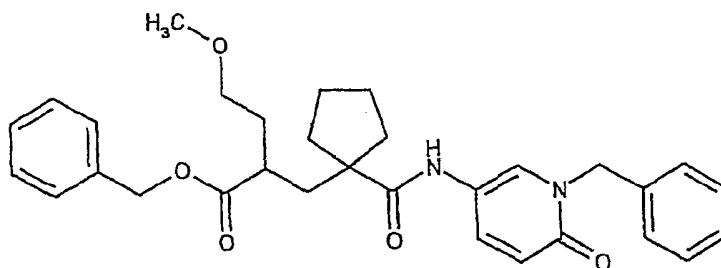
terc-Butyl 2-[(1-{[(2-aminoetyl)amino]karbonyl}-
cyklopentyl)metyl]pentanoát



Zmes karbamátu z preparatívneho postupu 60 (1,43 g, 3,10 mmol) a 10% palládia na uhlíku (200 mg) v etanole (8 ml) sa 18 hodín hydrogenuje pri teplote miestnosti za tlaku 0,1 MPa. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Arbocel® a filtrát sa odparí za zníženého tlaku. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (920 mg, 92 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,84 (t, 3H), 1,20-1,38 (m, 3H), 1,40-1,54 (m, 12H), 1,61 (m, 5H), 1,92-2,12 (m, 3H), 2,20 (m, 1H), 2,98 (m, 2H), 3,38 (m, 1H), 3,42 (m, 1H), 3,97 (m, 2H), 6,65 (m, 1 H); LRMS: m/z 326,8 (M^+).

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

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

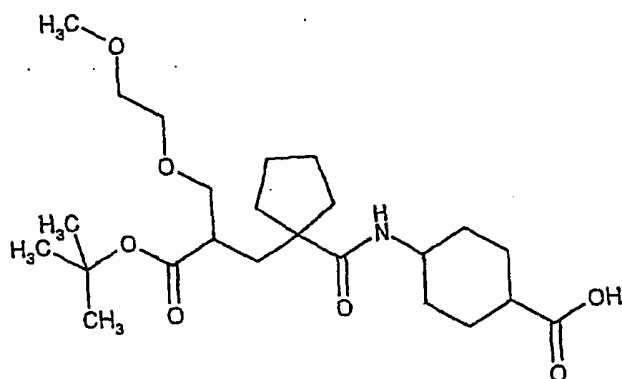


Oxalylchlorid (0,26 ml, 3,0 mmol) sa pridá do ľadom chladeného roztoku 1-{2[(benzyloxy)karbonyl]-4-metoxybutyl}cyklo-pentánkarboxylovej kyseliny (EP 274234, príklad 15) (1,0g, 3,0 mmol) a N,N-dimetylformamidu (2 kvapky) v dichlórmetáne (20 ml). Reakčná zmes sa 2 hodiny mieša pri teplote miestnosti. Výsledný roztok sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom (3 x 10 ml). Produkt sa rozpustí v dichlórmetáne (20 ml). Dichlórmetánový roztok sa ochladí v ľadovom kúpeli a pridá sa k nemu amín z preparatívneho postupu 28 (600 mg, 3 mmol) a N-metylmorfolín (0,6 ml, 5,45 mmol). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa rozdelí medzi vodu a éter. Organická vrstva sa premyje kyselinou chlór vodíkovou (2M), roztokom hydrogénuhličitanu sodného a potom vodou, vysuší síranom horečnatým a odparí za sníženého tlaku. Zelený pevný zvyšok sa prečistí stredotlakovou kvapalinovou chromatografiou na stĺpci silikagélu za použitia zmesi etylacetátu a hexánu (90 : 10) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (880 mg, 57 %). ¹H NMR

(CDCl₃, 300MHz): δ 1,37-2,28 (m, 12H), 2,462,64 (m, 1H), 3,20 (s, 3H), 3,31 (m, 2H), 4,97 (dd, 2H), 5,08 (dd, 2H), 6,57 (d, 1H), 7,12 (m, 1H), 7,18-7,48 (m, 10H), 8,08 (d, 1H).

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

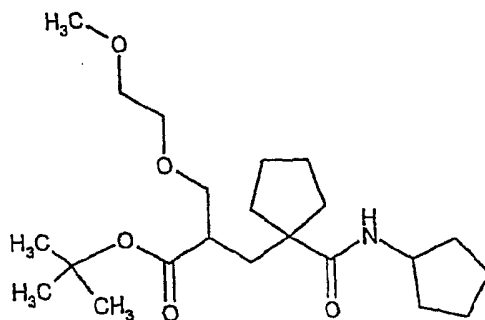
4-{[(1-{3-terc-Butoxy-2-[(2-metoxyetoxy)metyl]-3-oxopropyl}cyklopentyl)karbonyl]amino}cyklohexánkarboxylová kyselina



Zmes benzyl-4-{[(1-{3-terc-butoxy-2-[(2-metoxyetoxy)-metyl]-3-oxopropyl}cyklopentyl) karbonyl]amino}cyklohexánkarboxylátu (EP 274234, príklad 96) a 10% palládia na uhlíku (250 mg) vo vode (10 ml) a etanole (50 ml) sa 18 hodín hydrogenuje za tlaku 343,5 kPa pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa prefiltruje cez Solkafloc®. Filtrát sa skoncentruje za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s toluénom (3x) a potom dichlórmetánom (3x). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (2,0g, 96 %). ¹H NMR (CDCl₃, 300MHz): δ 1,48 (s, 9H), 1,53-1,84 (m, 14H), 1,94-2,10 (m, 5H), 2,60 (m, 2H), 3,40 (s, 3H), 3,41-3,63 (m, 5H), 3,96 (m, 1H), 5,90 (bd, 1H).

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

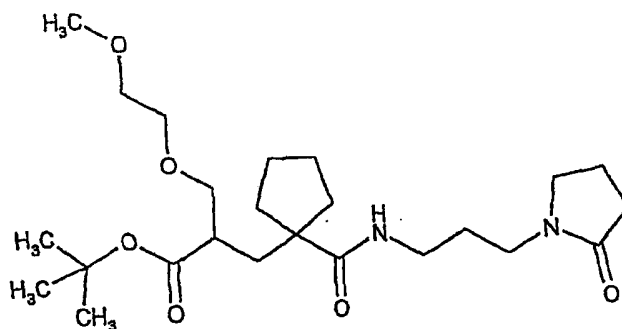
terc-Butyl-3-{1-[(cyklopentylamino)karbonyl]cyklopentyl}-2-
[(2-metoxyetoxy)metyl]propanoát



Hydrochlorid 1-(3-dimetylamínopropyl)-3-etylkarbodi-
imidu (197 mg, 1,07 mol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (139
mg, 1,07 mmol), N-metylmorfolín (0,18 ml, 1,64 mmol) a
cyklopentylamín (101 µl, 1,07 mmol) sa pridajú do roztoku 1-
{3-terc-butoxy-2-[(2-metoxyetoxy)metyl]-3-oxopropyl}-cyklo-
pentánkarboxylovej kyseliny (EP 274234, príklad 42) (400 mg,
1,07 mmol) v dichlórmetáne (5 ml). Reakčná zmes sa 22 hodín
mieša pri teplote miestnosti a potom rozloží prídavkom vody.
Vodná zmes sa extrahuje dichlórmetánom (3x). Spojené
organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým a odparia za
zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou
chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi etylacetátu a
pentánu (30 : 70) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina
uvedená v nadpise vo forme číreho oleja (320 mg, 78 %). ¹H
NMR (CDCl₃, 400MHz): δ 1,222,02 (m, 27H), 2,58 (m, 1H), 3,36
(s, 3H), 3,40 (m, 1H), 3,46 (m, 2H), 3,57 (m, 3H), 4,10-4,20
(m, 1H), 5,80 (bs, 1 H).

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

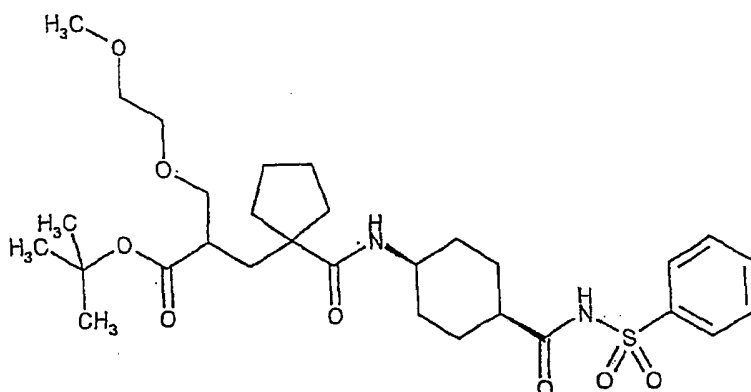
terc-Butyl-3-(2-metoxyetoxy)-2-{[1-({[3-(2-oxo-1-pyrrolidinyl)propylamino]karbonyl)cyklopentyl]metylpropanoát



Titulná zlúčenina sa získa vo forme číreho oleja v 97% výťažku z 1-3-terc-butoxy-2-[(2-metoxyetoxy)metyl]-3-oxo-propyl}cyklopentánkarboxylovej kyseliny (EP 274234, príklad 42) a 1-(3-amínopropyl)-2-pyrrolidinónu pyrrolidinónu (od Aldrich Chemical Co.), podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 64 s tým rozdielom, že sa ako elučné činidlo použije zmes dichlórmetán : metanol (95 : 5). ¹H NMR (CDCl₃, 400MHz): δ 1,41 (s, 9H), 1,50 (m, 2H), 1,60-1,70 (m, 7H), 1,78 (m, 1H), 1,90 (m, 1H), 2,20 (m, 4H), 2,40 (m, 2H), 2,58 (m, 1H), 3,14 (m, 1H), 3,20 (m, 1H), 3,38 (m, 6H), 3,423,60 (m, 6H), 7,00 (m, 1H).

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

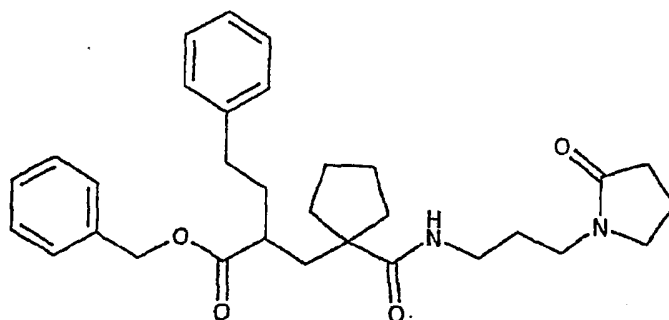
cis-terc-Butyl-3-(2-metoxyetoxy)-2-[(1-[(4-[(fenylsulfonyl)amino]karbonyl)cyklohexyl)amino]karbonyl]-cyklopentyl)metyl]propanoát



N,N'-Dicyklohexylkarbodiimid (199 mg, 0,97 mmol), 4-dimetylamínopyridín (118 mg, 0,97 mmol) a benzénsulfónamid (152 mg, 0,97 mmol) sa pridajú do ľadom chladeného roztoku kyseliny z preparatívneho postupu 63 (400 mg, 0,878 mmol) v dichlórmetáne (12 ml) a N,N-dimetylformamide (0,5 ml). Reakčná zmes sa 20 hodín mieša pri teplote miestnosti a potom skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa suspenduje v chladnom etylacetáte. Vzniknutá nerozpustná látka sa odfiltruje. Filtrát sa premyje kyselinou chlór vodíkovou (1M) a vodou, vysuší síranom horečnatým a odparí za zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia elučného gradientu dichlórmetán : metanol (95 : 5 až 90 : 10). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bielej peny (480 mg, 92 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,44 (s, 9H), 1,63 (m, 13H), 1,80 (m, 2H), 1,88 (m, 1H), 1,98 (m, 2H), 2,36 (m, 1H), 2,57 (m, 1H), 3,38 (s, 3H), 3,40 (m, 1H), 3,51 (t, 2H), 3,58 (m, 3H), 3,95 (m, 1H), 5,92 (d, 1H), 7,56 (m, 2H), 7,62 (m, 1H), 8,05 (d, 2H), 8,75 (bs, 1H); LRMS: m/z 618 (MNa^+).

Preparatívny postup 67

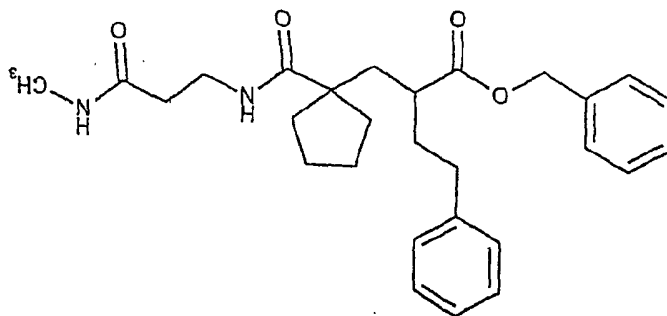
Benzyl-2-{[1-([3-(2-Oxo-1-pyrrolidiny)propyl]amino)-
karbonylcyklopentyl]metyl}-4-fenylbutanoát



Hydrochlorid 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etylkarbodiimidu (1,06 g, 5,53 mmol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (0,60 g, 4,44 mmol) a 4-metylmorfolín (0,56 g, 5,54 mmol) sa pri teplote miestnosti postupne pridajú do chladeného roztoku 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]-4-fenylbutyl}cyklopentánkarboxylovej kyseliny (EP 274234, príklad 17) (1,5 g, 3,94 mmol) v suchom dichlórmetáne (15 ml). Do vzniknutej zmesi sa pridá N-(3-amino-propyl)-2-pyrrolidinón (od Aldrich Chemical Co.) (0,56 g, 3,94 mmol). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti, premyje vodou, 2M kyselinou chlórvočíkovou a nasýteným vodným roztokom hydrogenuhličitanu sodného, vysuší síranom horečnatým a odparí za zníženého tlaku. Žltý olejovitý zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi etylacetátu a pentánu (50 : 50) ako elučného činidla. Získa sa titulná zlúčenina vo forme čírej živice (800 mg, 40 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,37-2,20 (m, 16H), 2,34-2,58 (m, 5H), 2,92-3,46 (m, 6H), 5,07 (d, 1H), 5,18 (d, 1H), 6,98-7,47 (m, 10H).

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

Benzyl-2-{[1-({[3-(metylamíno)-3-oxopropyl]-amíno}karbonyl)cyklopentyl]metyl}-4-fenylbutanoát

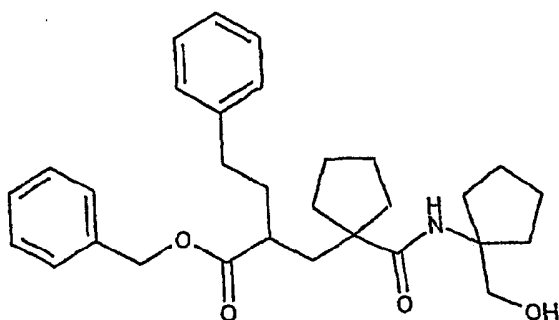


Hydrochlorid 1-(3-dimetylaminopropyl)-3-etylkarbodiimidu (122 mg, 0,64mol), hydrát 1-hydroxybenzotriazolu (86 mg, 0,64 mmol) a 4-metylmorfolín (173 1,59 mmol) sa pri teplote miestnosti postupne pridajú do chladeného roztoku 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]-4-fenylbutyl}-cyklopentánkarboxylovej kyseliny (EP 274234, príklad 17) (202 mg, 0,53 mmol) v N,N-dimetylformamide (5 ml). Do vzniknutej zmesi sa pridá hydrochlorid amínu z preparatívneho postupu 23 (146 mg, 1,06 mmol). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri 90°C. Získaný roztok sa ochladí a skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa rozdelí medzi vodu (20 ml) a etylacetát (100 ml). Vrstvy sa oddelia a organická vrstva sa premyje vodou (3x30 ml, vodným chloridom sodným (25 ml), vysuší síranom horečnatým a odparí za zníženého tlaku na číry olej. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu (98 : 2) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bezfarebného oleja (162 mg, 67 %). ¹H NMR (CDCl₃, 400MHz): δ 1,38-1,53 (m, 2H), 1,53-1,96 (m, 8H), 2,02 (m, 2H), 2,27 (t, 2H), 2,46 (m, 3H), 2,76 (d, 3H), 3,44 (m, 2H),

5,13 (s, 2H), 5,79 (bs, 1H), 6,38 (m, 1H), 7,06 (d, 2H), 7,18 (m, 1H), 7,22 (m, 2H), 7,38 (m, 5H); LRMS: m/z 465,5 (MH⁺).

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

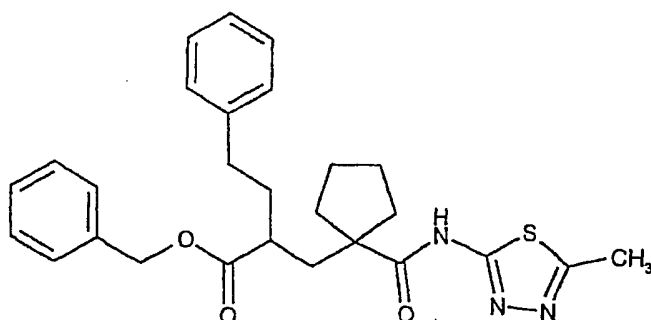
Benzyl-2-{[1-({[1-(hydroxymetyl)cyklopentyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]metyl}-4-fenylbutanoát



Titulná zlúčenina sa získa vo forme kryštalickej pevnej látky (48%) z 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]-4-fenylbutyl}cyklopentánkarboxylovej kyseliny (EP 274234, príklad 17) a 1-amino-1-cyklopentánmetanolu podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 68 s tým rozdielom, že sa reakčná zmes mieša pri teplote miestnosti a surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi etylacetátu a pentánu ako elučného činidla. ¹H NMR (CDCl₃, 400MHz): δ 1,38 (m, 2H), 1,50-1,95 (m, 16H), 2,01 (m, 2H), 2,45 (m, 3H), 3,49 (dd, 1H), 3,60 (dd, 1H), 4,58 (m, 1H), 5,10 (s, 2H), 5,67 (s, 1H), 7,01 (d, 2H), 7,14 (m, 1H), 7,20 (m, 2H), 7,36 (m, 5H); LRMS : m/z 478,3 (MH⁺).

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

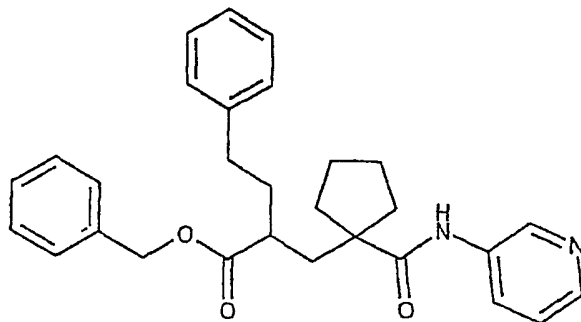
Benzyl-2-[(1-[[5-metyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]-
karbonyl]cyklopentyl)metyl]-4-fenylbutanoát



Titulná zlúčenina sa získa vo forme číreho oleja v 74% výťažku z 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]-4-fenylbutyl}cyklopentán-karboxylovej kyseliny (EP 274234, príklad 17) a 2-amino-5-metyl-1,3,4-tiadiazolu (od Lancaster), podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 68. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,58-1,76 (m, 7H), 1,83-1,98 (m, 3H), 2,03 (m, 1H), 2,20 (m, 1H), 2,35 (m, 1H), 2,44 (m, 3H), 2,65 (s, 3H), 5,02 (dd, 2H), 7,00 (d, 2H), 7,15 (m, 1H), 7,19 (m, 2H), 7,35 (m, 5H); LRMS: m/z 478,7 (MH^+).

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

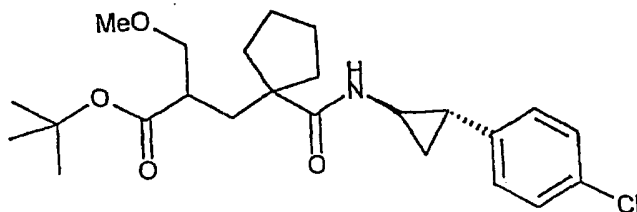
Benzyl-4-fenyl-2-({1-[(3-pyridinylamino)karbonyl]-
cyklopentyl)metyl}butanoát



Oxalylchlorid (2,29 ml, 26,3 mmol) sa pridá do roztoku 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]-4-fenylbutyl}cyklopentánkarboxylovej kyseliny (EP 274234, príklad 17) (5,0 g, 13,14 mmol) a N,N-dimetylformamidu (2 kvapky) v dichlórmetáne (25 ml). Vzniknutý roztok sa 2,5 hodiny mieša. Získaná zmes sa odparí za zníženého tlaku a zvyšok sa azeotropicky odparí s dichlórmetánom. Olejovitý zvyšok sa rozpustí v dichlórmetáne (50 ml). Roztok tohto chloridu kyseliny (10 ml, 2,45 mmol) sa pridá do ľadom chladeného roztoku trietylamínu (248 mg, 2,45 mmol) a 3-aminopyridínu (253 mg, 2,70 mmol) v suchom dichlórmetáne (10 ml). Reakčná zmes sa 18 hodín mieša pri teplote miestnosti. Výsledný roztok sa premyje vodou (3x), vysuší síranom horečnatým a odparí za zníženého tlaku. Surový produkt sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi etylacetátu a hexánu (40 : 60) ako elučného činidla opakovane za použitia elučného gradientu éter : hexán (90 : 10 až 100 : 0). Produkt sa nechá vykryštalizovať zo zmesi etylacetátu a hexánu. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (740 mg, 66 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 300MHz): δ 1,38-2,07 (m, 10H), 2,10-2,37 (m, 2H), 2,42-2,63 (m, 3H), 5,02 (s, 2H), 6,94-7,44 (m, 10H), 7,50 (s, 1H), 8,03 (d, 1H), 8,36 (d, 1H), 8,52 (s, 1H).

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

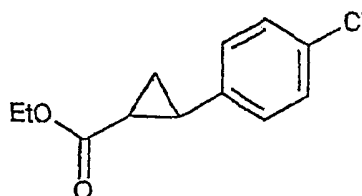
trans-terc-Butyl-3-[1-([2-(4-chlórphenyl)cyklopropyl]-amino)karbonyl]cyklopentyl]-2-(metoxymetyl)propanoát



Produkt z preparatívneho postupu 94 (286 mg, 1 mmol), produkt z preparatívneho postupu 76 (203 mg, 1 mmol), 1-(3-dimetylamínopropyl)-3-etylkarbodiimid (211 mg, 1,1 mmol), trietylamín (1 ml) a HOBt (148 mg, 1,1 mmol) v DCM (5 ml) sa 16 hodín miešajú pri teplote miestnosti. Reakčná zmes sa premyje vodou (20 ml), vysuší síranom horečnatým a prečistí stĺpcovou chromatografiou za použitia zmesi etylacetátu a pentánu (1 : 8) ako elučného činidla. Získa sa titulná zlúčenina vo forme bezfarebného filmu (122 mg, 40 %). R_f 1 : 5 (EtOAc:pentán) 0,2; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1,05-1,2 (m, 2H), 1,4 (s, 9H), 1,551,75 (m, 4H), 1,9-2,0 (m, 4H), 2,4-2,5 (m, 1H), 2,75-2,85 (m, 1H), 3,3 (s, 3H), 3,4-3,5 (m, 1H), 6,3 (m, 1H), 7,05 (d, 2H), 7,2 (d, 2H); HRMS: m/z $M+H$, nájdené 436,2242. $\text{C}_{24}\text{H}_{35}\text{NO}_4\text{Cl}$ vypočítané 436,2249.

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

Etyl-2-(4-chlórfenyl)cyklopropánkarboxylát

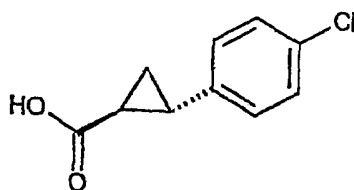


Zmes 4-chlórstyrénu (10,1 ml, 96 mmol) a dimérneho acetátu ródia (1 g, 4,5 mmol) v toluéne (50 ml) sa zahreje na 85°C , hneď potom sa k nej počas 30 minút pridá etyldiazoacetát (11,3 ml, 94 mmol). Vzniknutá zmes sa ďalšiu 1 hodinu zahrieva na 80°C a skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmétánu a pentánu (1 : 2) ako elučného činidla. Získa sa titulný produkt vo forme bezfarebného oleja

(7,8 g, 37 %). R_f 1 : 2 (DCM : pentán) 0,35; $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1,15-1,3 (m, 4H), 1,5-1,7 (m, 1H), 1,8-1,9 (m, 1H), 2,4-3,55 (m, 1H), 4,2 (q, 2H), 6,95 (d, 2H), 7,20-7,28 (m, 2H); a LRMS: m/z, $\text{M}+\text{NH}_4^+$ 242.

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

trans-2-(4-Chlórfenyl)cyklopropánkarboxylová kyselina



Produkt z preparatívneho postupu 73 (7,8g, 37 mmol) sa pri teplote miestnosti pod atmosférou dusíka rozpustí v etanole (75 ml). Do vzniknutého roztoku sa počas 15 minút pridá metoxid sodný (8,1 g, 150 mmol). Po dokončení prídavku sa zmes 18 hodín zahrieva k spätnému toku. Reakčná zmes sa skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa zriedi dichlórmetánom a vodou (150 ml, zmes 2 : 1). Organická vrstva sa oddelí a vodná vrstva sa reextrahuje dichlórmetánom (2 x 50 ml). Spojené organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým a odparia, čím sa získa transester (4,96 g, 62 %). Vodná vrstva sa koncentrovanou kyselinou chlór vodíkovou okyslí na pH 1, pričom vznikne biela zrazenina, ktorá sa odfiltruje a vysuší za vákua. Získa sa produkt hydrolýzy (zodpovedajúca kyselina) vo forme bieleho prášku (1,95 g, 27 %). Ester sa rozpustí v metanole (50 ml), vode (50 ml) a hydroxidu litnom (1,34 g, 32 mmol). Vzniknutý číry roztok sa cez noc zahrieva na asi 70°C. Reakčná zmes sa ochladí a skoncentruje za zníženého tlaku. Zvyšok sa koncentrovanou kyselinou

chlórovodíkovou okyslí na pH 1. Biela zrazenina sa extrahuje etylacetátom (3 x 50 ml). Spojené organické extrakty sa vysušia síranom horečnatým a odparia do sucha. Získa sa kyselina (4 g, 96 %). Táto kyselina sa spojí s produktom hydrolýzy získanom v predchádzajúcom stupni. Celkom sa získa 5,95 g produktu. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 1,3-1,4 (m, 1H), 1,6-1,7 (m, 1H), 1,8-1,9 (m, 1H), 2,5-2,6 (m, 1H), 7,00 (d, 2H), 7,26 (d, 2H); LRMS: m/z, M-H 195.

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

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

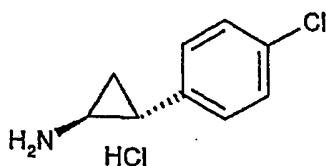


Produkt z preparatívneho postupu 74 (1,5g, 7,65mol), DPPA (1,8 ml, 8,4 mmol) a trietylamín (1,25 ml, 12 mmol) v terc-butanole (20 ml) sa pod atmosférou dusíka 48 hodín zahrieva na asi 90°C. Po ochladení sa zmes zriedi etylacetátom (20 ml) a nasýteným roztokom uhličitanu sodného (20 ml). Organická vrstva sa odstráni. Vodná vrstva sa reextrahuje etylacetátom (20 ml). Spojené organické vrstvy sa vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa odparí. Zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi etylacetátu a pentánu (1 : 10 a potom 1 : 2) ako elučného činidla, čím sa získa titulný produkt vo forme bielej pevnej látky (1,7g, 83%). R_f 1 : 2 (EtOAc : pentán) 0,9; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) δ 1,2-1,3 (m, 1H), 1,4 (s, 10H), 1,9-2,0 (m, 1H), 2,6 (br. s, 1H), 4,8 (br. s, 1H), 7. 0 (d,

2H), 7,2 (d, 2H); HRMS: m/z M+Na, nájdené 290,0923. C₁₄H₁₈NO₂ClNa vypočítané 290,0918.

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

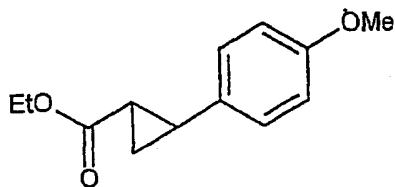
2-(4-Chlórphenyl)cyklopropylamín



Produkt z preparatívneho postupu 75 sa vyberie do etylacetátu. Etylacetátový roztok sa ochladí na 0°C a 30 minút sa ním nechá prebublávať plynny chlór vodík. Výsledný roztok sa skoncentruje za zníženého tlaku. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (1,29 g, 6,3 mmol). R_f 1 : 3 (EtOAc : pentán) 0; ¹H NMR (400MHz, CD₃OD): δ 1,3-1,4 (m, 1H), 1,4-1,5 (m, 1H), 2,3-2,4 (m, 1H), 2,82,9 (m, 1H), 7,15 (d, 2H), 7,3 (d, 2H).

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

Etyl-2-(4-metoxyfenyl)-cyklopropánkarboxylát

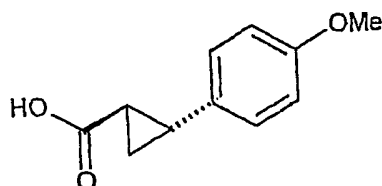


Zmes 4-metoxystyrénu (25,5 ml, 192 mmol), dimérneho octanu ródia (2 g, 4,5 mmol) a toluénu (100 ml) sa 20 minút mieša pri teplote miestnosti pod atmosférou dusíka, potom zahreje na 85°C a počas 50 minút sa k nej pridá etyldiazo-

acetát (19,8 ml, 188 mmol) rýchlosťou asi kvapka každé 2 až 3 sekundy, aby sa vnútorná teplota reakčnej zmesi udržala na asi 95°C. Po dokončení prídavku sa zmes 1 hodinu zahrieva na 85°C, potom ochladí na teplotu miestnosti a prefiltruje cez Arbocel®. Filtrát sa odparí na olejovitý zvyšok, ktorý sa prečistí stĺpcovou chromatografiou na silikagéli za použitia zmesi dichlórmetánu a pentánu (1 : 2) ako elučného činidla, čím sa získa titulný produkt (13 g, 31 %), čo je zmes trans a cis izomérov v pomere 3 : 1. R_f 0,22 (DCM : pentán) 1 : 2; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1,20-1,38 (m, 5H), 1,83 (ddd, 1H), 2,50 (ddd, 1H), 3,80 (s, 3H), 4,16 (q, 2H), 6,82 (d, 2H), 7,03 (d, 2H).

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

Trans-2-(4-metoxyfenyl)-cyklopropánkarboxylová kyselina

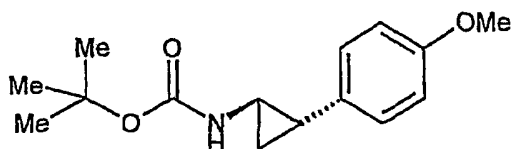


Metoxid sodný (14,8 g, 273,8 mmol) sa za miešania pri teplote miestnosti pod atmosférou dusíka pridá do roztoku produktu z preparatívneho postupu 77 (13 g, 59 mmol) v etanole (135 ml). Po dokončení prídavku sa zmes 1 hodinu zahrieva k miernemu spätnému toku. Analýza pomocou TLC ukáže, že v zmesi už nie je prítomný žiadny cis izomér. Reakčná zmes sa ochladí na teplotu miestnosti a v jednej dávke sa k nej pridá voda (100 ml). Vodná zmes sa 63 hodín mieša pri teplote miestnosti, odparí, aby sa odstránil metanol a koncentrovanou kyselinou choorovodíkovou okyslí na pH 1. Vzniknutá suspenzia

sa extrahuje etylacetátom (2 x 100 ml). Extrakty sa vysušia síranom horečnatým a odparia. Žltý pevný zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou za použitia zmesi etylacetátu a pentánu (1 : 1) ako elučného činidla, čím sa získa titulný produkt (8,9 g, 78 %). R_f 1 : 1 (EtOAc : pentán) 0,4; $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3) δ : 1,30-1,41 (m, 1H), 1,58-1,69 (m, 1H), 1,79-1,90 (m, 1H), 2,53-2,62 (m, 1 H), 6,83 (d, 2H), 7,04 (d, 2H).

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

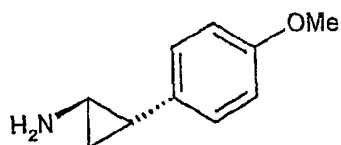
trans-terc-Butyl-2-(4-metoxyfenyl)cyklopropylkarbamát



DPPA (11 ml, 50,9 mmol) sa pridá do miešanej zmesi produktu z preparatívneho postupu 78 (8,9 g, 44,63 mmol), trietylamínu (10,1 ml, 72,7 mmol) a terc-butanolu (75 ml). Výsledná zmes sa 43 hodín zahrieva na 90°C, potom ochladí a odparí sa z nej terc-butanol. Olejovitý zvyšok sa zmieša s nasýteným roztokom uhličitanu draselného (120 ml) a extrahuje etylacetátom (2 x 100 ml). Spojené organické extrakty sa odparia za zníženého tlaku. Hnedý pevný zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou za použitia zmesi DCM : MeOH (98 : 2) ako elučného činidla, čím sa získa titulný produkt (5,8 g, 48%). $^1\text{HNMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1,07-1,14 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,93-2,06 (m, 1H), 2,62-2,71 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 4,72-4,88 (m, 1H), 6,80 (d, 2H), 7,08 (d, 2H).

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

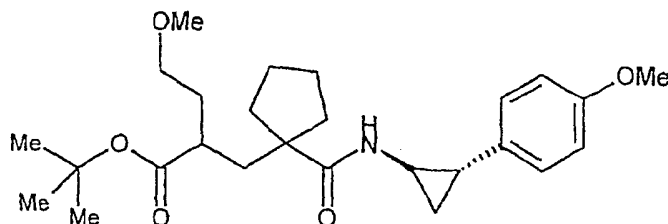
Trans-2-(4-metoxyfenyl)-cyklopropylamín



Trifluóroctová kyselina (20 ml) sa pri teplote miestnosti pod atmosférou dusíka pridá do miešanej zmesi produktu z preparatívneho postupu 79 (5,8 g, 22,0 mmol) a dichlórmetánu (15 ml). Reakčná zmes sa 16 hodín mieša, hneď potom sa z nej za zníženého tlaku odstráni rozpúšťadlo. Olejovitý zvyšok sa zmieša s uhličitanom draselným (do pH 10, asi 150 ml). Nepriesvitný roztok sa extrahuje etylacetátom (2 x 150 ml). Extrakty sa vysušia síranom horečnatým a odparia. Béžový pevný zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou za použitia zmesi DCM a MeOH (99: 1 a potom 95 : 5) ako elučného činidla získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme bielej pevnej látky (3,2 g, 89 %). R_f DCM : MeOH (19 : 1) 0,18; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 0,87-1,04 (m, 2H), 1,79-1,90 (m, 1 H), 2,43-2,54 (m, 1 H), 3,80 (s, 3H), 6,80 (d, 2H), 6,98 (d, 2H).

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

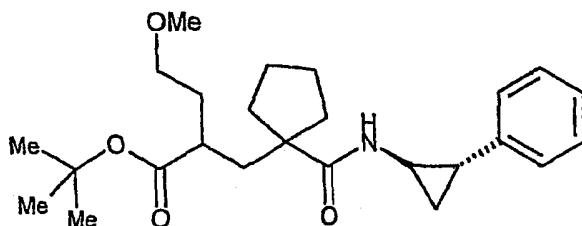
terc-Butyl-4-metoxy-2-{[1-([2-(4-metoxyfenyl)cyklopropyl]-amino)karbonyl]cyklopentyl]metyl}butanoát



Produkt z preparatívneho postupu 99 (210 mg, 0,66mol), trietylamin (1 ml), HOBt (140 mg, 0,73 mmol) a produkt z preparatívneho postupu 80 (107 mg, 0,66 mmol) sa postupne zmieša pri teplote miestnosti pod atmosférou dusíka. Do vzniknutej zmesi sa pridá WSCDI (98 mg, 0,73 mmol). Výsledná zmes sa 16 hodín (cez noc) mieša a potom zriedi vodou. Organická vrstva sa oddelí a premyje vodným chloridom sodným, vysuší síranom horečnatým a prefiltruje. Filtrát sa odparí na žltý olejovitý zvyšok. Tento zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou za použitia zmesi EtOAc : pentán (1 : 3) ako elučného činidla, čím sa získa titulný produkt (113 mg, 38 %). R_f 1 : 10 (EtOAc : pentán) 0,2; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 1,0-1,10 (m, 2H), 1,40 (s, 9H), 1,35-1,45 (m, 2H), 1,50-1,80 (m, 7H), 1,85-2,10 (m, 4H), 2,25-2,35 (m, 1 H), 2,70-2,80 (m, 1 H), 3,2 (s, 3H), 3,25-3,35 (m, 2H), 3,7 (s, 3H), 6,05 (br. s, 1 H), 6,70 (d, 2H), 7,05 (d, 2H); LRMS: m/z 446 (M+H).

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

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

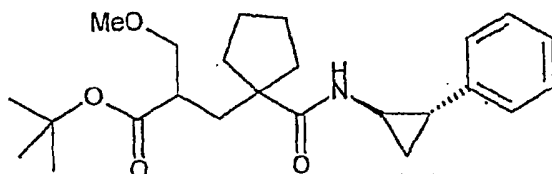


Titulný produkt sa pripraví podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 81, ale namiesto produktu z preparatívneho postupu 80 sa použije 1-S-amino-2-R-fenylcyklopropán (J. Med. Chem., 1986, 29, 2044). ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 1,1 (m, 1H), 1,2 (m, 1H), 1,4 (s, 9H), 1,6 (m, 8H),

1,7, (m, 1H), 1,9 (m, 2H), 2,1 (m, 2H), 2,4 (q, 1H), 2,8 (q, 1H), 3,2 (s, 3H), 3,3 (q, 2H), 6,1 (bs, 1H), 7,1 (d, 3H), 7,2 (d, 2H). LRMS: m/z 416 (M+H); HRMS m/z nájdené 416,2794. C₂₅H₃₂NO₄ vypočítané 416,2796.

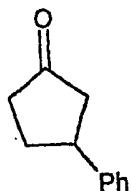
P r e p a r a t í v n y p o s t u p 8 2

terc-Butyl-3-metoxi-2-[(1-[(2-fenylcyklopropyl)amino]-
karbonyl}cyklopentyl)metyl]propanoát



Produkt z preparatívneho postupu 94 (200 mg, 0,66 mol), trietylamin (1 ml), HOBT (98 mg, 0,73 mmol) a 1-S-amino-2-R-fenylcyklopropán (J. Med. Chem., 1986,29,2044) (123 mg, 0,73 mmol) sa pod atmosférou dusíka pri teplote miestnosti postupne zmieša s dichlórmetánom (6 ml). Do vzniknutej zmesi sa pridá WSCDI (98 mg, 0,73 mmol). Výsledná zmes sa 16 hodín (cez noc) mieša pri teplote miestnosti a potom zriedi vodou. Organická vrstva sa oddelí, premyje vodným chloridom sodným, vysuší síranom horečnatým a prefiltruje. Filtrát sa odparí na žltý olejovitý zvyšok, ktorý sa prečistí stĺpcovou chromatografiou za použitia zmesi EtOAc : pentán (1 : 3) ako elučného činidla, čím sa získa titulný produkt (164 mg, 62 %). R_f 1 : 10 (EtOAc : pentán) 0,2; ¹HNMR (400MHz, CDCl₃): δ 1,0-1,1 (m, 2H), 1,4 (s, 9H), 1,5-1,8 (m, 6H), 1,8-2,05 (m, 4H), 2,3-2,4 (m, 1H), 2,7-2,8 (m, 1H), 3,2 (s, 3H), 3,25-3,35 (m, 1H), 3,7 (s, 3H), 6. 05 (s, 1H), 6,7 (d, 2H), 7,05 (d, 2H); LRMS: m/z M+H, 446.

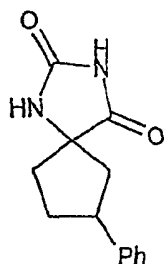
3-Fenylcyklopentanón



Fenylmagnéziumbromid (0,27 mol) sa vyberie do suchého dietyléteru (200 ml). Vzniknutý roztok sa pod atmosférou dusíka ochladí na 0°C a v jednej dávke sa k nemu pridá jodid meďný (25,5 g, 0,13 mmol). Výsledná suspenzia s 20 minút mieša pri 0°C a potom sa k nej počas 10 až 15 minút prikvapká cyklopenten-2-ón. Získaný roztok sa 10 minút mieša pri 0°C, počas 1 hodiny nechá zahriať na teplotu miestnosti a pridá sa 100 ml zmesi nasýteného roztoku chloridu amónneho a koncentrovaného amoniaku (počiatočné pH = 9). Výsledná zmes sa 30 minút mieša a potom prefiltruje. Vrstvy filtrátu sa oddelia. Vodná vrstva sa extrahuje éterom (2 x 70 ml). Extrakty sa spoja s pôvodnou organickou vrstvou. Spojené éterové vrstvy sa premyjú vodným roztokom chloridu sodného, vysušia síranom horečnatým, prefiltrujú a filtrát sa odparí. Svetlo žltý olejovitý zvyšok sa chromatografuje za použitia zmesi éteru a pentánu (1 : 3) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (2,9 g, 14%). R_f EtOAc : pentán (1 : 2) 0,65; ^1H NMR (300MHz, CDCl_3): δ 1,91-2,10 (m, 1H), 2,18-2,59 (m, 4H), 2,67 (dd, 1H), 3,38-3,52 (m, 1H), 7,19-7,47 (m, 5H).

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

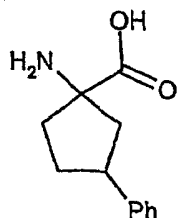
7-Fenyl-1,3-diazaspiro[4,4]nonane-2,4-dión



Produkt z preparatívneho postupu 83 (5,8 g), kyanid draselný (2,75 g) a uhličitan amónny (9,1 g) v 80 ml 50% vodného etanolu sa 7 hodín zahrievajú a miešajú 48 hodín pri teplote miestnosti. Výsledná zmes sa prefiltruje. Pevná látka sa dôkladne premyje vodou (3 x 50 ml). Filtrát sa skoncentruje. Hodnota pH sa za použitia koncentrovanej kyseliny chlór vodíkovej upraví na 2 a vzniknutá suspenzia sa prefiltruje a premyje vodou (3 x 50 ml). Spojené pevné látky sa prekryštalizujú z etanolu a vody (300 ml : 100 ml). Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise vo forme zmesi diastereomérnych párov (6,32 g). R_f 0,6 v EtOAc; $^1\text{H NMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ 1,60-2,58 (m, 6H), 3,08-3,37 (m, 1H), 6,83-7,44 (m, 5H), 8,33 (d, 1H), 10,60 (s, 1H); Analýza nájdené: C, 68,09; H, 6,21; N, 12,25%. $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$ vypočítané C, 67,81; H, 6,13; N, 12,17 %.

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

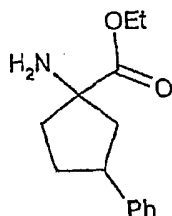
1-Amíno-3-fenyl-cyklopentánkarboxylová kyselina



Titulný produkt z preparatívneho postupu 84 (6,2 g), oktahydrát hydroxidu barnatého (17,2 g) a voda (100 ml) sa v bombe 7 hodín zahrievajú na 160°C. Vzniknutá zmes sa cez noc nechá stáť pri teplote miestnosti a za použitia koncentrovanej kyseliny sírovej okyslí na pH 1. Výsledná suspenzia sa prefiltruje. Pevná látka sa premyje vodou (100 ml). Filtrát sa koncentrovaným roztokom amoniaku zalkalizuje na pH asi 6. Získaná suspenzia sa ochladí v ľadovom kúpeli a prefiltruje. Pevná látka sa premyje vodou a vysuší za vákua. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (2,9 g) s teplotou tavenia 265°C (za rozkladu). R_f 0,5 v zmesi metylizobutylketón : kyselina octová : voda (2 : 1 : 1); $^1\text{HNMR}$ (300MHz, CDCl_3): δ 2,06-3,14 (m, 6H), 3,42-3,73 (m, 1H), 7. 12-7. 44 (m, 5H); Analýza nájdené C, 69,54; H, 7,26; N, 6,73 %. $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_2$ vypočítané C, 70,22; H, 7,37; N, 6,82 %.

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

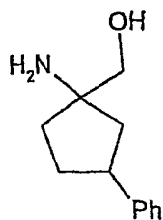
Etyl-1-amíno-3-fenyl-cyklopentánkarboxylát



Titulný produkt z preparatívneho postupu 85 (500 mg, 2,4 mmol) sa pri 0°C vyberie do etanolu nasýteného chlór vodíkom (70 ml). Vzniknutý roztok sa 16 hodín mieša pri teplote miestnosti, 10 minút sa ním nechá prebublávať dusík a potom sa z neho za zníženého tlaku odparí rozpúšťadlo. Béžový pevný zvyšok sa zmieša s nasýteným vodným roztokom hydrogénuhličitanu sodného (10 ml) a extrahuje etylacetátom (2 x 10 ml). Spojené organické extrakty sa vysušia a odparia. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (360 mg, 63 %). R_f DCM : MeOH (97: 3) 0,23; $^1\text{H NMR}$ (400MHz, CDCl_3): δ 1,31 (t, 3H), 1,50-2,37 (m, 4H), 2,38-2,44 (m, 1H), 2,63 (dd, 1H), 3,22-3,36 a 3,43-3,57 (m, 1H), 4,20 (q, 2H), 7,20-7,35 (m, 5H).

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

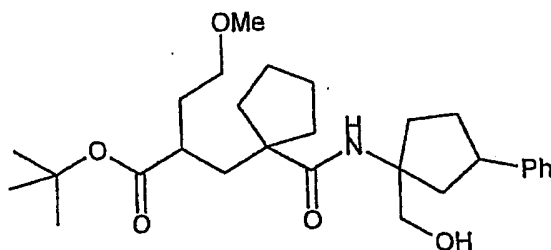
(1-Amíno-3-fenylcyklopentyl)metanol



Tetrahydroboritan sodný (190 mg) sa po častiach pridá do miešaného roztoku produktu z preparatívneho postupu 86 (390 mg, 1,67 mmol) v 8 ml 50% vodného etanolu. Vzniknutá zmes sa 3 hodiny zahrieva na 50°C a potom odparí. Získa sa suspenzia oleja vo vode. Tento olej sa extrahuje etylacetátom (20 ml). Po odparení za zníženého tlaku sa získa zlúčenina uvedená v nadpise (295 mg). R_f (1 : 2 éter : pentán) 0,65; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 1,30-2,36 (m, 6H), 3,02-3,17 (m, 1H), 3,33-3,50 (m, 2H), 7,14-7,37 (m, 5H).

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

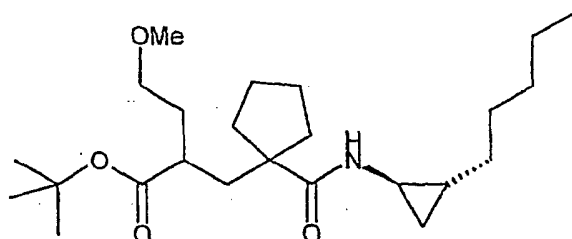
terc-Butyl-2-{[1-({[1-(hydroxymetyl)-3-fenylcyklopentyl]-amino}karbonyl)cyklopentyl]metyl}-4-metoxybutanoát



Titulný produkt sa pripraví podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 33 z produktu z preparatívneho postupu 99 a titulného produktu z preparatívneho postupu 87. R_f EtOAc : pentán (1 : 4) 0,25. ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 0,80-0,88 (m, 3H), 1,16-2,60 (m, 21 H), 1,42 (s, 9H), 3,04-3,32 (m, 1H), 3,57-3,84 (m, 2H), 4,56-4,77 (m, 1H), 5,94 (br. t, 1H), 7,16-7,28 (m, 5H).

Preparatívny postup 89

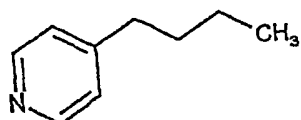
terc-Butyl-4-metoxi-2-[(1-{[(2-pentylcyklopropyl)amino]-
karbonyl}cyklopentyl)metyl]butanoát



Titulný produkt z preparatívneho postupu 99 (105 mg, 0,33 mmol), trietylamin (0,5 ml), HOBt (49 mg, 0,36 mmol) a 1-amino-2-pentylcyklopropán (100 mg, 0,33 mmol) sa pri teplote miestnosti pod atmosférou dusíka postupne zmieša v dichlórmétáne. Do vzniknutej zmesi sa pridá WSCDI (70 mg, 0,36 mmol). Reakčná zmes sa 16 hodín (cez noc) mieša a potom zriedi vodou. Organická vrstva sa oddelí, premyje vodným chloridom sodným, vysuší síranom horečnatým a odparí. Žltý olejovitý zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou za použitia zmesi EtOAc a pentánu (1 : 3) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (96 mg, 71%). R_f 1 : 6 (EtOAc : pentán) 0,2; ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 0,4-0,6 (m, 2H), 0,7-0,9 (m, 4H), 1,05-1,15 (m, 1H), 1,2-1,3 (m, 4H), 1,3-1,5 (m, 14H), 1,5-2,0 (m, 10H), 2,2-2,4 (m, 2H), 3,2-3,35 (m, 5H), 5,7-5,9 (br. s, 1H); LRMS: m/z, M+H, 410.

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

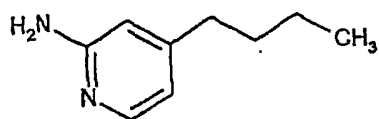
4-Butylpyridín



Lítiumdiizopropylamid sa pripraví tak, že sa n-butyl-lítium (43 ml 2,5M roztoku v hexánoch) pri -30°C pod atmosférou dusíka pridá do roztoku diizopropylamínu (10,9 g) v suchom tetrahydrofuráne (100 ml). Vzniknutá zmes sa 1 hodinu mieša pri teplote miestnosti. Získaný roztok sa ochladí na -78°C a pridá sa k nemu roztok 4-metylpyridínu (10 g) v suchom tetrahydrofuráne (20 ml). Zmes sa 1 hodinu mieša pri -78°C, hneď potom sa k nej počas 45 minút prikvapká jódpropán (20 g) vo forme roztoku v 20 ml suchého tetrahydrofuránu. Výsledná zmes sa 1 hodinu mieša, hneď potom sa k nej pridá nasýtený vodný roztok chloridu amónneho (20 ml). Získaná zmes sa extrahuje éterom (2 x 100 ml). Spojené éterové extrakty sa premyjú vodou (75 ml), vysušia síranom horečnatým a odparia na číry olej. Tento olejovitý zvyšok sa prečistí destiláciou za podtlaku vodnej vývevy (asi 4 kPa). Produkt sa zhromaždí ako frakcia destilovaná pri 84 až 90°C. ¹H NMR (400MHz, CDCl₃): δ 0,93 (t, 3H, Me), 1,30-1,42 (m, 2H), 1,57-1,66 (m, 2H), 2,60 (t, 2H), 7,06 (d, 2H), 8,46 (d, 2H).

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

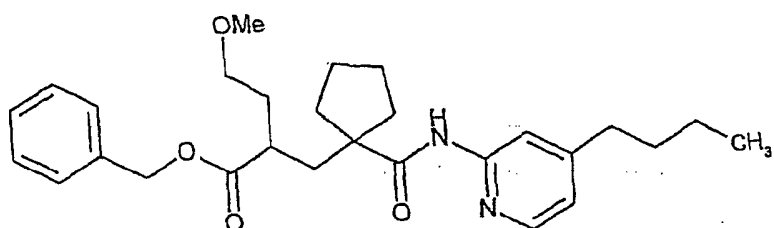
2-Amíno-4-butylpyridín



Titulný produkt sa pripraví z produktu z preparatívneho postupu 90 spôsobom opísaným v Journal of the Chemical Society, 1946, str. 936.

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

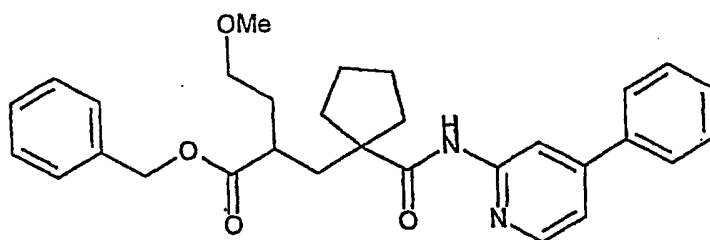
Benzyl-2-[(1-{[(4-butyl-2-pyridinyl)-amino]karbonyl}cyklopentyl)metyl]-4-metoxibutanoát



Titulný produkt sa pripraví podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 62, z 1-{2-[(benzyloxy)karbonyl]-4-metoxibutyl}cyklopentánkarboxylovej kyseliny (EP 274234, príklad 15) a produktu z preparatívneho postupu 90a. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,89 (t, 3H, Me), 1,36 (q, 2H, CH_2), 1,47-2,26 (m, 14H), 2,55-2,68 (m, 3H), 3,17 (s, 3H, OMe), 3,24 (t, 2H, CH_2OMe), 4,91 (d, 1H, CHPh), 5,00 (d, 1H, CHPh), 6,83 (d, 1H, Ar), 7,27-7,35 (m, 5H), 7,94 (brs, 1H, NH), 8,07 (s, 1H, Ar), 8,13 (d, 1H, Ar).

P r e p a r a t í v n y p o s t u p 9 2

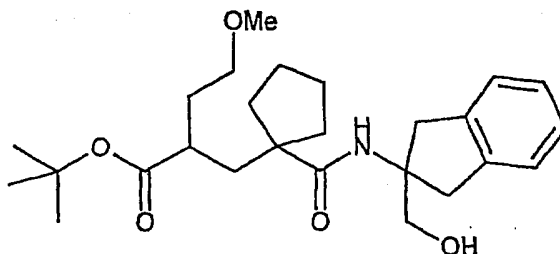
Benzyl-2-(1-{{(4-fenyl-2-pyridinyl)amino}karbonyl}cyklo-
pentyl)metyl]-4-metoxibutanoát



Titulný produkt sa pripraví podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 62 z 1-{2-[(benzyloxy)-karbonyl]-4-metoxibutyl}cyklopentánkarboxylovej kyseliny (EP 274234, príklad 15) a 2-amino-4-fenylpyridínu (pozri Journal of Medicinal Chemistry, 1978, str. 874). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,43-2,34 (m, 10H), 2,60-2,68 (m, 1H), 3,17 (s, 3H, OMe), 3,26 (t, 2H, CH_2), 4,93 (d, 1H, CHPh), 5,02 (d, 1H, CHPh), 7,187,32 (m, 5H, Ph), 7,38-7,46 (m, 3H), 7,61-7,69 (m, 2H), 8,02 (brs, 1H, NH), 8,29 (d, 1H, Ar), 8,57 (s, 1H, Ar).

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

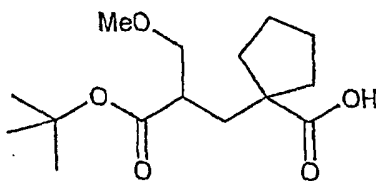
terc-Butyl-{[1-({[2-(hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl)metyl]-4-metoxibutanoát



Titulný produkt sa pripraví podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 33 z produktu z preparatívneho postupu 99 a 2-amino-2-hydroxymetyl-2,3-dihydroindénu (WO9110644; príklad 8a). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,40 (s, 9H), 1,44-2,00 (m, 12H), 2,37-2,43 (m, 1H), 2,99 (d, 1H), 3,08 (d, 1H), 3,20-3,38 (m, 7H), 3,65 (dd, 1H), 3,84 (dd, 1H), 4,40 (t, 1H), 6,00 (s, 1H), 7,10-7,18 (m, 4H).

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

terc-Butylester 3-(1-karboxycyklopentyl)-2-(metoxymetyl)-
propánovej kyseliny

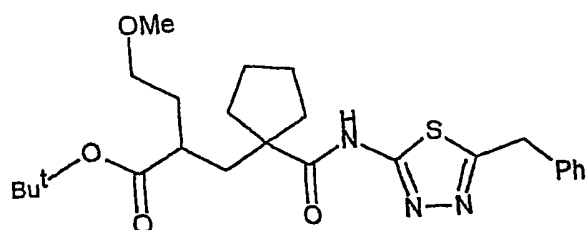


Titulný produkt z preparatívneho postupu 2 stupňa b) (10g, 41,3 mmol) sa pri -78°C vyberie do tetrahydrofuránu a do vzniknutého roztoku sa prikvapká lítiumdiizopropylamid (43 ml, 86,7 mmol, 2M roztok v tetrahydrofuráne). Výsledná zmes sa 40 minút mieša pri -78°C , hneď potom sa k nej prikvapká chlórmetyl-metyléter (4,7 ml, 62 mmol). Vzniknutý roztok sa cez noc pomaly nechá zahriať na teplotu miestnosti a rozloží prídavkom 2M kyseliny chlór vodíkovej (100 ml). Organické látky sa extrahujú etylacetátom (2 x 100 ml), vysušia síranom horečnatým a prečistia chromatografiou za použitia 2%, potom 3% a potom 5% metanolu v dichlórmetáne ako elučného činidla. Získa sa titulný produkt vo forme žltého oleja (6,2 g, 53 %). ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,40 (9H, s), 1,40-1,50 (4H, m), 1,20-1,80 (1H, m), 1,80-1,90 (1H, m), 2,00 (1H, dd), 2,00-

2,05 (3H, m), 2,20 (1H, dd), 2,50-2,60 (1H, m), 3,30 (1H, s), 3,30-3,40 (1H, m), 3,40 (1H, t); LRMS: m/z, MNH_4^+ 304.

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

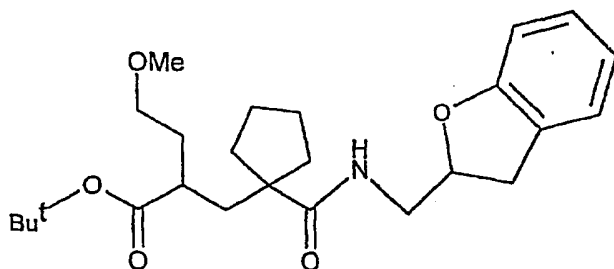
terc-Butyl-2-[(1-{[(5-benzyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]-karbonyl}cyklopentyl)metyl]-4-metoxybutanoát



Produkt z preparatívneho postupu 98 sa podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 33, nechá reagovať s produktom z preparatívneho postupu 99. Získa sa amid vo forme bielej peny. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 0,80 (t, 3H), 1,20-1,35 (m, 2H), 1,37 (s, 9H), 1,40-2,20 (m, 13H), 4,30 (s, 2H), 7,30 (m, 5H); LRMS m/z 459 (M+H).

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

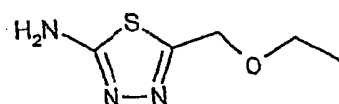
terc-Butyl-2-[(1-{[(2,3-dihydro-1-benzofuran-2-ylmetyl)-amino]karbonyl}cyklopentyl)metyl]-4-metoxybutanoát



Zlúčenina uvedená v nadpise sa pripraví z 2-aminometyl-2,3-dihydrobenzofuránu (J. Med. Chem., 1968, 11 (4), str. 844) a titulného produktu z preparatívneho postupu 99 podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 33. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 1,4 (s, 10H), 1,45-2,00 (m, 12H), 2,05 (m, 1H), 2,30 (m, 1H), 2,90 (m, 1H), 3,05 (m, 5H), 3,30 (m, 2H), 3,55-3,65 (m, 1H), 4,80 (m, 1H), 6,15 (m, 1H), 6,70 (d, 1H), 6,80 (t, 1H), 7,00 (d, 1 H), 7,05 (m, 1 H); LRMS m/z 432 (M+H).

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

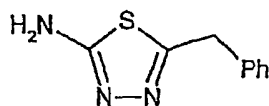
5-(Etoxymetyl)-1,3,4-tiadiazol-2-amín



Zlúčenina uvedená v nadpise sa vyrobí podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 31, z etoxyoctovej kyseliny.

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

5-Benzyl-1,3,4-tiadiazol-2-amín

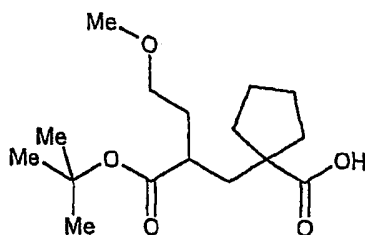


Zlúčenina uvedená v nadpise sa vyrobí podobným spôsobom, aký je opísaný v preparatívnom postupe 31, z fenylactovej kyseliny. ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): δ 4,10 (m, 2H), 7,30 (m,

5H); Analýza nájdené C, 56,73; H, 4,72; N, 21,67%. C₉H₉N₃S
vypočítané C, 56,62; H, 4,74; N, 21,97 %.

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

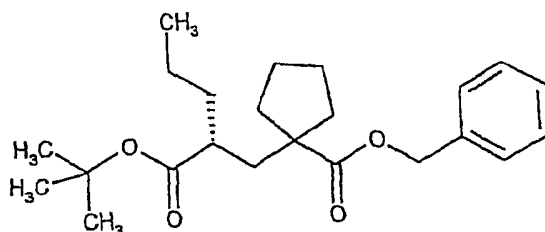
1-[2-(terc-Butoxykarbonyl)-4-metoxybutyl]cyklopentán- karboxylová kyselina



Roztok titulného produktu z preparatívneho postupu 2
stupňa b) v suchom tetrahydrofuráne (100 ml) sa pri -78°C pod
atmosférou dusíka pridá do miešaného roztoku lítiumdiizo-
propylamidu (130 ml) v zmesi hexánu (52 ml) a tetrahydro-
furánu (200 ml). Po 1 hodine sa do zmesi pridá 2-brómetyl-
metyléter v tetrahydrofuráne (100 ml), pričom sa teplota
udržiava na -78°C. Reakčná zmes sa cez noc nechá zahriať na
teplotu miestnosti, rozloží vodou (100 ml), 2M kyselinou
chlórovodíkovou okyslí na pH 1 a extrahuje etylacetátom (2 x
150 ml). Spojené organické extrakty sa vysušia síranom
horečnatým a skoncentrujú za zníženého tlaku. Surová kyselina
sa chromatografuje na silikagéli za použitia elučného
gradientu metanol : dichlórmetán (čistý dichlórmetán až 1 :
50). Získa sa olej (7,7 g, 25,6 mmol, 52 %). R_f 0,3 metanol,
dichlórmetán 1 : 20. ¹H NMR (CDCl₃, 400MHz): δ 1,4 (s, 9H),
1,4-1,7 (m, 7H), 1,75-1,95 (m, 2H), 2,0-2,15 (m, 3H), 2,32,4
(m, 1H), 3,3 (s, 3H), 3,3-3,4 (m, 2H). LRMS: m/z 299 (M-H⁺).

Preparatívny postup 100

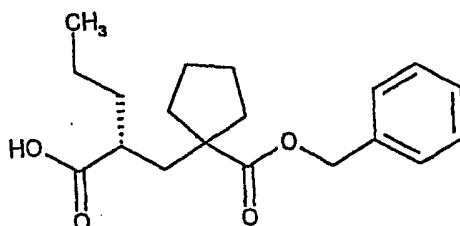
Benzyl-1-[2-(terc-butoxykarbonyl)pentyl]cyklopentánkarboxylát



Produkt z preparatívneho postupu 2 (513 mg, 1,80 mmol) sa rozpustí v metanole (5 ml 75% vodného metanolu). Do vzniknutého roztoku sa v jednej dávke pridá uhličitan cesný (300 mg, 0,95 mmol). Zo zmesi sa po 5 minútach za zníženého tlaku odstráni rozpúšťadlo. Zvyšok sa azeotropicky odparí s toluénom (2 x 5 ml) a pod atmosférou dusíka rozpustí v 7 ml suchého dimetylformamidu. Benzylbromid sa vyberie do 3 ml suchého dimetylformamidu a za miešania pomaly pridá do roztoku. Reakčná zmes sa 3 hodiny mieša pri teplote miestnosti, potom naleje do etylacetátu (40 ml) a premyje vodou (40 ml), 1M kyselinou chlórovodíkovou (20 ml) a vodou (2 x 20 ml). Organická vrstva sa vysuší síranom horečnatým a odparí. Hustý olejovitý zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou za použitia zmesi dichlórmetánu a pentánu (1 : 2) a potom zmesi etylacetátu a pentánu (1 : 2) ako elučného činidla. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (430 mg, 64 %). ^1H NMR (400MHz, CDCl_3): δ 0,83 (t, 3H), 1,17-1,32 (m, 3H), 1,42 (s, 9H), 1,36-1,68 (m, 7H), 1,80 (dd, 1H), 1,97-2,12 (m, 4H), 5,10 (pribl. q, 2H), 7,36 (m, 5H).

Preparatívny postup 101

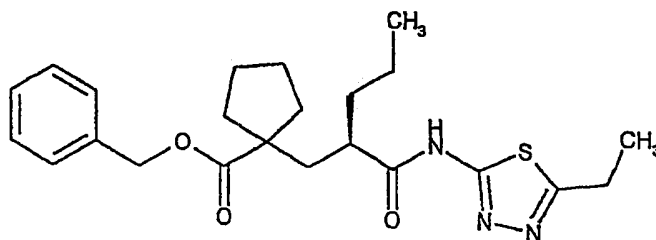
2-({1-[(Benzyloxy)karbonyl]cyklopentyl}metyl)pentánová kyselina



Produkt z preparatívneho postupu 100 (430 mg, 1,15 mmol) sa pod atmosférou dusíka vyberie do trifluóroctovej kyseliny. Vzniknutá zmes sa 16 hodín mieša a potom odparí do sucha. Zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou za použitia zmesi dichlórmetánu a metanolu (95 : 5) ako elučného činidla. Získa sa titulný produkt (353, 97 %). ^1H NMR (400MHz, CDCl_3) 0,82 (t, 3H), 1,20-1,74 (m, 10H), 1,80 (dd, 1H), 2,04-2,13 (m, 3H), 2,24-2,41 (m, 1H), 5,10 (app q., 2H), 7,36 (m, 5H).

Preparatívny postup 102

Benzyl-1-(2-{[(5-etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}-pentyl)cyklopentánkarboxylát



Produkt z preparatívneho postupu 101 (353 mg, 1,11 mmol), 2-amino-5-etyl-1,3,4-tiadiazol (od Lancaster) (150 mg,

1,15 mmol), WSCDI (255 mg, 1,20 mol), HOBt (173 mg, 1,20 mmol) a 4-metylmorfolín (0,24 ml, 1,20 mmol) sa zmieša v 5 ml acetonitrilu. Vzniknutá zmes sa 16 hodín mieša pri teplote miestnosti pod atmosférou dusíka, potom 3 hodiny zahrieva na 50°C a 3 hodiny na 80°C, ochladí na teplotu miestnosti a odparí. Zvyšok sa rozpustí v etylacetáte (10 ml) a etylacetátový roztok sa premyje roztokom hydrogénuhličitanu sodného (10 ml). Organická vrstva sa vysuší síranom horečnatým a odparí. Živičný zvyšok sa prečistí stĺpcovou chromatografiou. Získa sa zlúčenina uvedená v nadpise (430 mg, 90 %). ¹H NMR (400MHz, CDCl₃) 0,79 (t, 3H), 1,15-1,24 (m, 3H), 1,37 (t, 3H), 1,42-1,63 (m, 7H), 1,83 (dd, 1H), 2,00-2,20 (m, 3H), 2,42-2,51 (m, 1H), 2,97 (q, 2H), 5,01 (zrej. q, 2H), 7,30 (m, 5H).

Stanovenie NEP

Príprava a stanovenie rozpustnej neutrálnej endopeptidázy (NEP) z kôry obličiek psa, potkana a králika

Rozpustná NEP bola získaná z kôry obličiek a jej aktivita bola stanovená meraním rýchlosti štiepenia NEP substrátu, Abz-D-Arg-Arg-Leu-EDDnp, za vzniku jeho fluórescenčného produktu, Abz-D-Arg-Arg.

Skúšobný postup

1. Látky

Všetka voda bola dvojito deionizovaná.

1.1. Tkanivá

Ľudské obličky IIAM (Pensylvánia, USA)

Potkanie obličky (vlastný zdroj)

Kráľičie obličky (vlastný zdroj)

Psie obličky (vlastný zdroj)

1.2. Homogenizačné médium

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

2,42 g Tris (Fisher T/P630/60) sa zriedi v 1 litri vody a pH zriedenej zmesi sa za použitia 6M kyseliny chlór vodíkovej pri teplote miestnosti nastaví na 7,1. Do tejto zmesi sa pridá mannitol (Sigma M-9546).

1.3. Tris pufor (NEP pufor)

50ml 50mM Tris pH 7,4 (Sigma T2663) sa zriedi 950 ml vody.

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

Pripraví sa podľa pokynov firmy SNPE a skladuje sa ako prášok pri -20°C . 20mM zásobnej suspenzie sa pripraví opatrným resuspendovaním substrátu v Tris pufri, pričom by sa nemal používať ani vírivý pohyb ani sonikácia. 600 μl alikvóty 2mM zásobnej suspenzie sa skladujú až 1 mesiac pri -20°C . (Medeiros, M.A.S., Franca, M. S. F. et al., 1997, Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research, 30, 1157 až 1162).

1.5. Úplný produkt

Na dosku sa zaradia vzorky zodpovedajúce 100% konverzii substrátu na produkt, aby bolo možné stanoviť % obratu substrátu. Úplný produkt sa vytvorí inkubáciou 1 ml 2mM substrátu s 20 μl zásobnej suspenzie enzýmu počas 24 hodín pri 37°C .

1.6. Ukončovací roztok

Za použitia NEP pufru sa pripraví 300 μ M zásobný roztok Fosforamidónu (Sigma R7385), ktorý sa v 50 μ l alikvótoch skladuje pri -20°C.

1.7. Dimetylsulfoxid (DMSO)

1.8. Chlorid horečnatý (MgCl₂.6H₂O, Fisher M0600/53)

1.9. Čierne doštičky s 96 jamkami s guľatým dnom (Costar 3915)

1.10. TopSeal A (Packard 6005185)

1.11. Centrifugačné skúmavky

2. Špeciálne zariadenie

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

2.2. Miniprimer mixér Braun

2.3. Centrifuga Beckman CS-6R

2.4. Fluorstar Galaxy

2.5. Trepaný inkubátor Wesbart 1589

3. Postupy

3.1. Tkanivové preparáty

3.2. Psia, potkania, králičia a ľudská NEP sa získa z kôry obličiek za použitia modifikovaného spôsobu opísaného v Booth, A. G. a Kenny, A. J. (1974) Biochem. J. 142, 575 až 581.

3.3. Zmrazené obličky sa nechajú rozpustiť pri teplote miestnosti a od medully sa oddelí kôra.

3.4. Kôra sa jemne naseká a homogenizuje približne v 10 objemoch homogenizačného pufru (1.2) za použitia mixéra Miniprimer Braun (2.2)

3.5. Do homogenátu sa pridá chlorid horečnatý (1.8) (20,3 mg/g tkaniva) a vzniknutá zmes sa 15 minút mieša v kúpeli z ľadovej vody.

3.6. Homogenát sa v centrifúge Beckman (2.3) centrifuguje pri 1500xg (3820 min^{-1}) počas 12 minút. Supernatant sa premiestni do čerstvej centrifugačnej skúmavky a peleta sa odloží.

3.7. Supernatant sa v centrifúge Sorvall (2.1) centrifuguje pri 15 000xg ($12\,100 \text{ min}^{-1}$) počas 12 minút a supernatant sa zahodí.

3.8. Svetlo ružová vrstva na vrchu výslednej pelety sa oddelí a resuspenduje v homogenizačnom pufri obsahujúcom chlorid sodný (9 mg chloridu sodného v 5 ml pufru na 1 g tkaniva).

3.9. Suspenzia sa v centrifúge Beckman (2.3) centrifuguje pri 2200xg (4630 min^{-1}) počas 12 minút a peleta sa zahodí.

3.10. Supernatant sa v centrifúge Sorvall (2.1) centrifuguje pri 15 000xg ($12\,100\text{ min}^{-1}$) počas 12 minút a supernatant sa zahodí.

3.11. Výsledná peleta sa resuspenduje v homogenizačnom pufri obsahujúcom chlorid horečnatý (0,9 mg chloridu horečnatého v 0,5 ml pufri na 1 g tkaniva). Homogénna suspenzia sa získa za použitia mixéra Braun Miniprimer (2.2), v 100 μ l alikvótoch zmrazí a je možné ju skúšať na aktivitu NEP.

4.0. Stanovenie aktivity NEP

Aktivita sa za použitia alikvótov NEP pripravených vyššie opísaným spôsobom meria ako schopnosť štiepiť NEP špecifický peptidový substrát.

4.1. Pripraví sa 4% roztok DMSO v NEP pufri (4 ml DMSO v 96 ml NEP pufri).

4.2. Zásobný substrát, úplný produkt, enzým a roztok fosforamidónu sa nechajú rozpustiť na lade.

4.3. Do každej jamky sa pridá 50 μ l 4% roztoku DMSO v NEP pufri.

4.4. 2mM zásobný substrát sa zriedi 1 : 4, čím sa získa 50 μ M roztok. Do každej jamky sa pridá 100 μ l 50 μ M substrátu (konečná koncentrácia 25 μ M).

4.5. Reakcia sa zaháji prídavkom 50 μ l od každej koncentrácie zo sériového riedenia enzýmu (obvykle sa používa

riedenie 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600 a 1:3200). Do prázdnych jamiek sa pridá 50 μ l NEP pufru.

4.6. 2mM úplný produkt sa zriedi v pomere 1:80, čím sa získa 25 μ M roztok. 200 μ l 25 μ M produktu sa pridá do prvých štyroch jamiek novej doštičky.

4.7. Doštičky sa inkubujú v trepacom inkubátore počas 60 minút pri 37°C.

4.8. 300 μ M zásobný roztok fosforamidónu sa zriedi 1:100, čím sa získa 300nM roztok. Reakcia sa zastaví prídavkom 100 μ l 300nM fosforamidónu. Výsledná zmes sa inkubuje v trepacom inkubátore 20 minút pri 37°C a odčíta na zariadení Fluostar (ex320/em420).

5. Stanovenie NEP inhibície

5.1. Substrát, úplný produkt, enzým a zásobný roztok fosforamidónu sa nechajú rozpustiť na ľade.

5.2. Zásobné roztoky zlúčenín sa pripravujú za použitia 100% dimetylsulfoxidu a zriedia v pomere 1 : 25 NEP pufrom, čím sa získajú 4% dimetylsulfoxidové roztoky. Všetky ďalšie riedenia sa uskutočňujú za použitia 4% dimetylsulfoxidového roztoku (4 ml DMSO v 96 ml NEP pufru).

5.3. 50 μ l zlúčeniny sa dvojmo navzorkuje do 96jamkových doštičiek; do kontrolných jamiek a jamiek na slepý pokus sa navzorkuje 50 μ l 4% roztoku DMSO v NEP pufru.

5.4. 2mM zásobný substrát sa zriedi v pomere 1 : 40 za použitia NEP pufru, čím sa získa 50μM roztok (275 μl 2mM substrátu na 10,73 ml pufru postačuje pre 1 doštičku).

5.5. Zásobný enzým sa zriedi NEP pufrom (stanovené z kontrol aktivity).

5.6. 2mM zásobný úplný produkt sa zriedi v pomere 1 : 80 NEP pufrom, čím sa získa 25μM roztok. Do prvých štyroch jamiek separátnej doštičky sa navzorkuje 200 μl.

5.7. 300μM zásobný roztok fosforamidonu sa zriedi v pomere 1 : 1000, čím sa získa 300nM zásobný roztok (11 μl fosforamidónu na 10,99 ml NEP pufru).

5.8. Do každej jamky 96jamkovej doštičky sa pridajú nasledujúce látky:

Tabuľka látok, ktoré sa majú navzorkovať do 96jamkovej doštičky

	Zlúčenina/ DMSO	Tris pufor	Substrát	Enzým	Úplný produkt
vzorky	2 μl zlúče- niny	50 μl	100 μl	50 μl	žiadny
kontrola	2 μl DMSO	50 μl	100 μl	50 μl	žiadny
slepé					
pokusy	2 μl DMSO	100 μl	100 μl	žiadny	žiadny
s úplným produktom	2 μl DMSO	žiadny	žiadny	žiadny	200 μl

5.9. Reakcia sa zaháji prídavkom NEP enzýmu a pokračuje jednohodinovou inkubáciou pri 37°C v trepacom inkubátore.

5.10. Reakcia sa skončí 100 µl 300nM fosforamidónu. Zmes sa inkubuje 20 minút pri 37°C v trepacom inkubátore. Odpočet sa uskutočňuje na zariadení Fluostar (ex320/em420).

6. Výpočty

Aktivita enzýmu NEP sa stanoví za prítomnosti a za neprítomnosti zlúčeniny a vyjadrí sa pomocou percent.

FU = jednotky fluórescencie

Kontrolná aktivita (%) (obrat enzýmu) =

$$= \frac{\begin{array}{cc} \text{Stredná hodnota} & \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU kontroly} & - \text{FU slepých pokusov} \end{array}}{\begin{array}{cc} \text{Stredná hodnota} & \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU s úplným} & - \text{FU slepých pokusov} \\ \text{produktom} & \end{array}} \times 100$$

Aktivita s inhibítorom (%) =

$$= \frac{\begin{array}{cc} \text{Stredná hodnota} & \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU zlúčeniny} & - \text{FU slepých pokusov} \end{array}}{\begin{array}{cc} \text{Stredná hodnota} & \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU úplného} & - \text{FU slepých pokusov} \\ \text{produktu FU} & \end{array}} \times 100$$

Aktivita vyjadrená ako % kontroly =

$$= \frac{\text{Aktivita s inhibítorom (\%)}}{\text{Kontrolná aktivita (\%)}} \times 100$$

Preloží sa S-krivka závislosti odpovedi na dávke (% aktivity (% kontroly) versus koncentrácia zlúčeniny) a za použitia balíčku LabStats na extrapoláciu kriviek v Exceli sa vypočítajú hodnoty IC₅₀.

Stanovenie ACE

Príprava a stanovenie rozpustného enzýmu konvertujúceho angiotensín (ACE) z kôry obličiek prasťa a človeka

Rozpustný NEP bol získaný z kôry obličiek a jeho aktivita bola stanovená meraním rýchlosti štiepenia ACE substrátu, Abz-Gly-p-nitro-Phe-Pro-OH, za vzniku jeho fluórescenčného produktu, Abz-Gly.

1. Látky

Všetka voda bola dvojito deionizovaná.

1.1. Ľudské obličky IAM (Pensylvánia, USA) alebo
UK Human Tissue Bank (UK HTB)

1.2. ACE z obličiek prasťa Sigma (A2580)

1.3. Homogenizačný pufor 1
100mM mannitol a 20mM Tris o pH 7,1

2,42 g Tris (Fisher T/P630/60) sa zriedi 1 litrom vody a pH zriedenej zmesi sa za použitia 6M kyseliny chlór vodíkovej pri teplote miestnosti nastaví na 7,1. Do tejto zmesi sa pridá 18,22 g mannitolu (Sigma M-9546).

1.4. Homogenizačný pufor 2

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

Do 500 ml homogenizačného pufu 1 (1.4) sa pridá chlorid horečnatý (1,017 g).

1.4. Tris pufor (ACE pufri)

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

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

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

ACE substrát sa skladuje vo forme prášku pri -20°C.

2mM zásobnej suspenzie sa pripraví starostlivým resuspendovaním substrátu v ACE pufri, pričom by sa nemal používať ani vírivý pohyb ani sonikácia. 400µl alikvóty 2mM zásobnej suspenzie sa skladujú až 1 mesiac pri -20°C.

1.7. Úplný produkt

Na doštičku sa zaradia vzorky zodpovedajúce 100% konverzii substrátu na produkt, aby bolo možné stanoviť % obratu substrátu (pozri výpočty). Úplný produkt sa vytvorí inkubáciou 1 ml 2mM substrátu s 20 µl zásobnej suspenzie enzýmu počas 24 hodín pri 37°C.

1.8. Ukončovací roztok

0,5M EDTA (Promega CAS (6081/92/6)) sa zriedi v pomere 1 : 250 ACE pufrom, čím sa získa 2mM roztok.

1.9. Dimetylsulfoxid (DMSO)

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

1.11. Čierne doštičky s 96 jamkami s guľatým dnom (Costar 3915 alebo Packard)

1.12. TopSeal A (Packard 6005185)

1.13. Centrifugačné skúmavky

2. Špeciálne vybavenie

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

2.2. Miniprimer mixér Braun

2.3. Centrifúga Beckman CS-6R

2.4. Fluorstar Galaxy

2.5. Trepací inkubátor Wesbart 1589

3. Postupy

3.1. Tkanivové preparáty

3.2. Ľudský ACE sa získa z kôry obličiek za použitia modifikovaného spôsobu opísaného v Booth, A. G. a Kenny, A. J. (1974) Biochem. J. 142, 575 až 581.

3.3. Zmrazené obličky sa nechajú rozpustiť pri teplote miestnosti a od medully sa oddelí kôra.

3.4. Kôra sa jemne naseká a homogenizuje približne v 10 objemoch homogenizačného pufri 1 (1.4) za použitia mixéra Miniprimer Braun (2.2)

3.5. Do homogenátu sa pridá chlorid horečnatý (1.11) (20,3 mg/g tkaniva) a vzniknutá zmes sa 15 minút mieša v kúpeli z ľadovej vody.

3.6. Homogenát sa v centrifúge Beckman (2.3) centrifuguje pri 1500xg (3820 min^{-1}) počas 12 minút. Supernatant sa premiestni do čerstvej centrifugačnej skúmavky a peleta sa zahodí.

3.7. Supernatant sa v centrifúge Sorvall (2.1) centrifuguje pri 15 000xg ($12\,100 \text{ min}^{-1}$) počas 12 minút a supernatant sa zahodí.

3.8. Svetlo ružová vrstva na vrchu výslednej pelety sa oddelí a resuspenduje v homogenizačnom pufri 2 (1.5) (5 ml pufri na 1 g tkaniva).

3.9. Suspenzia sa v centrifúge Beckman (2.3) centrifuguje pri 2200xg (4630 min^{-1}) počas 12 minút a peleta sa zahodí.

3.10. Supernatant sa v centrifúge Sorvall (2.1) centrifuguje pri 15 000xg ($12\,100 \text{ min}^{-1}$) počas 12 minút a supernatant sa zahodí.

3.11. Výsledná peleta sa resuspenduje v homogenizačnom pufri 2 (0,5 ml pufri na 1 g tkaniva). Homogénna suspenzia sa získa za použitia mixéra Braun Miniprimer (2.2), v 100µl alikvótoch zmrazí a je možno ju skúšať na aktivitu ACE.

4.0. Stanovenie aktivity ACE

Aktivita sa stanoví za použitia alikvótov ACE pripravených vyššie opísaným spôsobom a meria ako schopnosť štiepiť ACE špecifický peptidový substrát.

Prasačí ACE (1.2) sa rozmrazí a resuspenduje v pufri ACE (1.6) pri 0,004U/µl, a vzniknutá suspenzia sa zmrazí vo forme 50µl alikvótov.

4.1. Pripraví sa 4% roztok DMSO v ACE pufri (4 ml DMSO v 96 ml ACE pufri).

4.2. Substrát (1.7), úplný produkt (1.8), enzým (1.1, 1.2, 1.3) sa nechajú rozpustiť na ľade.

4.3. Do každej jamky sa pridá 50 µl 4% roztoku DMSO v pufri ACE.

4.4. 2mM zásobný substrát sa zriedi 1 : 100, čím sa získa 20µM roztok. Do každej jamky sa pridá 100µl 20µM substrátu (konečná koncentrácia 10µM).

4.5. Reakcia sa zaháji prídavkom 50 µl od každej koncentrácie zo sériového riedenia enzýmu (obvykle sa používa riedenie 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600 a 1:3200). Do prázdnych jamiek sa pridá 50 µl ACE pufri.

4.6. 2mM úplný produkt sa zriedi v pomere 1:200, čím sa získa 10 μ M roztok. 200 μ l 10 μ M produktu sa pridá do prvých štyroch jamiek novej doštičky.

4.7. Doštičky sa inkubujú v trepacom inkubátore počas 60 minút pri 37°C.

4.8. Reakcia sa zastaví prídavkom 100 μ l 2mM EDTA v pufrí ACE. Výsledná zmes sa inkubuje v trepacom inkubátore 20 minút pri 37°C a sníma na zariadení Fluostar (ex320/em420).

5. Stanovenie inhibície ACE

5.1. Zásobný substrát, úplný produkt a enzým sa nechajú rozpustiť na lade.

5.2. Zásobné roztoky zlúčenín sa pripraví za použitia 100% dimetylsulfoxidu a zriedia v pomere 1 : 25 pufrom ACE, čím sa získajú 4% dimetylsulfoxidové roztoky. Všetky ďalšie riedenia sa uskutočňujú za použitia 4% dimetylsulfoxidového roztoku v pufrí ACE (4 ml DMSO v 96 ml pufru ACE).

5.3. 50 μ l zlúčeniny sa dvojmo navzorkuje do 96jamkových doštičiek, do kontrolných jamiek a jamiek pre slepý pokus sa navzorkuje 50 μ l 4% roztoku DMSO v pufrí ACE.

5.4. Stupne 5.2 a 5.3 je možné uskutočňovať ručne alebo za použitia viacsondových robotov Packard.

5.5. 2mM zásobný substrát sa zriedi v pomere 1 : 100 za použitia pufru ACE, čím sa získa 20 μ M roztok (10 μ M konečná skúšková koncentrácia) (110 μ l 2mM substrátu pridaného k 10,89 ml pufru stačí pre 1 doštičku).

5.6. Zásobný enzým sa zriedi pufrom ACE (stanovené z kontrol aktivity) (4.0).

5.7. 2mM zásobný úplný produkt sa zriedi v pomere 1 : 200 pufrom ACE, čím sa získa 10μM roztok. Do prvých štyroch jamiek separátnej doštičky sa navzorkuje 200 μl.

5.8. 0,5mM zásobný roztok EDTA sa zriedi 1 : 250, čím sa získa 2mM zásobný roztok (44 μl EDTA v 10,96 ml pufru ACE).

5.9. Do každej jamky 96jamkovej doštičky sa pridajú nasledujúce látky:

Tabuľka látok, ktoré sa navzorkujú do 96jamkovej doštičky

	Zlúčenina/ DMSO	Tris pufor	Substrát	Enzým ACE	Úplný produkt
vzorky	2 μl zlúče- niny	50 μl	100 μl	50 μl	žiadny
kontrola	2 μl DMSO	50 μl	100 μl	50 μl	žiadny
slepé					
pokusy	2 μl DMSO	100 μl	100 μl	žiadny	žiadny
s úplným	2 μl DMSO	žiadny	žiadny	žiadny	200 μl
produktom					

5.10. 50 μl každého roztoku zlúčenín s najvyššou koncentráciou použitou pri skúške sa dvojmo navzorkuje do rovnakých 96-jamkových doštičiek ako úplný produkt (5.7). Za účelom stanovenia fluórescencie sa pridá 150 μl pufru ACE.

5.11. Reakcia sa zaháji prídavkom enzýmu ACE a pokračuje jednohodinovou inkubáciou pri 37°C v trepacom inkubátori.

5.12. Reakcia sa skončí 100 µl 2mM EDTA. Zmes sa inkubuje 20 minút pri 37°C v trepacom inkubátori. Odečítanie sa uskutočňuje za použitia zariadenia BMG Fluostar Galaxy (ex320/em420).

6. Výpočty

Aktivita enzýmu ACE sa stanoví za prítomnosti a za neprítomnosti zlúčeniny a vyjadrí sa pomocou percent.

FU = jednotky fluórescencie

(i) Kontrolná aktivita (%) (obrat enzýmu) =

$$= \frac{\begin{array}{l} \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU kontroly} \end{array} - \begin{array}{l} \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU slepých pokusov} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU s úplným} \\ \text{produktom} \end{array} - \begin{array}{l} \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU slepých pokusov} \end{array}} \times 100$$

(ii) Aktivita s inhibítorom (%) =

$$= \frac{\begin{array}{l} \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU zlúčeniny} \end{array} - \begin{array}{l} \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU slepých pokusov} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU úplného} \\ \text{produktu FU} \end{array} - \begin{array}{l} \text{Stredná hodnota} \\ \text{slepých pokusov} \end{array}} \times 100$$

(iii) Aktivita vyjadrená ako % kontroly =

$$= \frac{\text{Aktivita s inhibítorom (\%)}}{\text{Kontrolná aktivita (\%)}} \times 100$$

alebo

$$= \frac{\begin{array}{cc} \text{Stredná hodnota} & \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU zlúčeniny} & \text{FU slepých pokusov} \end{array} - \begin{array}{cc} \text{Stredná hodnota} & \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU kontroly} & \text{slepých pokusov} \end{array}}{\begin{array}{cc} \text{Stredná hodnota} & \text{Stredná hodnota} \\ \text{FU kontroly} & \text{slepých pokusov} \end{array}} \times 100$$

(iv) % Inhibícia = 100 - % kontrolná

(v) Pre fluórescentné zlúčeniny sa stredná hodnota FU slepých pokusov obsahujúcich zlúčeninu (5.10) odčíta zo stredných hodnôt FU zlúčeniny použitých pre výpočet % aktivity.

Preloží sa S-krivka závislosti odpovedi na dávke (% aktivity (% kontroly) versus koncentrácia zlúčeniny) a za použitia balíčku LabStats na extrapoláciu kriviek v Exceli sa vypočítajú hodnoty IC₅₀.

Konkrétne zlúčeniny vykázali hodnotu IC₅₀ proti NEP menej ako 5000nM.

Okrem toho rad zo skúšaných zlúčenín vykázal 300násobnú selektivitu voči NEP oproti ACE.

Zvierací model sexuálneho vzrušenia

Vyvinuli sme zvierací model fyziológie odpovedi sexuálneho vzrušenia, ku ktorej dochádza pri sexuálnom

vzrušení ženy. Tento model priamo reflektuje klinické údaje získané u dobrovoľníkov. Tento model využíva laserových Dopplerovských technológií na zaznamenanie malých zmien vaginálneho a klitoriálneho prekrvenia indukovaných stimuláciou pelvického nervu alebo vasoaktívnymi neurotransmitermi. Počas sexuálneho vzrušenia dochádza na zvýšené prekrvenie genitálií, ktoré je vyvolané zvýšenou inerváciou z pelvického nervu. Toto zvýšenie prekrvenia genitálií vedie na zvýšenie lubrikácie a citlivosti genitálií, ktoré je spojené so sexuálnym vzrušením. Hlavnou príčinou FSAD je znížené prekrvenie genitálií, ktoré sa prejavuje v zníženom prekrvení vagíny, lábií a klitorisu. FSAD žien je možné liečiť tak, že sa obnoví normálna odpoveď sexuálneho vzrušenia. To je možné dosiahnuť zvýšením prekrvenia genitálií.

Zvýšenie prekrvenia vagíny a klitorisu stimuláciou pelvického nervu, pozorované vo zvieracom modeli, predstavuje endogénne vaskulárne účinky pozorované počas sexuálneho vzrušenia ženy. Tento model je teda možné použiť 1) na identifikáciu mechanizmu, ktorý sa zúčastňuje na regulácii prekrvenia vagíny a klitorisu a 2) na validáciu nových prístupov na zvýšenie prekrvenia genitálií.

Pri modelovej skúške na zvieratách, uskutočňovanej podľa nasledujúceho protokolu, bola za účelom demonštrácie prírastku vzostupu prekrvenia genitálií kráľíka vyvolaného stimuláciou pelvického nervu podávaná zlúčenina z príkladu 29.

Boli skúšané dva spôsoby podávania: a) intravenóznym a b) topickým. Obidve skúšky boli uskutočňované na anestetizovaných kráľíkoch, ako modeli, za použitia nasledujúceho protokolu.

Postupy

Anestetický protokol

Samice novozélandského králika (asi 2,5 kg) sa premedikujú kombináciou medetomidínu (Domitor^(R), 0,5 ml/kg i.m.), a ketamínu (Vetalar^(R), 0,25 ml/kg i.m), pričom sa udržiava prívod kyslíka za použitia masky na tvári. Králici sa tracheotomizujú za použitia endotracheálnej trubice bez manžety Protex^(R) 3 ID., napoja na ventilátor a udržiavajú pri ventilačnej frekvencii 30 až 40 dychov za minútu s priemerným respiračným objemom 18 až 20 ml a maximálnom tlaku 981 Pa. Anestézia sa potom prevedie na izoflurán a ventilácia sa uskutočňuje kyslíkom (2 l/min). Pravá marginálna ušná vena sa kanyluje za použitia katétra 23G alebo 24G a perfunduje sa laktátovaným Ringerovým roztokom (0,5 ml/min). Králik sa počas invazívnej chirurgie udržiava na 3% izofluráne, ktorý sa pri udržiavacej anestézii zníži na 2%.

Stimulácia pelvického nervu

Do abdominálnej dutiny sa vedie rez strednou čiarou brucha. Rez je asi 5 cm tesne nad ohanbovou kosťou. Tuk a svaly sa tupo oddelia, čím sa odhalí hypogastrický nerv, ktorý zbieha do telnej dutiny. Je potrebné udržať bočnú stenu pubis uzavrenú, aby nedošlo na porušenie femorálnej vény a artérie, ktoré ležia pod ohanbovou kosťou. Ischiatický a pelvický nerv sú uložené hlbšie a objavajú sa po ďalšej disekcii na dorzálnnej strane králika. Po identifikácii ischiatického nervu je možné jednoducho lokalizovať pelvický nerv. Pojem "pelvický nerv" je používaný voľne; anatomické knihy pri identifikácii týchto nervov v dostatočných detailoch zlyhávajú. Stimulácia tohto nervu ale vyvoláva zvýšenie vaginálneho a klitoriálneho

prekrvenia, a inerváciu panvovej oblasti. Pelvický nerv sa zbaví obklopujúcich tkanív a okolo neho sa umiestni bipolárna stimulačná elektróda Harvard. Nerv sa mierne nadvihne, aby sa vyvolalo určité napätie, hneď potom sa bezpečne upevní v polohe. Okolo nervu a elektródy sa nanesie asi 1 ml ľahkého parafínového oleja. Ten funguje ako ochranný lubrikant nervu a zabraňuje kontaminácii elektródy krvou. Elektróda sa spojí so stimulátorom Grass S88. Pelvický nerv sa stimuluje pri nasledujúcich parametroch: 5 V, šírka impulzu 0,5 ms, trvanie stimulu 10 sekúnd a frekvencia v rozmedzí 2 až 16 Hz. Pri stimulácii nervu každých 15 až 20 minút sa dosiahnu reprodukovateľné odpovede.

Na začiatku každej skúšky sa stanoví krivka závislosti odpovedi na frekvencii za účelom stanovenia optimálnej frekvencie, ktorá sa používa ako submaximálne odpovede, obvykle 4 Hz. Zlúčenina (zlúčeniny), ktorá sa má skúšať, sa podá infúziou do femorálnej vény za použitia infúznej pumpy Harvard 22 umožňujúcej pokračovanie 15minútového stimulačného cyklu.

Umiestnenie laserovej Dopplerovskej sondy

Uskutoční sa rez ventrálnou strednou čiarou na kaudálnom konci pubis, aby sa exponovala pubická oblasť. Spojivové tkanivá sa odstránia, čím sa exponuje obal klitorisu. Tým sa zaistí, že stena bude zbavená malých ciev. Vonkajšia stena vagíny sa tiež exponuje a zbaví všetkého spojivového tkaniva. Jedna laserová Dopplerovská prietoková sonda sa vloží 3 cm do vagíny tak, že držiak sondy zostáva stále viditeľný. Druhá sonda sa umiestni tak, aby ležala práve nad vonkajšou stenou klitorisu. Polohy týchto sôd sa upravujú, dokiaľ sa nezíska signál. Druhá sonda sa umiestni tesne nad povrch ciev

vonkajšej vaginálnej steny. Obidve sondy sa v polohách upevnia svorkami.

Vaginálne a klitoriálne prekrvenie sa zaznamenáva buď vo forme čísiel priamo z prietokomera za použitia softwarového systému na zber dát Po-ne-mah (Ponemah Physiology Platform, Gould Instrument Systems Inc.) alebo nepriamo zo stopy pásového záznamníka Gould. Na začiatku skúšky sa uskutoční kalibrácia (0 až 125 ml/min/100 g tkaniva).

Podanie inhibítorov

a) Intravenózne podávanie

Kanylácia ciev

Oblasť ľavej slabiny králika sa oholí a pozdĺž stehna sa uskutoční vertiálny rez s dĺžkou asi 5 cm. Exponuje sa femorálna vena a artéria, ktoré sa izolujú a kanylujú PVC katétrom (17G) na infúziu liečiv a zlúčenín. Pri femorálnej artérii sa kanylácia opakuje, pričom sa katéter zavedie do hĺbky asi 10 cm, aby sa zaistilo, že katéter dosiahne abdominálnu aortu. Arteriálny katéter sa spojí so systémom Gould, aby bolo možné zaznamenávať krvný tlak. Arteriálnym katétrom sa tiež odoberajú vzorky na analýzu krvných plynov. Meria sa systolický a diastolický tlak a za použitia vzorca $(\text{diastolický} \times 2 + \text{systolický}) \div 3$ sa vypočítá stredný arteriálny tlak. Srdečná frekvencia sa meria pomocou pulzného oxymetra a softwarového systému na zber dát Po-ne-mah (Ponemah Physiology Platform, Gould Instrument Systems Inc.).

Titulná zlúčenina z príkladu 29 sa pripraví ako roztok v soľnom roztoku alebo roztoku 5% glukózy (200 µl 50% glukózy v

1,8 ml vody pre injekcie). Inhibítor a vehikulum ako kontrola sa podávajú infúziou použitím pumpy Harvard 22 rýchlosťou 500 μ l/min pomocou trojcestného napojenia do femorálnej vény. Po infúzii sa katéter prepláchne heparinizovaným solným roztokom (Hepsaline) tak, aby v katétri nezostal žiadny inhibítor NEP.

b) Topické podávanie inhibítorov

Topická formulácia sa pripraví tak, že sa zlúčenina z príkladu 29 zmieša pri 90% nasýtení so zmesou 50 % propylén-glykolu a 50 % vody. Viskozita zmesi sa zvýši karboxymetylcelulózou (CMC), čím sa dosiahne konečná koncentrácia asi 2,5 mg/ml. Podanie 0,2 ml poskytne maximálnu dávku 0,5 mg.

Táto formulácia sa aplikuje topicky na vnútornú stenu vagíny za použitia aplikátora získaného vlastným vývojom. Pri tom sa zásadne postupuje takto: odrežú sa rúrky (ID 3 mm, OD 4 mm) s dĺžkou 10 cm, ktoré sa pripoja k 1ml injekčným striekačkám. Striekačky sa naplnia kontrolným gélom (ktorý neobsahuje žiadnu účinnú prísadu) alebo vyššie opísanou formuláciou. Rúrka sa vloží 2 cm do vagíny a miernym tlakom, aby sa nepoškodila Dopplerovská sonda, sa vytlačí 0,2 ml gélu. Zavedenie gélu nevyvoláva žiadne veľké roztiahnutie vagíny, takže počas obdobia stimulácie aj obdobia bez stimulácie nedochádza na väčší únik gélu z vagíny.

Výsledky a diskusie

Pri našich štúdiách bol vyvinutý robustný reprodukateľný model fyziológie sexuálneho vzrušenia. Za použitia tohto modelového organizmu, anestetizovaného králik, sme schopní merať malé zmeny prekrvenia genitálií za použitia laserovej Dopplerovskej technológie. Na stimuláciu neuronál-

nych efektov sexuálneho vzrušenia sa používa stimulácia pelvického nervu. FSAD súvisí so znížením prekrvením genitálií a môže ním byť vyvolaná.

Naše výsledky ukazujú, že titulná zlúčenina z príkladu 29 v klinicky relevantných dávkach významne posilňuje zvýšenie prekrvenia genitálií vyvolané stimuláciou pelvického nervu.

Na obr. 1 je znázornený vplyv intravenózneho podania titulnej zlúčeniny z príkladu 29 na prekrvenie vagíny a klitoris. Intravenózne podanie podporuje zvýšenie vaginálneho prekrvenia indukované stimuláciou pelvického nervu pri modelovej skúške sexuálneho vzrušenia na anestetizovaných králikoch. Opakovaná stimulácia pelvického nervu v 15minútových intervaloch indukuje reprodukovateľné zvýšenie vaginálneho prekrvenia (šrafovaný stĺpec). Intravenózne podanie zlúčeniny z príkladu 29 (šedý stĺpec) zdvíha pík zvýšenia vaginálneho a klitoriálneho prekrvenia indukovaného submaximálnymi stimulačnými frekvenciami (napríklad 4Hz) v porovnaní so zvýšeniami pozorovanými počas porovnávacích kontrolných stimulácií alebo za použitia kontrolného vehikula (šrafovaný stĺpec). Boli pozorované nasledujúce simultánne zvýšenia - iv. infúzia bólu 1,0 mg/kg indukovala 131% zvýšenie klitoriálneho prekrvenia a 92% zvýšenie vaginálneho prekrvenia ($n = 3$). Dáta sú vyjadrené ako stredná hodnota $\pm$ SEM. Všetky zmeny boli monitorované za použitia laserovej Dopplerovskej technológie.

Na obr. 2 je znázornený účinok na vaginálne prekrvenie v závislosti na čase po topickom podaní titulnej zlúčeniny z príkladu 29. Neboli pozorovateľné žiadne zmeny na nestimulované/bazálne prekrvenie vagíny. Po úvodnom zavedení rúrky

alebo aplikácii 0,2 ml gélu obsahujúceho len vehikulum neboli tiež pozorované žiadne zmeny vzhľadom k nestimulovanému/bazálnemu prekrveniu vagíny.

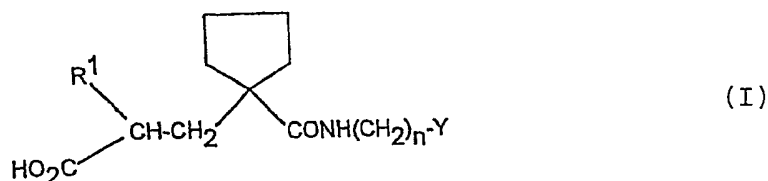
Opakovaná stimulácia pelvického nervu pri submaximálnej frekvencii v intervaloch 15 minút indukuje reprodukovateľné zvýšenia prekrvenia vagíny (plné krúžky). Intravaginálna aplikácia titulného produktu z príkladu 29 (0,2 mg/ml) zvyšuje pík nárastu prekrvenia vagíny (prázdne krúžky) v porovnaní s kontrolnými zvýšeniami. Titulný produkt z príkladu 29 neovplyvňoval bazálne (nestimulované) prekrvenie (prázdne štvorčeky) v porovnaní s kontrolným prekrvením (plné štvorčeky). Všetky zmeny boli monitorované Dopplerovskou technológiou. Dáta sú vyjadrené ako stredná hodnota $\pm$ SEM ($n = 4$), $p < 0,001$ (Študentov t-test).

Pri tejto skúške sa ukázalo, že titulný produkt z príkladu 29 pri topickom podaní významne posilňuje zvýšenie vaginálneho prekrvenia vyvolané stimuláciou pelvického nervu. Nárast zvýšenia je porovnateľný so zvýšeniami pozorovanými po intravenóznom podaní zlúčeniny. Je zaujímavé, že na nárast zvýšenia došlo pri koncentrácii zlúčeniny z príkladu 29 v plazme, pri ktorej by bola potenciácia vaginálneho prekrvenia neočakávaná.

Pri tejto skúške sa teda ukázalo, že intravaginálne, topické podanie zlúčeniny podľa vynálezu vedie na nárast zvýšenia prekrvenia vagíny vyvolaného stimuláciou pelvického nervu.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Použitie zlúčenín všeobecného vzorca I



kde

R^1 predstavuje C_{1-6} alkylskupinu, ktorá je prípadne substituovaná jedným alebo viacerými substituentmi, ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne, zvolenými zo súboru pozostávajúceho z halogénu, hydroxyskupiny, C_{1-6} alkoxyskupiny, C_{2-6} hydroxy-alkoxy, C_{1-6} alkoxy(C_{1-6} alkoxy)skupiny, C_{3-7} cykloalkyl-skupiny, C_{3-7} cykloalkenylskupiny, arylskupiny, aryloxyskupiny, (C_{1-4} alkoxy)aryloxyskupiny, heterocyklylskupiny, heterocyklyloxyskupiny, skupiny $-NR^2R^3$, $-NR^4COR^5$, $-NR^4SO_2R^5$, $-CONR^2R^3$, $-S(O)_pR^6$, $-COR^7$ a $-CO_2(C_{1-4}alkyl)$; alebo R^1 predstavuje C_{3-7} cykloalkylskupinu, arylskupinu alebo heterocyklylskupinu, z ktorých každá je prípadne substituovaná jedným alebo viacerými substituentmi zvolenými z uvedeného súboru, pričom tieto substituenty môžu byť rovnaké alebo rôzne, a tento súbor ďalej zahŕňa C_{1-6} alkylskupinu; alebo R^1 predstavuje C_{1-6} alkoxyskupinu, $-NR^2R^3$ alebo $-NR^4SO_2R^5$; kde

R^2 a R^3 predstavuje každý nezávisle vodík, C_{1-4} alkylskupinu, C_{3-7} cykloalkylskupinu (prípadne substituovanú hydroxy-

skupinou alebo C_{1-4} alkoxyskupinou), arylskupinu, $(C_{1-4}$ alkyl)arylskupinu, C_{1-6} alkoxyarylskupinu alebo heterocyklylskupinu; alebo R^2 a R^3 dohromady s atómom uhlíka, ku ktorému sú pripojené, tvoria pyrrolidiny-, piperidino-, morfolino-, piperaziny- alebo $N-(C_{1-4}$ alkyl)piperaziny-skupinu;

R^4 predstavuje vodík alebo C_{1-4} alkylskupinu;

R^5 predstavuje C_{1-4} alkylskupinu, CF_3 , arylskupinu, $(C_{1-4}$ alkyl)arylskupinu, $(C_{1-4}$ alkoxy)arylskupinu, heterocyklylskupinu, C_{1-4} alkoxyskupinu alebo skupinu $-NR^2R^3$, kde R^2 a R^3 majú vyššie uvedený význam;

R^6 predstavuje C_{1-4} alkylskupinu, arylskupinu, heterocyklylskupinu alebo skupinu NR^2R^3 , kde R^2 a R^3 majú vyššie uvedený význam; a

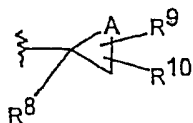
R^7 predstavuje C_{1-4} alkylskupinu, C_{3-7} cykloalkylskupinu, aryl alebo heterocyklylskupinu;

p predstavuje číslo 0, 1, 2 alebo 3;

n predstavuje číslo 0, 1 alebo 2;

spájacia skupina $-(CH_2)_n-$ je prípadne substituovaná C_{1-4} alkylskupinou, C_{1-4} alkylskupinou substitutovanou jedným alebo viacerými atómami fluóru alebo fenylskupinou, C_{1-4} alkoxyskupinou, hydroxyskupinou, hydroxy(C_{1-3} alkyl)skupinou, C_{3-7} cykloalkylskupinou, arylskupinou alebo heterocyklylskupinou;

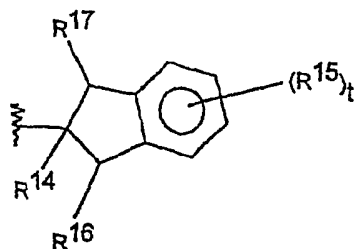
Y predstavuje skupinu vzorca



kde

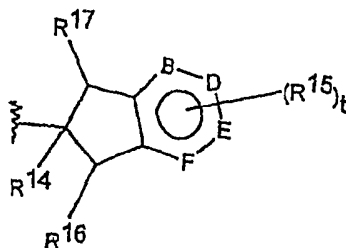
- A predstavuje skupinu $-(CH_2)_q-$, kde q predstavuje číslo 1, 2, 3 alebo 4 tak, aby dopĺňovala 3- až 7-členný karbocyklický kruh, ktorý môže byť nasýtený alebo nenasýtený; R^8 predstavuje vodík, C_{1-6} alkylskupinu, $-CH_2OH$, fenylskupinu, fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu alebo $CONR^{11}R^{12}$; každý z R^9 a R^{10} predstavuje nezávisle vodík, skupinu $-CH_2OH$, $-C(O)NR^{11}R^{12}$, C_{1-6} alkylskupinu, fenylskupinu (prípadne substituovanú C_{1-4} alkylskupinou, halogénom alebo C_{1-4} alkoxyskupinou), alebo fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu (ktorej fenylová časť je prípadne substituovaná C_{1-4} alkylskupinou, halogénom alebo C_{1-4} alkoxyskupinou), alebo R^9 a R^{10} dohromady tvoria dioxolán; R^{11} a R^{12} , ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne predstavujú vodík, C_{1-4} alkylskupinu, skupinu R^{13} alebo $S(O)_rR^{13}$, kde r predstavuje číslo 0, 1 alebo 2, a R^{13} predstavuje fenylskupinu alebo fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu, pričom fenyl je prípadne substituovaný C_{1-4} alkylskupinou; alebo
- Y predstavuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$, kde R^{11} a R^{12} majú vyššie uvedený význam s tým rozdielom, že R^{11} a R^{12} obidva súčasne nepredstavujú vodík; alebo

Y predstavuje skupinu vzorca



kde R^{14} predstavuje vodík, skupinu CH_2OH alebo $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$ kde R^{11} a R^{12} majú vyššie uvedený význam; R^{15} , pokiaľ je prítomný, môže mať rovnaký význam ako iný R^{15} alebo môže mať rozdielny význam ako iný R^{15} a je zvolený z hydroxyskupiny, C_{1-4} alkylskupiny, C_{1-4} alkoxyskupiny, halogénu a CF_3 ; t predstavuje číslo 0, 1, 2, 3 alebo 4; a R^{16} a R^{17} predstavujú nezávisle vodík alebo C_{1-4} alkyl; alebo

Y predstavuje skupinu vzorca



kde jeden alebo dva z B, D, E a F predstavujú dusík a zostávajúce predstavujú uhlík; a R^{14} až R^{17} a t majú vyššie uvedený význam; alebo

Y predstavuje prípadne substituovaný 5- až 7-členný heterocyklický kruh, ktorý môže byť nasýtený, nenasýtený alebo aromatický a obsahuje dusík, kyslík alebo síru a prípadne jeden, dva alebo tri ďalšie kruhové atómy dusíka a je prípadne anelovaný s benzoskupinou a prípadne substituovaný:

C₁₋₆alkoxyskupinou; hydroxyskupinou; oxoskupinou; amínoskupinou; mono- alebo di(C₁₋₄alkyl)amínoskupinou; C₁₋₄alkanoylamínoskupinou; alebo

C₁₋₆alkylskupinou, ktorá je prípadne substituovaná jedným alebo viacerými substituentmi, ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne, zvolenými zo súboru pozostávajúceho z C₁₋₆alkoxyskupiny, C₁₋₆halogénalkoxyskupiny, C₁₋₆alkyltioskupiny, halogénu, C₃₋₇cykloalkylskupiny, heterocyklylskupiny a fenylskupiny; alebo

C₃₋₇cykloalkylskupinou, arylskupinou alebo heterocyklylskupinou, z ktorých každá je prípadne substituovaná jedným alebo viacerými substituentmi, ktoré môžu byť rovnaké alebo rôzne, zvolenými zo súboru pozostávajúceho z C₁₋₆alkylskupiny, C₁₋₆alkoxyskupiny, C₁₋₆haloalkoxyskupiny, C₁₋₆alkyl-tioskupiny, halogénu, C₃₋₇cykloalkylskupiny, hetero-cyklylskupiny a fenylskupiny;

pričom v prípade oxosubstitúcie na heterocyklickom kruhu tento kruh obsahuje jeden alebo dva atómy dusíka a oxosubstitúcia je v susednej polohe vzhľadom na kruhový atóm dusíka; alebo

- Y predstavuje skupinu -NR¹⁸S(O)_uR¹⁹, kde R¹⁸ predstavuje vodík alebo C₁₋₄alkylskupinu; R¹⁹ predstavuje arylskupinu, arylC₁₋₄alkylskupinu alebo heterocyklylskupinu (prednostne pyridylskupinu); a u predstavuje číslo 0, 1, 2 alebo 3;

a ich farmaceuticky vhodných solí a solvátov, polymorfov a preliečiv týchto entít, pri výrobe liečiva na liečenie ženskej sexuálnej dysfunkcie.

2. Zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde R^1 , n a Y majú význam uvedený v nároku 1, pričom ale Y nepredstavuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$ a keď R^1 predstavuje propylskupinu alebo fenyletylskupinu, potom R^{14} nepredstavuje skupinu $-CH_2OH$, ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

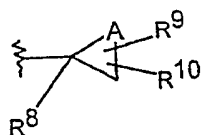
3. Zlúčeniny všeobecného vzorca I, kde R^1 , n a Y majú vyššie uvedený význam, pričom ale Y nepredstavuje skupinu $-C(O)NR^{11}R^{12}$ a R^{14} nepredstavuje vodík alebo skupinu $-CH_2OH$, ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

4. Zlúčeniny podľa nároku 2 alebo 3, kde R^1 predstavuje C_{1-6} alkylskupinu, C_{1-6} alkoxyskupinu, C_{1-6} alkoxy(C_{1-3})alkylskupinu, C_{1-6} alkoxy C_{1-6} alkoxy C_{1-3} alkylskupinu alebo C_{1-6} alkylskupinu substituovanú arylskupinou; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

5. Zlúčeniny podľa nároku 4, kde R^1 predstavuje C_{1-6} alkylskupinu, C_{1-6} alkoxyskupinu, C_{1-6} alkoxy(C_{1-3})alkylskupinu alebo C_{1-6} alkoxy C_{1-6} alkoxy C_{1-3} alkylskupinu; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

6. Zlúčeniny podľa nároku 5, kde R^1 predstavuje C_{1-4} alkylskupinu alebo C_{1-6} alkoxy(C_{1-3})alkylskupinu; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

7. Zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 2 až 6, kde keď Y predstavuje skupinu



a karbocyklický kruh je celkom nasýtený, potom prednostne jeden z R^9 a R^{10} predstavuje skupinu $-\text{CH}_2\text{OH}$; $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$; C_{1-6} alkylskupinu; fenylskupinu prípadne substituovanú C_{1-4} alkylskupinou; alebo fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu, ktorej fenylová časť je prípadne substituovaná C_{1-4} alkylskupinou; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

8. Zlúčeniny podľa nároku 7, kde je karbocyklický kruh 5-, 6- alebo 7-členný, kde jeden z R^9 a R^{10} predstavuje skupinu $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$, a druhý predstavuje C_{1-6} alkylskupinu; fenylskupinu prípadne substituovanú C_{1-4} alkylskupinou; alebo fenyl(C_{1-4} alkyl)skupinu, ktorej fenylová časť je prípadne substituovaná C_{1-4} alkylskupinou.

9. Zlúčeniny podľa nároku 7 alebo 8, kde R^9 a R^{10} sú pripojené na susedné kruhové atómy uhlíka; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

10. Zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 7 až 9, kde R^8 predstavuje skupinu CH_2OH ; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

11. Zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 2 až 6, kde keď Y predstavuje skupinu $-\text{NR}^{18}\text{S}(\text{O})_u\text{R}^{19}$, R^{18} prednostne

predstavuje vodík; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

12. Zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 2 až 6 alebo 11, kde R^{19} predstavuje benzylskupinu alebo fenylskupinu; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

13. Zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 2 až 6 a 11 a 12, kde u predstavuje číslo 2; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

14. Zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 2 až 6, kde Y predstavuje prípadne substituovaný 5- až 7-členný heterocyklický kruh; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

15. Zlúčeniny podľa nároku 14, kde 5- až 7-členným heterocyklickým kruhom je prípadne substituovaný aromatický kruh; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

16. Zlúčeniny podľa nároku 15, kde aromatickým kruhom je pyridyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, pyridazinyl, pyrazolyl, triazolyl, tetrazolyl, oxadiazolyl, tiazolyl, tiadiazolyl, oxazolyl, izoxazolyl, indolyl, izoindoliny, chinolyl, izochinolyl, pyridonyl, chinoxaliny, alebo chinazolinyl, z ktorých každý je prípadne substituovaný spôsobom definovaným v nároku 1; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

17. Zlúčeniny podľa nároku 16, kde aromatickým kruhom je oxadiazol, pyridón alebo tiadiazol, z ktorých každý je

prípadne substituovaný spôsobom definovaným v nároku 1; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

18. Zlúčeniny podľa nároku 17, kde aromatickým kruhom je 1,2,5-oxadiazol, 1,3,4-oxadiazol, 2-pyridón alebo 1,3,4-tiadiazol, z ktorých každý je prípadne substituovaný spôsobom definovaným v nároku 1; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

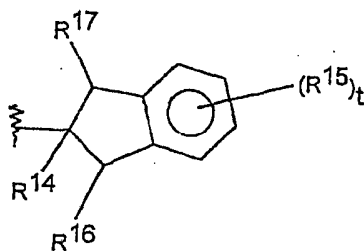
19. Zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 14 až 18, kde 5- až 7-členný heterocyklický kruh je substituovaný jedným alebo viacerými substituentmi zvolenými z C_{1-6} alkylskupiny, fenylskupiny a fenylyl C_{1-4} alkylskupiny; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

20. Zlúčeniny podľa nároku 19, kde 5- až 7-členný heterocyklický kruh je substituovaný C_{1-4} alkylskupinou alebo benzylskupinou; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

21. Zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 17 až 20, kde Y predstavuje pyridón, pričom tento pyridón je N-substituovaný pyridón; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

22. Zlúčeniny podľa nároku 14, kde Y predstavuje laktám viazaný na dusíku; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

23. Zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 2 až 6, kde Y predstavuje skupinu vzorca

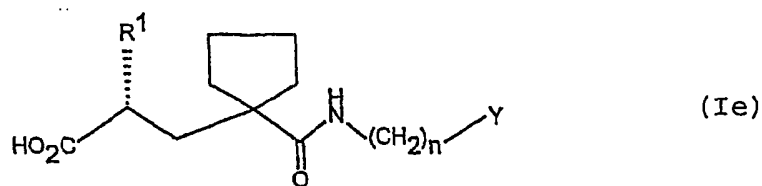


kde R^{14} predstavuje skupinu CH_2OH alebo $\text{C}(\text{O})\text{NR}^{11}\text{R}^{12}$; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

24. Zlúčeniny podľa ktoréhokolvek z nárokov 2 až 6 a 23, kde R^{16} a R^{17} predstavujú vodík; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

25. Zlúčeniny podľa ktoréhokolvek z nárokov 2 až 6, 23 a 24, kde parameter t predstavuje číslo 0; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

26. Zlúčeniny všeobecného vzorca Ie



kde R^1 , Y a n majú význam uvedený v ktoromkoľvek z nárokov 2 až 25; ich farmaceuticky vhodné soli, solváty, polymorfy a preliečivá týchto entít.

27. Zlúčeniny zvolené zo súboru pozostávajúceho z

2-[(1-{[(1-benzyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridinyl)amino]karbonyl}cyklopentyl)metyl]-4-metoxybutánovej kyseliny (príklad 35);

2-[(1-{[3-(2-oxo-1-pyrrolidinyl)propyl]amino}karbonylcyklopentyl)metyl]-4-fenylbutánovej kyseliny (príklad 40);

(+)-2-{[1-{[2-(hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl}cyklopentyl)metyl]-4-fenylbutánovej kyseliny (príklad 44);

2-[(1-{[(5-metyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)metyl]-4-fenylbutánovej kyseliny (príklad 43);

cis-3-(2-metoxetoxy)-2-[(1-{[(4-{[(fenylsulfonyl)amino]karbonyl}cyklohexyl)amino]karbonyl}cyklopentyl)metyl]propánovej kyseliny (príklad 38);

(+)-2-{[1-{[2-(hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-amino}karbonyl}cyklopentyl)metyl]pentánovej kyseliny (príklad 31);

(2R)-2-[(1-{[(5-etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)metyl]pentánovej kyseliny alebo (-)-2-[(1-{[(5-etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)metyl]pentánovej kyseliny (príklad 29);

(2S)-2-[(1-{[(5-etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)metyl]pentánovej kyseliny alebo (+)-2-[(1-{[(5-etyl-1,3,4-tiadiazol-2-yl)amino]karbonyl}cyklopentyl)metyl]pentánovej kyseliny (príklad 30);

2-({1-[(3-benzylanilino)karbonyl]cyklopentyl}metyl)pentánovej kyseliny (príklad 21);

2-[(1-({(1-benzyl-6-oxo-1,6-dihydro-3-pyridinyl)amino}-karbonyl)cyklopentyl)metyl]pentánovej kyseliny (príklad 22);

2-{[1-({[(1R,3S,4R)-4-(aminokarbonyl)-3-butylcyklohexyl]-amino}karbonyl)cyklopentyl)metyl]pentánovej kyseliny (príklad 9);

trans-3-[1-({[2-(4-chlórfenyl)cyklopropyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]-2-(metoxymetyl)propánovej kyseliny (príklad 46);

trans-3-[1-({[2-(4-metoxyfenyl)cyklopropyl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánovej kyseliny (príklad 47);

trans-3-[1-({[2-pentylcyklopropyl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánovej kyseliny (príklad 48);

3-[1-({[5-benzyl[1,3,4]-tiadiazol-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánovej kyseliny (príklad 49);

3-[1-({[4-butylpyridin-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánovej kyseliny (príklad 50);

3-[1-({[4-fenylpyridin-2-yl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánovej kyseliny (príklad 51);

3-[1-({[1-hydroxymetyl-3-fenylcyklopentyl]amino}karbonyl)-cyklopentyl]-2-(metoxyetyl)propánovej kyseliny (príklad 52);

2-{[1-({[2-(hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]amino}-
karbonyl)cyklopentyl]metyl}-4-metoxybutánovej kyseliny
(príklad 53);

trans-3-[1-({[2-fenylcyklopropyl]amino}karbonyl)cyklopentyl]-
-2-(metoxyetyl)propánovej kyseliny (príklad 54);

(R)-2-{[1-({[2-(hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-
amino}karbonyl)cyklopentyl]metyl}-4-metoxybutánovej kyseliny
(príklad 55) a

(S)-2-{[1-({[2-(hydroxymetyl)-2,3-dihydro-1H-inden-2-yl]-
amino}karbonyl)cyklopentyl]metyl}-4-metoxybutánovej kyseliny
(príklad 56);

a ich farmaceuticky vhodných solí, solvátov, polymorfov a
preliečiv týchto entít.

28. Použitie podľa nároku 1, pri ktorom liečená ženská
sexuálna dysfunkcia zahŕňa aspoň poruchu sexuálnej
vzrušivosti žien, FSAD.

29. Použitie podľa nároku 1 alebo 28, pri ktorom sa
liečivo podáva systemicky.

30. Použitie podľa nároku 29, pri ktorom sa liečivo
podáva perorálne.

31. Použitie zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 2
až 27 na výrobu liečiva na liečenie alebo profylaxiu stavu,
pri ktorom je možné pozitívnu terapeutickú odpoveď dosiahnuť
inhibíciou neutrálnej endopeptidázy.

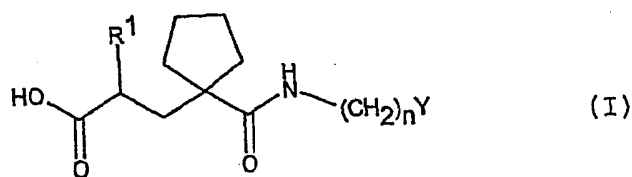
32. Zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 2 až 27 na použitie v medicíne.

33. Farmaceutická formulácia, **vyznačujúca sa tým**, že obsahuje zlúčeninu definovanú v ktoromkoľvek z nárokov 2 až 27 spolu s farmaceuticky vhodným excipientom.

34. Spôsob liečenia alebo profylaxie ženskej sexuálnej dysfunkcie, **vyznačujúci sa tým**, že sa pacientovi podáva účinné množstvo zlúčeniny podľa ktoréhokoľvek z nárokov 1 až 27.

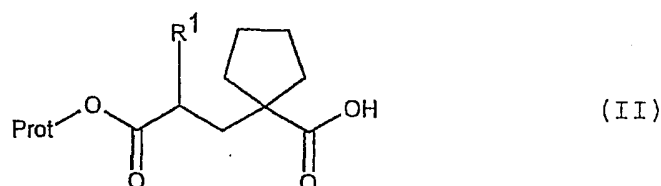
35. Farmaceutická formulácia na liečenie ženskej sexuálnej dysfunkcie, **vyznačujúca sa tým**, že obsahuje zlúčeninu podľa ktoréhokoľvek z nárokov 2 až 27 spolu s farmaceuticky vhodným excipientom.

36. Spôsob výroby zlúčenín všeobecného vzorca alebo ich solí



kde R^1 , n a Y majú význam definovaný v ktoromkoľvek z nárokov 2 až 27, **vyznačujúci sa tým**, že zahŕňa

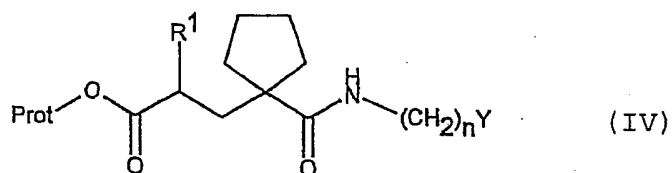
a) stupeň, v ktorom sa zlúčenina všeobecného vzorca II



kde Prot predstavuje vhodnú chrániacu skupinu, nechá reagovať so zlúčeninou všeobecného vzorca III



za vzniku zlúčeniny všeobecného vzorca IV

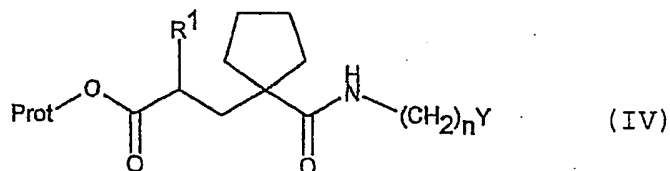


a následne

b) stupeň, v ktorom sa zlúčenina všeobecného vzorca IV nechá reagovať za vhodných deprotektčných podmienok, čím sa získa zlúčenina všeobecného vzorca I; a následne

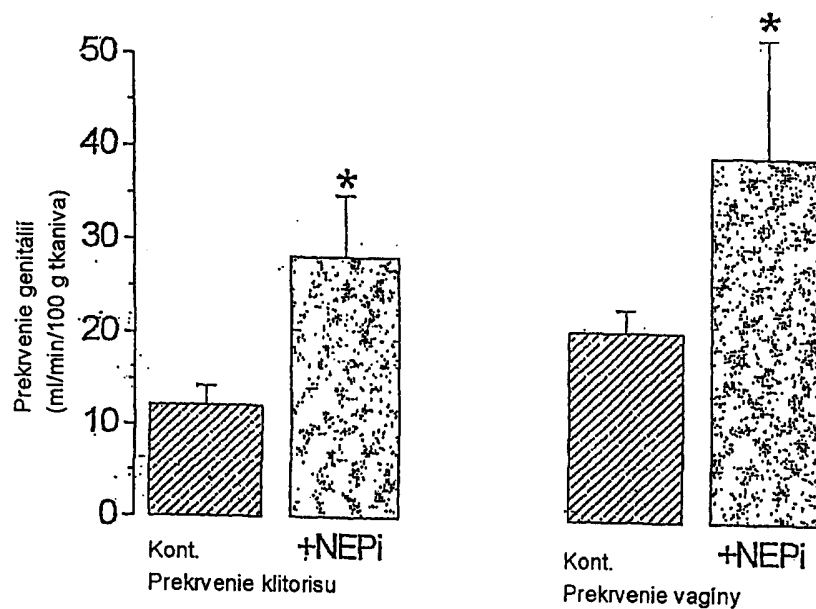
c) prípadne stupeň, v ktorom sa pripraví soľ.

37. Zlúčeniny všeobecného vzorca IV



kde R^1 , n a Y majú význam uvedený v ktoromkoľvek z nárokov 2 až 27, a Prot predstavuje chrániacu skupinu.

Obr. 1



Obr. 2

