



**KAUNO TECHNOLOGIJOS
UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS
FAKULTETAS**

**LIETUVOS SVEIKATOS
MOKSLŲ UNIVERSITETAS
FARMACIJOS FAKULTETAS**

Emilis Gudelis

Erdviškai suvaržytų γ -aminosviesto rūgšties analogų sintezė

Baigiamasis magistro projektas

Vadovas

M. d. dr. Neringa Kleizienė

KAUNAS, 2018

**KAUNO TECHNOLOGIJOS
UNIVERSITETAS
CHEMINĖS TECHNOLOGIJOS
FAKULTETAS**

**LIETUVOS SVEIKATOS
MOKSLŲ UNIVERSITETAS
FARMACIJOS FAKULTETAS**

Erdviškai suvaržytų γ -aminosviesto rūgšties analogų sintezė

Baigiamasis magistro projektas

Medicininė chemija (kodas 628F10001)

Vadovas

M. d. dr. Neringa Kleizienė

Recenzentas

M. d. dr. Greta Ragaitė

Projektą atliko

Emilis Gudelis

KAUNAS, 2018



**KAUNO TECHNOLOGIJOS
UNIVERSITETAS**

**LIETUVOS SVEIKATOS
MOKSLŲ UNIVERSITETAS**

Emilis Gudelis

Studijų programa Medicininė chemija (kodas 628F10001)

„Erdviškai suvaržytų γ -aminosviesto rūgšties analogų sintezė“

AKADEMINIO SAŽININGUMO DEKLARACIJA

20__ m. _____ mėn. __ d.

Kaunas

Patvirtinu, kad mano **Emilio Gudelio** Baigiamasis projektas tema „Erdviškai suvaržytų γ -aminosviesto rūgšties analogų sintezė“ yra parašytas visiškai savarankiškai, o visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena darbo dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymu nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

Turinys

| | |
|--|----|
| Santrauka..... | 8 |
| Summary..... | 9 |
| Santrumpos..... | 10 |
| Įvadas | 11 |
| 1. Literatūros apžvalga | 12 |
| 1.1. Žinomi γ -aminosviesto rūgšties analogai | 12 |
| 1.2. GABA analogų sintezė..... | 15 |
| 1.2.1. α -Pakeistos- γ -aminorūgštys | 15 |
| 1.2.2. β -pakeistos- γ -aminorūgštys | 16 |
| 1.2.3. γ -pakeistos- γ -aminorūgštys..... | 19 |
| 1.2.4. Dipakeistos γ -aminorūgštys | 20 |
| 1.2.5. Hidroksi- γ -aminorūgštys | 22 |
| 1.2.6. Ciklinės γ -aminorūgštys..... | 23 |
| 2. Medžiagos ir tyrimų metodai | 25 |
| 2.1. Sintezėje naudoti junginiai..... | 25 |
| 2.2. Pradinės medžiagos sintezė..... | 28 |
| 2.3. Aminogrupės jungimas prie dvigubo ryšio | 29 |
| 2.4. Suzuki-Miyaura kryžminė sintezė..... | 36 |
| 3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas..... | 43 |
| 3.1. Pradinio esterio sintezė..... | 43 |
| 3.2. Ciklinių aminių prijungimas prie dvigubo ryšio..... | 44 |
| 3.3. Suzuki – Miyaura sintezė | 45 |
| 3.4. Spektriniai tyrimai..... | 47 |
| 3.5. Molekulių analizė įrankiu SwissADME..... | 49 |
| 3.5.1. Molinė masė | 52 |
| 3.5.2. Jungčių, aplink kurias vyksta rotacija, skaičius..... | 52 |

| | |
|---|-----------|
| 3.5.3. Polinių atomų paviršiaus plotas | 52 |
| 3.5.4. Lipofiliškumas | 53 |
| 3.5.5. Tirpumas vandenyje..... | 53 |
| 3.5.6. Virto kiaušinio modelis | 55 |
| 3.5.7. Panašumo į vaistines molekules filtrai..... | 56 |
| 3.5.8. Optimaliausių molekulių atranka | 59 |
| Išvados..... | 60 |
| Literatūros sąrašas..... | 61 |

Paveikslų sąrašas

| | |
|--|----|
| 1.1 pav. GABA bei jos analogai. | 13 |
| 1.2 pav. (<i>R</i>)- ir (<i>S</i>)- α -metil-GABA sintezės schema. | 15 |
| 1.3 pav. Enantiogrynų <i>N</i> -Boc- α -aril-GABA sintezės schema. | 16 |
| 1.4 pav. Michael reakcija pregabalinui ir baklofenui gauti. | 16 |
| 1.5 pav. Pregabalino sintezė iš laktonų. | 17 |
| 1.6 pav. Gabapentino sintezė. | 17 |
| 1.7 pav. Enantiomeriškai gryno baklofeno sintezė. | 18 |
| 1.8 pav. Baklofeno sintezė naudojant rodžio katalizatorių. | 19 |
| 1.9 pav. Klasikinė γ -pakeistų- γ -aminorūgščių sintezė. | 19 |
| 1.10 pav. Vigabatrino sintezė iš etilheksenoato. | 20 |
| 1.11 pav. Vigabatrino sintezė iš eritritolio. | 20 |
| 1.12 pav. α,β -Pakeistos- γ -aminorūgšties sintezės schema. | 21 |
| 1.13 pav. Alkilinimo reakcija α,γ -pakeistoms- γ -aminorūgštims gauti. | 21 |
| 1.14 pav. α,γ -pakeistų- γ -aminorūgščių gavimas iš <i>N</i> -Boc-L-alanialio. | 21 |
| 1.15 pav. β,γ -Pakeistų- γ -aminorūgščių gavimas. | 22 |
| 1.16 pav. Hidroksi- γ -aminorūgščių gavimas naudojant fermentus. | 22 |
| 1.17 pav. GABOB sintezė iš glicerolio acetonido. | 23 |
| 1.18 pav. GABOB sintezė iš 3-benziloksiciklobutanono. | 23 |
| 1.19 pav. Ciklopropil- γ -aminorūgščių gavimas. | 24 |
| 1.20 pav. Ciklobutil- γ -aminorūgščių gavimas. | 24 |
| 3.1 pav. Pradinio esterio 1 sintezė. | 43 |
| 3.2 pav. Heterociklinių aminių prijungimo reakcijos schema. | 44 |
| 3.3 pav. Neįvykusios reakcijos. | 45 |
| 3.4 pav. Suzuki – Miyaura reakcijos schema. | 46 |
| 3.5 pav. BMR metodais įrodyta molekulės struktūra. | 47 |
| 3.6 pav. Junginio 3 ^1H - ^{15}N HMBC eksperimentas, tirpiklis CDCl_3 . | 48 |
| 3.7 pav. Junginio 3 ^1H - ^{13}C HMBC eksperimentas, tirpiklis CDCl_3 . | 48 |
| 3.8 pav. Junginio 3 ^1H - ^{13}C HSQC/1.1-ADEQUATE eksperimentas, tirpiklis CDCl_3 . | 49 |
| 3.9 pav. Virto kiaušinio modelis. | 56 |
| 3.10 pav. Optimalios molekulės pavyzdys. | 59 |

Lentelių sąrašas

| | |
|---|----|
| 2.1 lentelė Sintezėje naudotos medžiagos | 25 |
| 2.1 lentelė Sintezėje naudotos medžiagos (tęsinys) | 26 |
| 2.1 lentelė Sintezėje naudotos medžiagos (tęsinys) | 27 |
| 3.1 lentelė Apskaičiuoti pagrindiniai fizikocheminiai molekulos parametrai | 51 |
| 3.1 lentelė Apskaičiuoti pagrindiniai fizikocheminiai molekulos parametrai (tęsinys) | 52 |
| 3.2 lentelė Sumodeliuotas junginių tirpumas vandenyje | 54 |
| 3.3 lentelė Sumodeliuotas junginių be Boc grupės tirpumas vandenyje | 54 |
| 3.4 lentelė Sumodeliuotas aminorūgščių tirpumas vandenyje | 55 |
| 3.5 lentelė Panašumo į vaistines molekules filtrai gautiems junginiams | 57 |
| 3.6 lentelė Panašumo į vaistines molekules filtrai junginiams be Boc grupės | 57 |
| 3.6 lentelė Panašumo į vaistines molekules filtrai junginiams be Boc grupės (tęsinys) | 58 |
| 3.7 lentelė Panašumo į vaistines molekules filtrai aminorūgštims | 58 |

Gudelis Emilis. *ERDVIŠKAI SUVARŽYTŲ γ -AMINOSVIESTO RŪGŠTIES ANALOGŲ SINTEZĖ*.
Chemijos magistro Baigiamasis projektas / vadovas m.d. dr. Neringa Kleizienė; Kauno
technologijos universitetas, cheminės technologijos fakultetas, sintetinės chemijos institutas.

Mokslų kryptis ir sritis: Fiziniai mokslai, chemija

Reikšminiai žodžiai: *aminorūgštis, GABA, analogų, sintezė*.

Kaunas, 2018. 66 p.

Santrauka

4-Aminosviesto rūgštis (GABA) yra vienas iš svarbiausių neuromediatorių žinduolių centrinėje nervų sistemoje. Yra žinoma, jog šios aminorūgšties trūkumas gali sukelti tokius neurodegeneracinius sutrikimus kaip Huntingtono chorėja, Alzheimerio ar Parkinsono ligos bei daugybę kitų. Rinkoje, šiuo metu, yra itin veiksmingų GABA analogų naudojamų kaip veiksminga priemonė įvairiausiems sutrikimams gydyti, dėl to naujų GABA analogų kūrimas turi didžiulę prasmę.

Šio darbo tikslas optimizuoti naujų erdviškai suvaržytų GABA analogų sintezę, juos išskirti grynus, gautas molekules charakterizuoti BMR, IR bei HRMS metodais, o taip pat atlikti ADME analizę bioinformatiniais metodais ir tuo remiantis nuspręsti ar susintetintos molekulės tinkamos tolimesniems tyrimams.

Gudelis Emilis. *SYNTHESIS OF CONFORMATIONALLY RESTRICTED γ -AMINO BUTYRIC ACID ANALOGS*. Master's thesis in Chemistry / supervisor researcher dr. Neringa Kleizienė. The Faculty of chemical technology, Kaunas university of technology.

Research area in: Physical Sciences, Chemistry.

Key words: *amino acid, GABA, analogs, synthesis*.

Kaunas, 2018, 66 p.

Summary

4-Aminobutanoic acid (GABA) is one of the most important neurotransmitters in mammalian central nervous system. It is well known that not enough of this amino acid can lead to neurological disorders such as Huntington's chorea, Parkinson's or Alzheimer's disease and many others. GABA analogues currently available in market are used to effectively treat a wide array of disorders, that is why creating new GABA analogues is a very important task.

The primary aim of this work is to optimize synthesis conditions of conformationally restricted GABA analogues, to purify them, to characterize the obtained molecules using NMR, ATR-IR and HRMS methods, also to complete ADME analysis using bioinformatics and, by using the obtained information, to decide if the molecules are optimal for the further investigation.

Santrumpos

ADME – absorbcija, pasiskirtymas, metabolizmas ir išskyrimas (*eng. Absorbtion, Distribution, Metabolism and Excretion*)

ATR – visiško atspindžio priedas infraraudonajam spektrui

BMR – branduolių magnetinis rezonansas

Boc – *tert*-butiloksikarbonilgrupė

DBU – 1,8-Diazabiciklo[5.4.0]undec-7-enas

GABA – γ -aminosviesto rūgštis

GABOB – γ -amino- β -hidroksisviesto rūgštis

HMBC – protonų ir anglies branduolio tolimesnės sąveikos eksperimentas

HSQC – protonų ir anglies branduolio homosąveikos eksperimentas

HPLC-MS – aukšto slėgio skystinė chromatografija su masių spektrometrija

HRMS – aukštos skiriamosios gebos masės spektrometrija

IR – infraraudonasis

Įvadas

γ -Aminosviesto rūgštis (**1**) kitaip žinoma kaip GABA yra labai svarbus neuromediatorius, daugelyje gyvų organizmų. Šis neuromediatorius yra tiesiogiai atsakingas už neuronų impulsų slopinimą bei raumenų tonuso reguliavimą. GABA trūkumas yra susijęs su tokiais neurologiniais sutrikimais kaip Huntingtono chorėja, Parkinsono bei Alzheimerio ligos [1]. Dėl to yra poreikis rasti tokias molekules, kurias veiktų analogiškai, tačiau efektyviau negu pati GABA. Tokios molekulės dėl struktūrinių modifikacijų galėtų sąveikauti su GABA receptoriais specifiskai, taip išgaunant tik pageidaujamus efektus.

Šiuo metu rinkoje yra ganėtinai didelis GABA analogų pasirinkimas, tačiau dar yra daugybė neištirtinėtų ar net nesusintetintų GABA analogų, kurie gali turėti potencialą tapti naujos kartos vaistais nuo įvairiausių neurologinių ar psichiatrinių sutrikimų.

Darbo tikslas: Susintetinti 2-(azetidino-3-il)acto rūgšties pagrindu paremtus erdviškai suvaržytos struktūros GABA analogus su įvairiais pakaitais.

Darbo uždaviniai:

- Rasti tinkamą metodą pakaitams įvesti prie azetidino fragmento C-3 anglies.
- Įvesti tolimesnius pakaitus naudojant Suzuki-Miyaura kryžminę sintezę.
- Rasti optimalius gryninimo metodus.
- Taikant ADME analizę rasti optimalias struktūras.
- Taikant šiuolaikinius spektrometrijos metodus pagrįsti gautų junginių struktūras.

1. Literatūros apžvalga

1.1. Žinomi γ -aminosviesto rūgšties analogai

Dėl to, kad GABA arba kitaip žinoma γ -aminosviesto rūgštis, pasižymi labai plačiomis sąvybėmis kaip signalinė molekulė daugybėje gyvų organizmų, yra ieškoma vis naujų GABA analogų. Pagrindinis susidomėjimas GABA kyla dėl šios aminorūgšties poveikio smegenims. GABA veikia kaip slopinantis neuromediatorius, kuris subalansuoja vieno pagrindinių sužadinančių neurotransmiterių – L-glutamato veiklą. Nepakankamas sinapsinis slopinimas gali sukelti nerimą, epilepsiją, nemigą ar atminties sutrikimus, tačiau per didelis sinapsinis slopinimas gali būti siejamas su raminiu ar anestezija ar net sukelti komą [2].

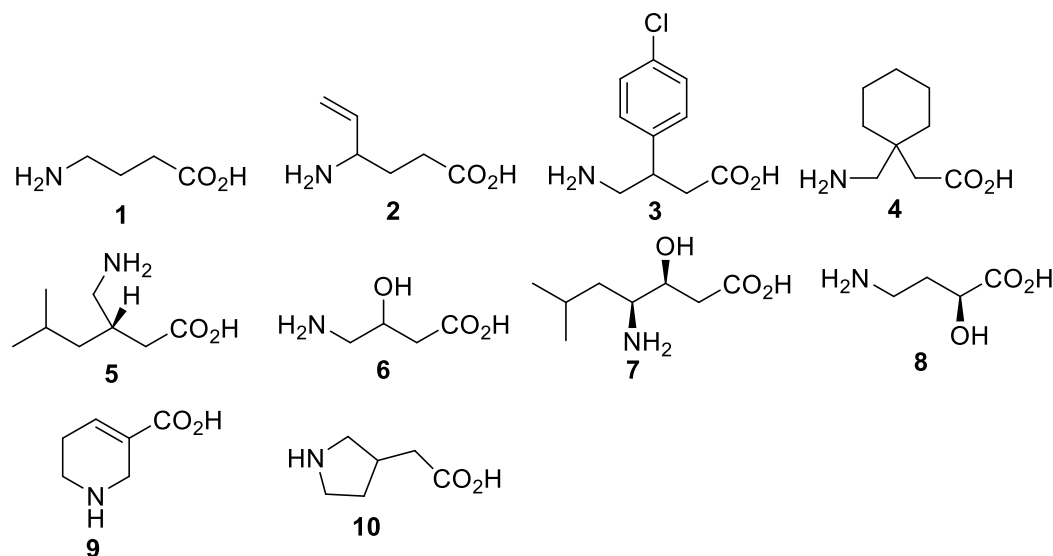
Keletas GABA analogų yra naudojami ir medicinos praktikoje. Tarp jų antiepileptinis vaistas vigabatrinas (2), kuris buvo kuriamas kaip negrižtamas fermento GABA-transaminazės inhibitorius, tokiu būdu padidindamas GABA koncentraciją smegenyse. Selektyvus GABA_B agonistas baklofenas (3) daug metų buvo naudojamas spazmams nugaros srityje gydyti. Gabapentinas (4) ir pregabalinas (5) taip pat didelio pasisekimo sulaukę GABA analogai skirti epilepsijai bei neuropatiniam skausmui gydyti. Nors tai yra 3-pakeisti GABA analogai, tačiau jie tiesiogiai neveikia GABA receptorių, šie vaistai veikia per kalcio kanalus turinčius $\alpha_2\delta_1$ subvienetą [3–5].

GABA yra gausiai randamas augaluose, grybuose, bakterijose, vabzdžiuose, stuburiniuose bei bestuburiuose gyvūnuose. GABA galima pavadinti konservatyvia visuotine signaline sistema. Tyrimai siūlo, jog GABA perduoda komunikacinius signalus tarp augalų bei kitų organizmų [6].

Keletas biologiškai aktyvių GABA analogų yra randami ir gamtoje. Tarp jų GABOB arba (S)-4-amino-3-hidroksibutanorūgštis (6), kuri yra randama cikliniame peptide hapalozine bei L-karnitine, kurie randami žinduolių audiniuose. Statinas arba (3S,4S)-4-amino-3-hidroksi-6-metilheptanorūgštis (7) pagrindinis farmakoforas chimozino inhibitoriuje pepsatine. Statinas ir jo analogai yra kaip statybinės medžiagos peptidomimetikams susidaryti. Homoizoserinas arba 2-hidroksi-4-aminobutanorūgštis (8) veikia kaip GABA absorbcijos inhibitorius, pasižymi priešvėžiniu aktyvumu, randamas daugybėje atibiotikų bei tarnauja kaip statybinė medžiaga peptidomimetikams [7–8].

Žinduoliuose, GABA aptinkama ne tik centrinėje nervų sistemoje, bet ir kituose organuose, kur ji atlieka daugybę funkcijų. GABA dalyvauja ląstelių proliferacijoje bei migracijoje bei gali būti susijusi su vėžinių ląstelių susidarymu. GABA reguliuoja insulino išskyrimą iš kasos β ląstelių bei gali būti susijusi su I tipo diabetu. GABA taip pat veikia kvėpavimo takų epitelines ląsteles astmos metu. Buvo pastebėta, jog T ląstelės bei makrofagai taip pat turi veikiančius GABA_A receptorius.

Taigi astma, diabetas, vėžys bei imuninė sistema taip pat gali būti laikomi GABA analogų taikiniai [9–10].



1.1 pav. GABA bei jos analogai.

Baklofenas (**3**), buvo susintetintas dar 1968 m. vokiečių mokslininko Heinrich Keberle ir pasižymėjo raumenis atpalaiduojančiomis bei analgezinėmis savybėmis. Baklofeną galima laikyti vienu iš sintetinių GABA analogų pradininku bei GABA_B receptorių agonistų prototipu. Boueri ir kt. baklofeną vadina nepakeičiamu atskleidžiant GABA_B receptorių veikimą epilepsijos, priklausomybės ar chroniško skausmo metu. Be to, baklofenas jau buvo kliniškai vartojamas daugiau nei 30 metų iki GABA_B receptorių nustatymo [11].

Vėliau buvo susintetinta grupė ciklinių aminorūgščių, kurios yra klasifikuojamos kaip konformaciškai suvaržyti GABA analogai, tarp jų nipekotinė rūgštis, guvacinas (**9**) bei homo-β-prolinas (**10**). Šios rūgštys demonstravo *in vitro* aktyvumą kaip GABA reabsorbcijos inhibitoriai [12].

1999 m. Bryans'as ir kt. aprašė gabapentiną (**4**) ir pregabalina (**5**), kaip γ-aminorūgštis pasižyminčias traukulius bei nerimą slopinančiomis bei analgezinėmis savybėmis. Gabapentinas buvo naudojamas kaip pridėtinis vaistas gydyti traukuliams, tačiau vėliau buvo pastebėta, jog šis vaistas yra tinkamas poherpetinei neuralgijai gydyti bei neuropatiniam skausmui slopinti. Kitą vertus, pregabalinas parodė stipresnę veikimą gydant epilepsiją, neuropatinį skausmą bei malšinant nerimą. Pregabalinas buvo kuriamas kaip lipofiliškesnis GABA analogas, kuris sugebėtų pereiti kraujo-smegenų barjerą, tačiau Lauria ir kt. nustatė, kad nors pregabalinas ir yra struktūriškai panašus į GABA, tačiau jis nesąveikauja su GABA receptoriais ir neveikia taip pat kaip GABA [13–14]

Vigabatrinas (2) yra GABA analogas, skirtas padidinti GABA koncentraciją centrinėje nervų sistemoje. Tai yra vienas iš geriausiai veikiančių antiepileptinių vaistų. Vigabatrinas negrįžtamai inhibuoja GABA transaminazę, pagrindinį fermentą metabolizuojantį endogeninę GABA, prisijungdamas prie šio fermento aktyviojo centro. Lippertas ir kt. atliko tyrimus nustatyti vigabatrino veikimo mechanizmą. Buvo atskleista, jog vigabatrinas grįžtamai jungiasi prie piridoksolio-5'-fosfato kofaktoriaus ir tuomet negrįžtamai inaktyvuoja fermentą. Engelborghs'as ir kt. pasiūlė, jog vigabatrinas turi dar vieną veikimo mechanizmą, kurio metu padidinamas glicino ir sumažinamas kitų nervų sistemą stimuliuojančių anionorūgščių kiekis smegenyse [15–16].

Recerveur'is ir kt. susintetino grupę konformaciškai suvaržytų gabapentino analogų. Pirolidino analogas (R)-2-aza-spiro[4,5]dekan-4-karboksirūgšties hidrokloridas pasižymėjo $IC_{50} = 120$ nM, kuris buvo artimas gabapentinui ($IC_{50} = 140$ nM). Šis junginys jungėsi prie kalcio kanalo $\alpha_2\delta$ subvieneto [17].

Silverman'as ir kt. patente glutamo rūgšties bei GABA analogai naudojami kaip junginiai, skirti centrinės nervų sistemos ligų, tokių kaip Huntingtono chorėja, cerebrinė išemija, Parkinsono liga, epilepsija bei kitų, gydymui. Serija 3-alkil-GABA analogų pasižymėjo geromis traukulius slopinančiomis savybėmis, tačiau neturėjo antikvulsantams būdingo šalutinio efekto – ataksijos.

2003 metais buvo išleistas patentas su metodu mono- ir dipakeistų 3-propil-GABA sintezei. Buvo nustatyta, jog šie junginiai, prie jau žinomų antikvulsinių savybių, gali būti naudojami hipokinezijai, galvos skausmams, neurodegeneraciniams sutrikimams, depresijai, nerimui, panikai, neuropatologiniams sutrikimams, artritui bei miego sutrikimams gydyti [18].

Tais pačiais metais, Pfizer Inc. užpatentavo grupę suvaržytos konformacijos GABA analogų, kurie parodė geras savybes malšinant skausmą bei traukulius [19].

Magnus'as ir kt. užpatentavo GABA analogų naudojimą nemigai gydyti. Autorius pabrėžė, jog vienas svarbiausių ir išskirtinių GABA analogų, naudotų nemigai gydyti, bruožų yra tas, kad jie nesukelia tokios priklausomybės kaip benzodiazepinai [20].

Yuen'as nustatė, jog 3-heteroalkilpakeisti GABA analogai pasižymėjo spazmus atpalaiduojančiomis savybėmis. Heteroalkilžiedai naudoti patente buvo furano, tiofeno bei pirololo [21].

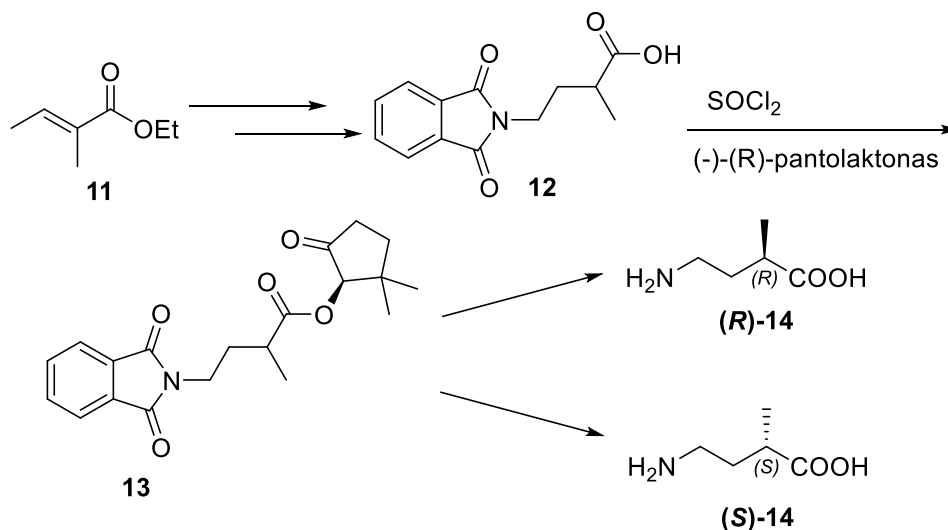
1.2. GABA analogų sintezė

GABA analogų sintezę pagal gaunamą produktą iš esmės galima skirstyti į kelias grupes:

- α -pakeistos- γ -aminorūgštys
- β -pakeistos- γ -aminorūgštys
- γ -pakeistos- γ -aminorūgštys
- dipakeistos- γ -aminorūgštys
- hidroksi- γ -aminorūgštys
- ciklinės γ -aminorūgštys

1.2.1. α -Pakeistos- γ -aminorūgštys

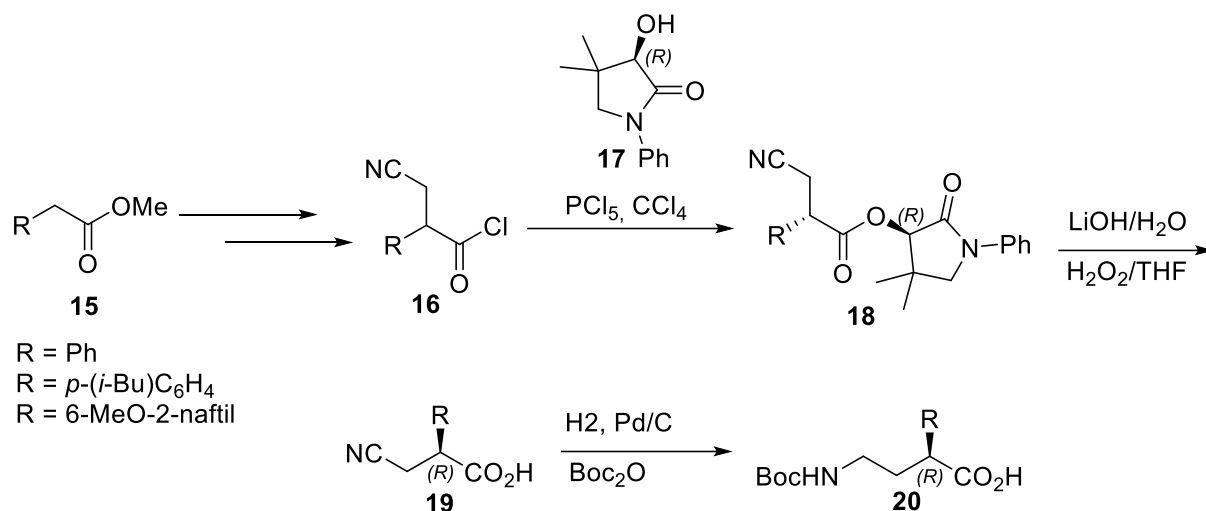
(*R*)- ir (*S*)- α -metil-GABA (**14**) buvo susintetitos 2-metil-butirolacetonui reaguojant su kalio ftalimidu. Gauti izomerai buvo išskirti frakcinės kristalizacijos būdu kaip kvinino druskos, tačiau mažomis išeigomis. Duke'as ir kt. Patobulino jau žinomą metodą. Sintezės metu tiglinės rūgšties etilo esteris (**11**) yra brominamas ir sujungiamas su ftalimidu, kuris veikia kaip azoto atomo donoras. Po hidrinimo ir deesterifikacijos buvo gautas junginys (**12**), iš kurio toliau gautas (*R*)-pantolaktono esteris (**13**). Po chromatografinio gryninimo bei rūgštinės hidrolizės buvo gauti enantiomeriškai grynai (*R*)-(**14**) ir (*S*)-(**14**) izomerai geromis išeigomis (žr. 1.2 pav.) [22].



1.2 pav. (*R*)- ir (*S*)- α -metil-GABA sintezės schema.

Dar vienas metodas gauti α -pakeistoms γ -aminorūgštims yra raceminių α -aril- β -cianopropiono rūgščių chloridų (**16**) esterifikacija, rūgštys gaunamos iš metil-2-akrilatų (**15**), vėliau jos veikiamos (*R*)-fenilpantolaktamu (**17**) tam, kad susiformuotų **18** kaip pagrindinis produktas diastereomeriniu santykiu 93:7, paveikus (*S*)-fenilpantolaktamu būtų gautas atvirkščias

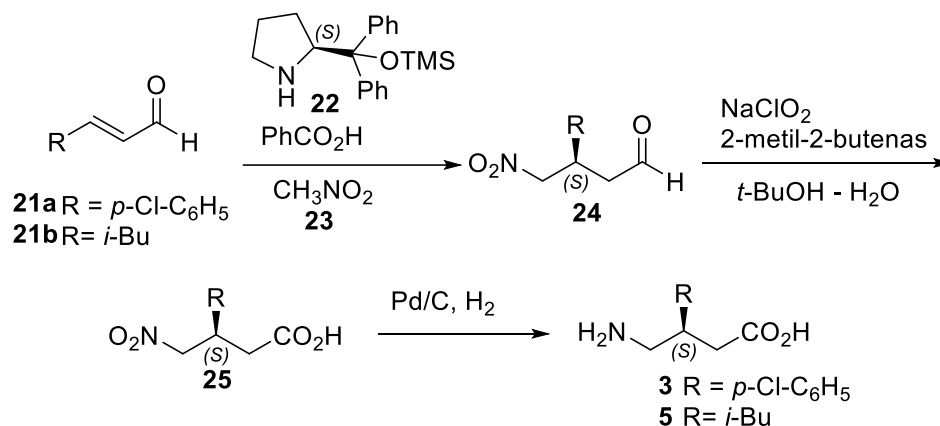
diasteriomerinis santykis. Po chromatografinio gryninimo bei hidrolizės gautos enantiogrynos α -aryl- β -cianopropionino rūgštys (**19**), kurios buvo konvertuotos į enantiogrynas *N*-Boc- α -aryl-GABA (**20**) (žr. 1.3 pav.) [23].



1.3 pav. Enantiogrynų *N*-Boc- α -aryl-GABA sintezės schema.

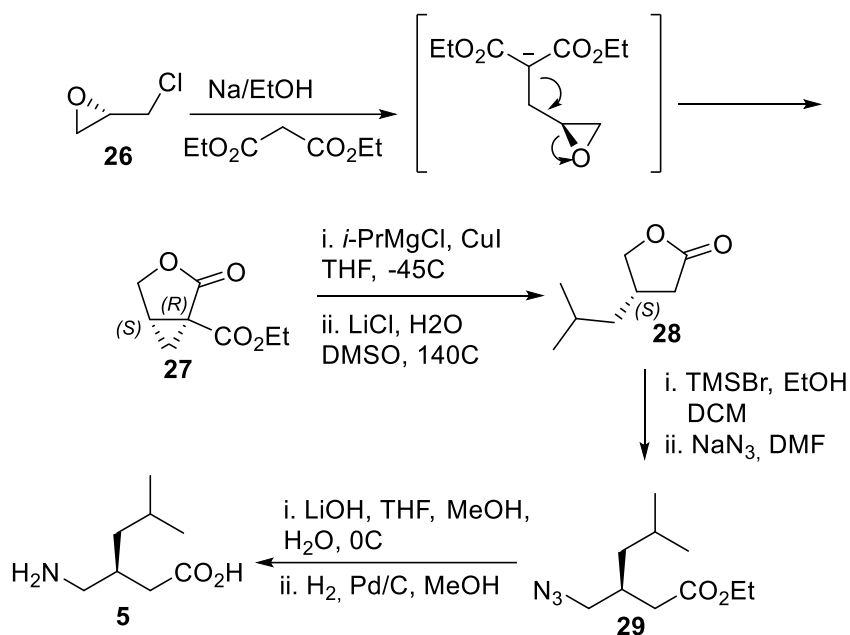
1.2.2. β -pakeistos- γ -aminorūgštys

Vienos iš svarbiausių β -pakeistų- γ -aminorūgščių yra pregabalinas (**5**), gabapentinas (**4**) ir baklofenas (**3**). Enantiomeriškai grynas pregabalinas buvo susintetintas katalitinės Michael reakcijos metu. Nitroalkanai reaguoja su α,β -nesočiaisiais aldehidais (**21**) naudojant **22** kaip asimetrinį katalizatorių, šiuo metodu pavyko susintetinti tiek baklofeną tiek pregabaliną. Nitrometanui (**23**) sureagavus su 5-(*p*-chlorofenil)-enaliu (**21a**) ar 5-izobutilheks-2-enaliu (**21b**) buvo išskirti 3-pakeisti nitrobutanalčiai (**24**), kurie toliau buvo oksiduoti iki rūgščių (**25**) ir kovertuoti į baklofeną (**3**) bei pregabaliną (**5**) (žr. 1.4 pav.) [24].



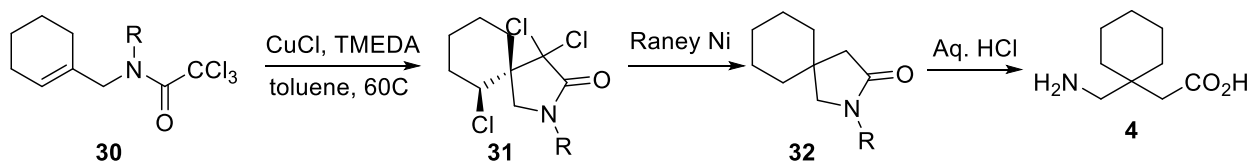
1.4 pav. Michael reakcija pregabalinui ir baklofenui gauti.

Literatūroje taip pat aprašytas patogus, pramonėje pritaikomas metodas enantiomeriškai gryniems β -pakeistiems γ -butyrolaktonams gauti. Bicikliai chiraliniai laktonai (**27**) paruošiami iš chiralinio epichlorhidrino (**26**) vykstant intramolekuliniam dvigubam alkilmalonato anijono pakeitimui bei laktonizacijai. Ciklopropano žiedas atidaromas veikiant Grinjaro reagentu, po žiedo dekarboksilinimo gaunamas izopropilpakeistas laktonas (**28**). Pregabalinas (**5**) gaunamas atidarius laktono žiedą ir įvedus azido grupę, gautą azidą (**29**) konvertavus į aminorūgštį gaunamas pregabalinas (**5**) (žr. 1.5 pav.) [25].



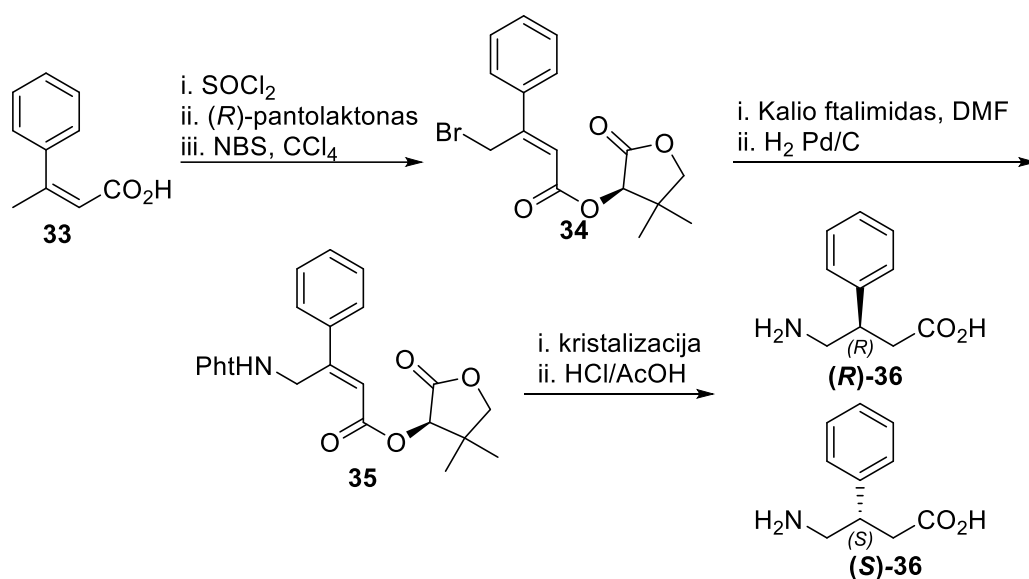
1.5 pav. Pregabalino sintezė iš laktonų.

Gabapentinui gauti gali būti taikoma reakcija su vario (I) chloridu. Paveikus haloamidą (**30**) vario (I) chloridu gaunami chlorocikloheksilpirolidinonai (**31**), kurie yra dechlorinami gaunant cikloheksilpirolidinonus (**32**). Iš pastarųjų rūgštinėje terpėje gali būti gaunamas gabapentinas. Šios sintezės pliusas yra tas, kad chloro atomai gali būti panaudoti kaip centrai naujiems pakaitams įvesti, taip sukuriant naują gabapentino, o tuo pačiu ir GABA analogų grupę (žr. 1.6 pav.) [26].



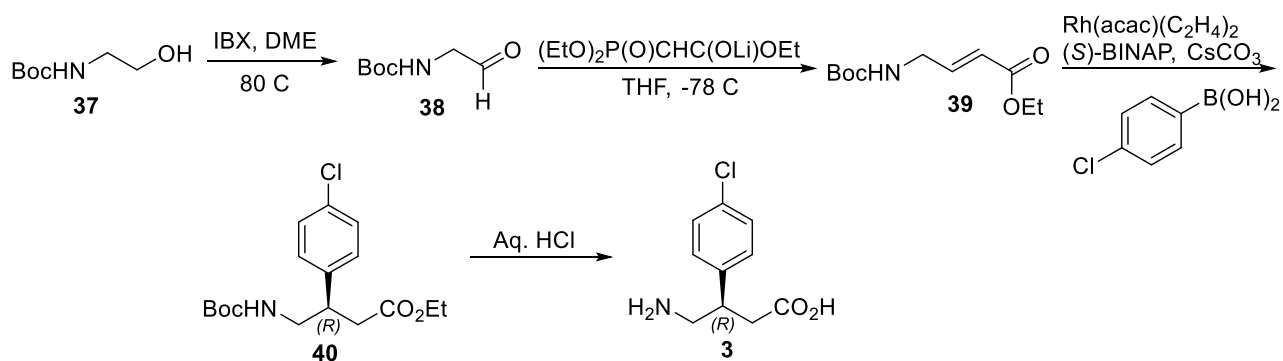
1.6 pav. Gabapentino sintezė.

Enantiomeriškai grynus β -fenil-GABA (**36**) buvo gautos atskiriant (*R*)-(-)-pantolaktono esterius. Etil-(*E*)-3-fenilbut-2-enorūgštis (**33**) buvo susinetinta iš acetofenono taikant modifikuotą Wittig'o-Horner'io reakciją, o po to hidrolizuojant gautą esterį šarminėmis sąlygomis. Junginys (**34**) buvo gautas veikiant rūgštį (**33**) tionilochloridu, tuomet (*R*)-pantolaktonu, taip gaunant esterį. Reakcijos su NBS metu į esterį buvo įvestas bromas. Toliau gautą junginį veikiant kalio ftalimidu bei hidrinant vandenilio dujomis esant paladžio katalizatoriui, buvo gautas junginys (**35**). Izomerai buvo atskirti kristalizacijos metodu, o galutiniai enantiomeriškai grynai produktai (**36**) gauti hidrolizuojant jau atskirtus esterius rūgštinėje terpėje (žr. 1.7 pav.) [27].



1.7 pav. Enantiomeriškai gyno baklofeno sintezė.

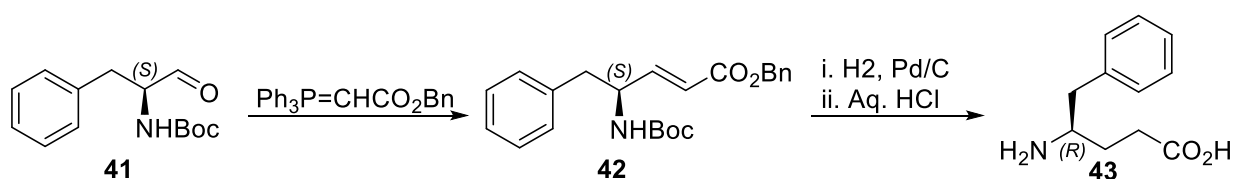
Baklofenas (**3**) taip pat gali būti gaunamas naudojant specifinius rodžio katalizatorius. Dideli šios reakcijos privalumai yra: 1) paprastos pradinės medžiagos, 2) mažos laiko sąnaudos, 3) gaunamas vienas stereoizomeras. Sintezės metu iš *N*-gale blokuoto aminoetanolio (**37**) susintetinamas 4-amino-2,3-butenorūgštis darinys (**39**), tuomet jis veikiamas rodžio katalizatoriumi, (*S*)-BINAP, cezio karbonatu bei pageidaujama arilbora rūgštimi. Gaunamas enantiomeriškai grynas *N* ir *O* blokuotas baklofenas, kurį veikiant druskos rūgštis tirpalu pašalinamos blokuojančios grupės (žr. 1.8 pav.) [28].



1.8 pav. Baklofeno sintezė naudojant rodžio katalizatorių.

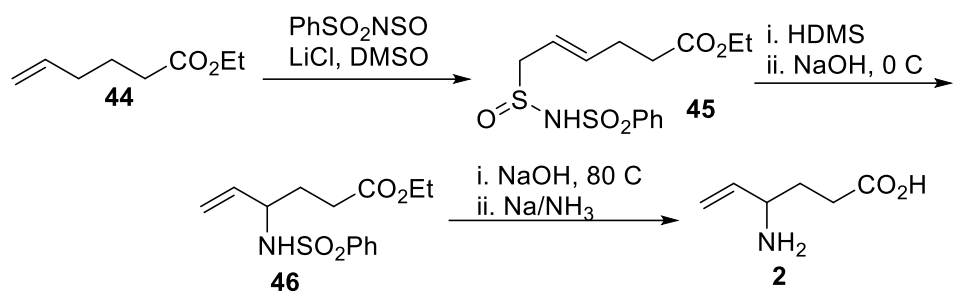
1.2.3. γ -pakeistos- γ -aminorūgštys

Vienas iš klasikinių metodų γ -pakeistoms- γ -aminorūgštims sintetinti yra Wittig'o reakcija alkil(trifenilfosforiliden)acetatu veikiant α -aminoaldehydus, pavyzdžiui fenilalaninalį (**41**). Gautas alkenas (**42**) toliau redukuojamas bei pašalinama apsauginė grupė. Gautas produktas (**43**) yra γ -pakeista- γ -aminorūgštis (žr. 1.9 pav.) [29].



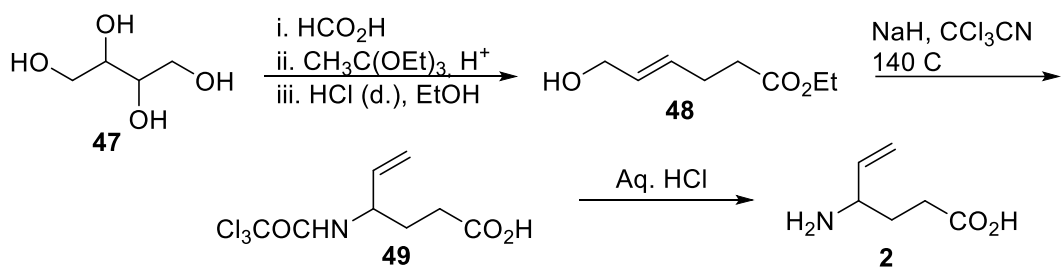
1.9 pav. Klasikinė γ -pakeistų- γ -aminorūgščių sintezė.

Itin svarbi γ -pakeista- γ -aminorūgštis yra vigabatrinas (**2**). Kaip jau minėta, ši aminorūgštis yra vienas geriausių prieš epilepsinių vaistų, dėl to šio junginio sintezės metodai per daugybę metų yra itin išstobulinti. Vigabatrino sintezė apima kelias stadijas, iš pradžių etilheksenoatas (**44**) maišomas su *N*-sulfinilbenzensulonamidu, tuomet gautas produktas (**45**) paeiliui veikiamas heksametildisilazanu bei natrio šarmu, susidarius junginiui (**46**) nuo jo yra pašalinamos apsauginės grupės, taip gaunant vigabatrino (**2**) (žr. 1.10 pav.) [30].



1.10 pav. Vigabatrino sintezė iš etilheksenoato.

Taip pat vigabatrinių (2) galima sintetinti iš eritritolio. Eritritolis (47) trijų pakopų sintezės metu paverčiamas etil-6-hidroksiheks-4-enoatu (48), kuris kaitinamas su trichlormetilacetamidatu dalyvauja Overman'o persigrupavimo reakcijoje, šios reakcijos metu į molekulę yra įvedama funkcinė aminogrupė. Junginį (49) hidrolizinant rūgštinėmis sąlygomis gaunamas vigabatrinas (2) (žr. 1.11 pav.) [31].

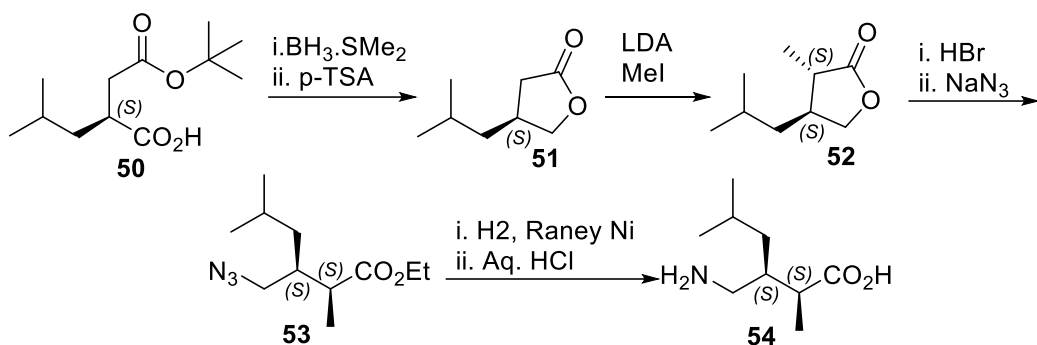


1.11 pav. Vigabatrino sintezė iš eritritolio.

1.2.4. Dipakeistos γ -aminorūgštys

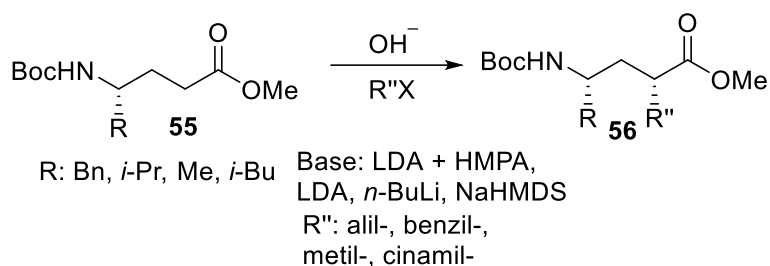
Pakaitai dipakeistose γ -aminorūgštyse gali būti α,β -, α,γ -, β,β - bei β,γ - padėtyse. Šie GABA analogai literatūroje yra sutinkami gerokai rečiau negu monopakeistų- γ -aminorūgščių. Vis dėlto, galima rasti keletą ištirtų sintezės pavyzdžių α,β - bei α,γ - rūgštims paruošti.

α,β -Pakeistos- γ -aminorūgštys gali būti sintetamos paruošiant γ -laktoną (52) iš karboksirūgšties (50), gautas γ -laktonas (51) yra metilinamas, šios reakcijos metu gaunamas *trans* ir *cis* izomerų mišinys (52) santykiu 4:1. Tuomet atskiriamas *trans* izomeras, hidrolizuojamas laktamo žiedas bei paruošiamas azidas (53). Po redukcijos ir rūgštinės hidrolizės gaunamas galutinis produktas - α,β -pakeista- γ -aminorūgštis (54) (žr. 1.12 pav.) [32].



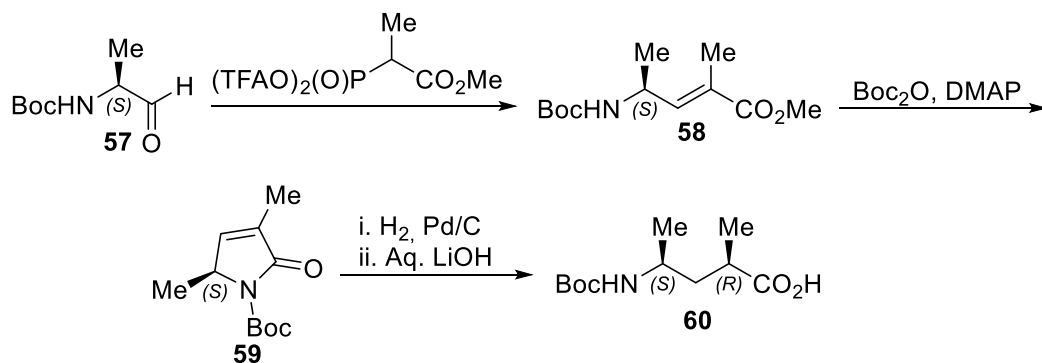
1.12 pav. α,β -Pakeistos- γ -aminorūgštis sintezės schema.

α,γ -Pakeistoms- γ -aminorūgštims paruošti populiariausias būdas yra alkilinimas. Pradine medžiaga pasirenkama γ -monopakeista- γ -aminorūgštis (**55**), kurią paveikus atitinkamu halogenidu reakcijos mišinyje esant stiprios bazės, gaunama *N* ir *O* blokuota α,γ -dipakeista- γ -aminorūgštis (**56**) (žr. 1.13 pav.) [33].



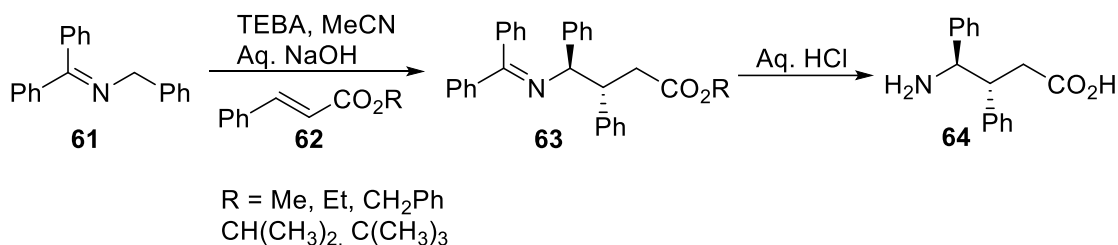
1.13 pav. Alkilinimo reakcija α,γ -pakeistoms- γ -aminorūgštims gauti.

Literatūroje taip pat yra apžvelgiamas būdas šioms aminorūgštims sintetinti iš *N*-Boc-*L*-alaninalio. *N*-Boc-*L*-alaninalis (**57**) Horner'io-Emmons'o-Wadsworth'o sintezės metu paverčiamas į nesotų (*E*)-esterį (**58**), kuris toliau konvertuojamas į laktamą (**59**). Po laktamo hidrinimo gaunamas *syn* junginys (**60**) (žr. 1.14 pav.) [34].



1.14 pav. α,γ -pakeistų- γ -aminorūgščių gavimas iš *N*-Boc-*L*-alanialio.

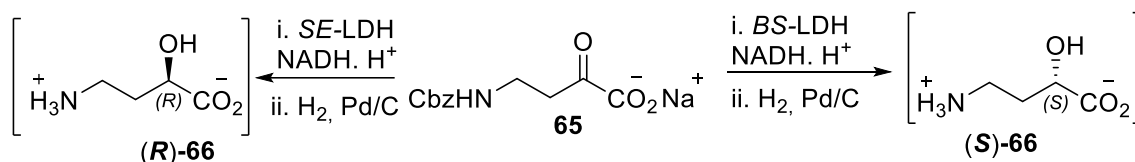
β,γ -Pakeistoms- γ -aminorūgštys gaunamos Schiff'o bazėms (**61**) reaguojant su cinamatais (**62**). Po reakcijos gautas junginys (**63**) yra hidrolizuojamas ir gaunama atitinkama β,γ -dipakeista- γ -aminorūgštis (**64**) (žr. 1.15 pav.) [35].



1.15 pav. β,γ -Pakeistų- γ -aminorūgščių gavimas.

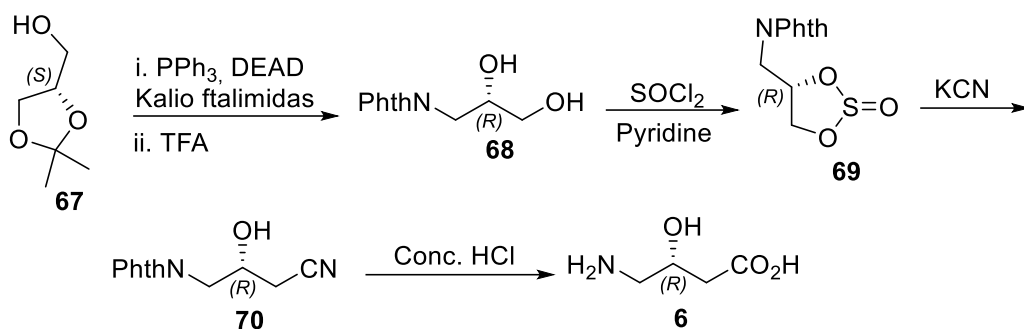
1.2.5. Hidroksi- γ -aminorūgštys

Literatūroje hidroksi- γ -aminorūgščių sintezė yra gan plačiai išnagrinėta, tačiau geriausiai žinomi yra α -hidroksi- γ -aminorūgščių bei β -hidroksi- γ -aminorūgščių gavimo metodai. α -Hidroksi- γ -aminorūgštys pramoniniu mastu gaunamos 4-benziloksikarbonilamino-2-oksobutanoto natrio druską (**65**) bei jos analogus veikiant laktato dehidrogenaze bei atliekant redukciją vandeniliu. Nuo fermento priklauso produkto stereoizomerija: pasirinkus *Bacillus stearotherophilus* laktato dehidrogenazę gaunamas (*S*)-izomeras ((*S*)-**66**), pasirinkus *Staphylococcus epidermidis* laktato dehidrogenazę gaunamas (*R*)-izomeras ((*R*)-**66**) (žr. 1.16 pav.) [36].



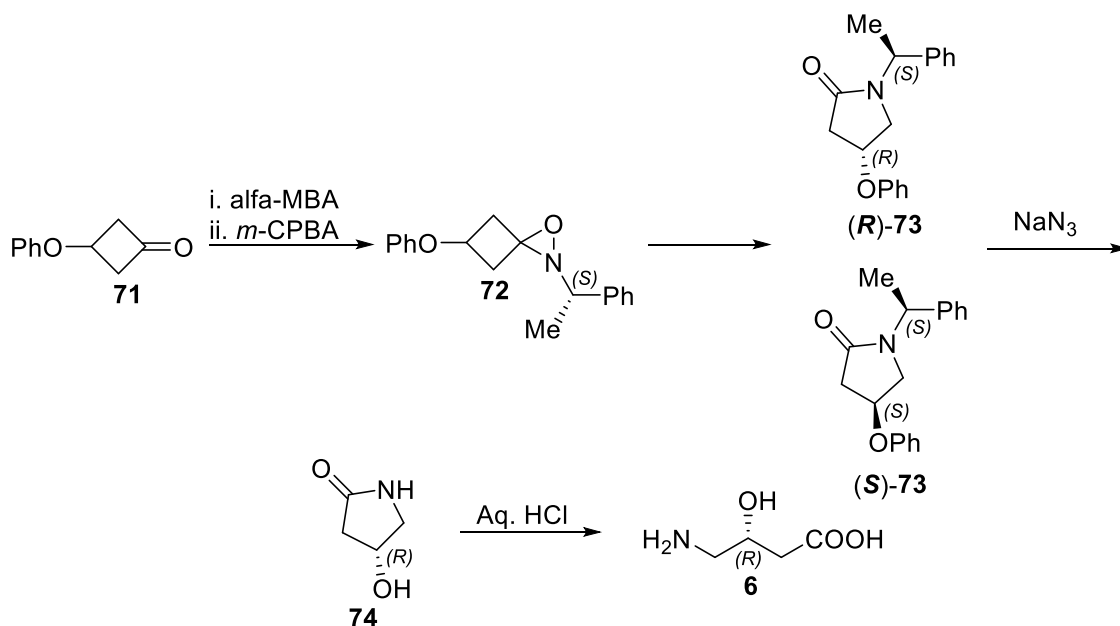
1.16 pav. Hidroksi- γ -aminorūgščių gavimas naudojant fermentus.

β -Hidroksi- γ -aminorūgščių gavimas yra dar svarbesnis negu α -Hidroksi- γ -aminorūgščių, taip yra todėl, kad viena iš šių rūgščių yra GABOB arba kitaip žinoma kaip γ -amino- β -hidroksisviesto rūgštis. Ši aminorūgštis yra svarbus antikonvulsantas ir veikia kaip GABA receptorių agonistas. Enantiomeriškai grynas GABOB buvo gautas (*S*)-glicerolio acetonidą (**67**) paverčiant ftalimidu (**68**), kurį toliau veikiant tionilchloridu piridine gaunamas ciklinis sulfitas (**69**). Po reakcijos su kalio cianidu buvo gautas hidroksinitrilas (**70**), kuris buvo hidrolizuotas iki (*R*)-GABOB (**6**) (žr. 1.17 pav.) [37].



1.17 pav. GABOB sintezė iš glicerolio acetonido.

Kondensuojant 3-benziloksiciklobutanoną (71) su α -metilbenzilaminu, po to vykdant oksidacijos reakciją buvo gautas oksaziridinas (72), šį junginį veikiant šviesa gauti laktamų diastereoizomerai (73), kurie buvo atskirti chromatografiškai. Pašalinus *N*-apsauginę grupę buvo išskirtas (*R*)-4-hidroksipirolidin-2-onas (74), iš kurio po rūgštinės hidrolizės gautas (*R*)-GABOB (6) (žr. 1.18 pav.) [38].



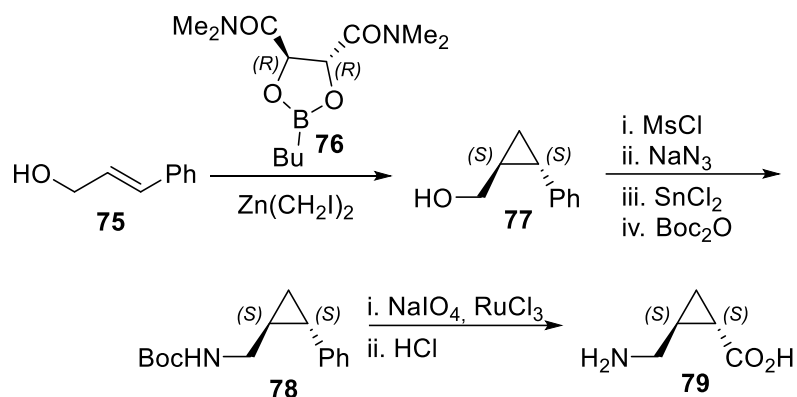
1.18 pav. GABOB sintezė iš 3-benziloksiciklobutanono.

1.2.6. Ciklinės γ -aminorūgštys

Ciklinių γ -aminorūgščių yra įvairių, geriausiai žinomos yra šios: ciklopropil-, ciklobutil-, ciklopentil- bei cikloheksil- γ -aminorūgštys. Kadangi šiame darbe ciklopentil- bei cikloheksil- γ -aminorūgštys nebus nagrinėjimos, todėl jų sintezės metodai taip pat nebus aptarti.

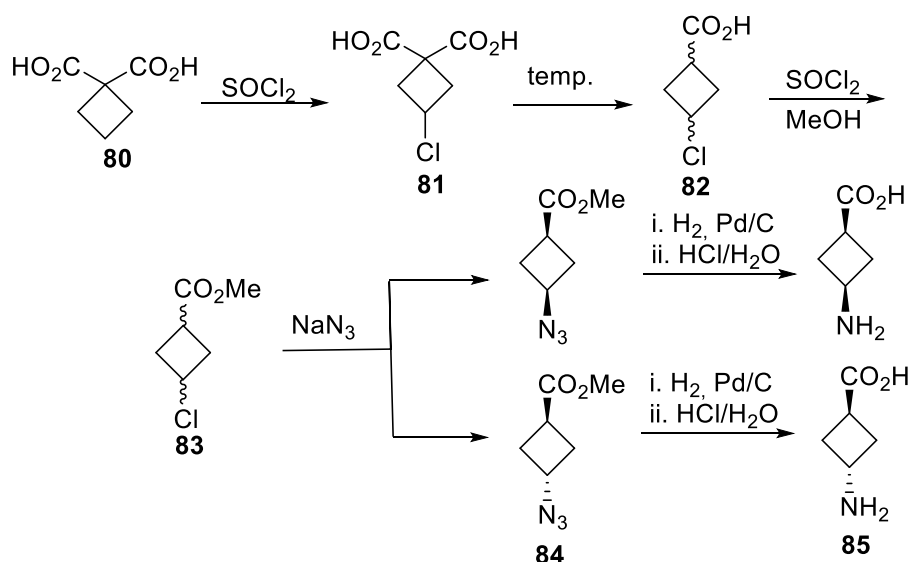
Trans-cinamilalkoholį (75) veikiant (+)-tartaro rūgšties chiraliniu dioksoborolano ligandu (76) buvo gautas (*S,S*)-ciklopropilalkoholis (77), kurį toliau pavertus į azidą, atlikus redukciją su

alavo(II) chloridu bei apsaugojus aminogrupę Boc apsaugine grupe buvo išskirtas *N*-apsaugotas aminas (**78**). Suoksidavus fenilgrupę bei pašalinus apsauginę Boc grupę buvo gauta gryna (*S,S*)-ciklopropil- γ -aminorūgštis (**79**) (žr. 1.19 pav.) [39].



1.19 pav. Ciklopropil- γ -aminorūgščių gavimas.

Ciklobutil- γ -aminorūgštys buvo paruoštos kaip pradinę medžiagą naudojant ciklobutano-1,1-dikarboksirūgštį (**80**). Visu pirma buvo susintetintas šios rūgšties chloridas (**81**), tuomet buvo pašalinta viena karboksigrupė ir gauta 3-chlorociklobutanokarboksirūgštis (**82**). Ši rūgštis buvo paversta į jos metilo esterį (**83**), o tada į azidą (**84**). Gauti izomerai buvo atskirti chromatografijos būdu. Pašalinus apsaugines grupes buvo gautos izomeriškai grynios ciklobutil- γ -aminorūgštys (**85**) (žr. 1.20 pav.) [40].



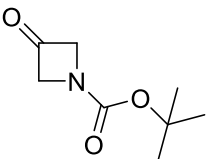
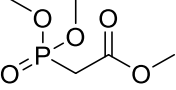
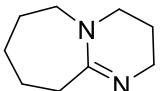

1.20 pav. Ciklobutil- γ -aminorūgščių gavimas.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai


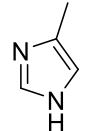
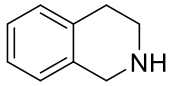
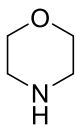
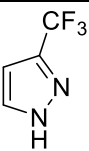
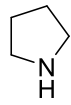

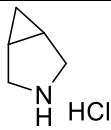
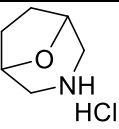
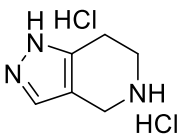
Visi BMR spektrai susintetintoms medžiagoms užrašyti Bruker Ascend 700 MHz ir Bruker Avance III 400 MHz spektrometrais, naudojant deuteruotą chloroformą. Vidinis standartas ^1H ir ^{13}C BMR spektrams – tetrametilsilanas. Azoto ^{15}N spektrams naudojamas išorinis standartas – nitrometanas. Poslinkiai matuoti δ skalėje milijoninėmis dalimis. Reakcijos eiga stebėta plonasluoksnės chromatografijos metodu, naudojant Merk Silica gel 60 F₂₅₄ aliuminio plokšteles. Plokštelėse esantys taškai ryškinti pagal žinomą metodiką paruoštu kalio permanganato tirpalu arba stebėti naudojant $\lambda = 254$ nm ir 366 nm šviesoje. IR spektrai užrašyti Bruker Vertex V70 aparatu naudojant vieno atspindžio deimantinį ATR priedą. HPLC-MS analizė atlikta su Shimadzu LC MS 2020 spektrometru. HRMS analizė atlikta Bruker maXis aparatu. Distiliacijai naudota Buch Glass Oven B585 Kugelrohr distiliatorius.

2.1. Sintezėje naudoti junginiai

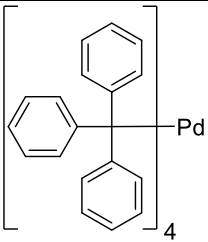
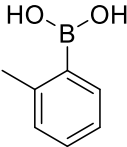
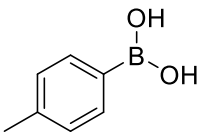
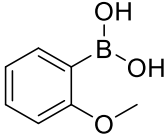
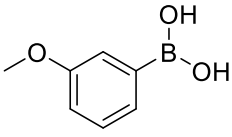
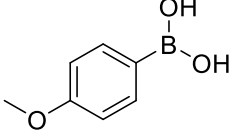
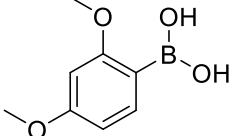
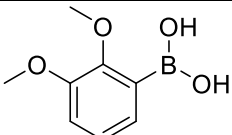
2.1 lentelė Sintezėje naudotos medžiagos

| Nr. | Struktūrinė formulė | Pavadinimas, tiekėjo kodas, CAS numeris | Tiekėjas |
|-----|---|--|---------------|
| 1. |  | <i>tert</i> -Butil-3-oksoazetidino-1-karboksilatų 98%, OS-1022, CAS: 398489-26-4 | Combi-Blocks |
| 2. |  | Trimetilfosfonacetatas 98%, ST-0871, CAS: 55168-74-6 | Combi-Blocks |
| 3. |  | 1,8-Diazabiciklo[5.4.0]undec-7-enas 98%, 139009, CAS: 6674-22-2 | Sigma-Aldrich |
| 4. | NaH | Natrio hidridas disperguotas mineralinėje alyvoje 60%, 452912, CAS: 7646-69-7 | Sigma-Aldrich |
| 5. |  | 4-Brompirazolas 97%, 036347, CAS: 2075-45-8 | Fluorochem |

2.1 lentelė Sintezėje naudotos medžiagos (tęsinys)

| | | | |
|-----|---|--|---------------|
| 6. |  | 1,2,4-Triazolas 98%, T46108, CAS: 288-88-0 | Sigma-Aldrich |
| 7. |  | 4-Metilimidazolas 98%, QA-3204, CAS: 822-36-6 | Combi-Blocks |
| 8. |  | 1,2,3,4-Tetrahidroizochinolinas 98%, OR-1575, CAS: 91-21-4 | Combi-Blocks |
| 9. |  | Morfolinas 99%, 252360, CAS: 110-91-8 | Sigma-Aldrich |
| 10. |  | 3-(Trifluorometil)pirazolas 406228, CAS: 20154-03-4 | Sigma-Aldrich |
| 11. |  | Pirolidinas 99%, 83240, CAS: 123-75-1 | Sigma-Aldrich |
| 12. |  | Azetidino hidrochloridas 97%, 036832, CAS: 36520-39-5 | Fluorochem |
| 13. |  | 3-Azabiciklo[3.1.0]heksano hidrochloridas 97%, QE-5757, CAS: 73799-64-1 | Combi-Blocks |
| 14. |  | 8-Oksa-3-azabiciklo[3.2.1]oktano hidrochloridas 98%, QC-9167, CAS: 54745-74-3 | Combi-Blocks |
| 15. |  | 4,5,6,7-Tetrahidro-1H-pirazol[4,3-c] piridino dihidrochloridas 98%, SS-2804, CAS: 157327-44-1 | Combi-Blocks |

2.1 lentelė Sintezėje naudotos medžiagos (tęsinys)

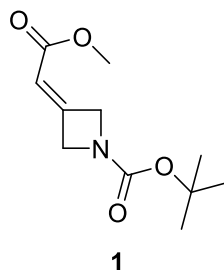
| | | | |
|-----|---|---|---------------|
| 16. |  | Tetrakis(trifenilfosfin)paladis(0) 99%, 216666, CAS: 14221-01-3 | Sigma-Aldrich |
| 17. | K_3PO_4 | Kalio fosfatas 99%, P5629, CAS: 7778-53-2 | Sigma-Aldrich |
| 18. |  | <i>o</i> -Tolilbororūgštis 98%, 002464, CAS: 16419-60-6 | Fluorochem |
| 19. |  | <i>p</i> -Tolilbororūgštis 98%, 010854, CAS: 5720-05-8 | Fluorochem |
| 20. |  | 2-Metoksibenzenbororūgštis 97%, 011001, CAS: 5720-06-9 | Fluorochem |
| 21. |  | 3-Metoksibenzenbororūgštis 97%, 011002, CAS: 10365-98-7 | Fluorochem |
| 22. |  | 4-Metoksibenzenbororūgštis 97%, 003422, CAS: 5720-07-0 | Fluorochem |
| 23. |  | 2,4-Dimetoksibenzenbororūgštis 95%, 010989, CAS: 133730-34-4 | Fluorochem |
| 24. |  | 2,3-Dimetoksibenzenbororūgštis 95%, 045260, CAS: 40972-86-9 | Fluorochem |

Taip pat naudoti HPLC standarto tirpikliai: acetonitrilas ir tetrahidrofuranas pirkti iš Sigma-Aldrich. Dioksanas sintezei buvo paruoštas absoliutus, analitinio standarto dioksaną virinant su metaliniu natriu argono atmosferoje ir surenkant distiliatą. Ekstrakcijai naudotas analitinio standarto etilacetatas bei distiliuotas vanduo. Po ekstrakcijos reakcijos apdorotos bevandeniu natrio sulfatu. Kolonėlinei chromatografijai naudoti analitinio standarto metanolis bei distiliuoti analitinio standarto etilacetatas, dishlormetanas bei heksanas. Chromatografijoje bei ekstrakcijoje naudoti analitinio standarto tirpikliai bei neorganinės medžiagos buvo užsakyti iš Labochemos.

Kalio permanganato tirpalas plonasluoksnei chromatografijai paruoštas pagal metodiką rastą Mičigano universiteto internetiniame puslapyje. 1,5 g kalio permanganato, 10 g kalio karbonato bei 1,25 ml 10% natrio šarmo tirpalo ištirpinta 200 ml distiliuoto vandens [41]. Gautas tirpalas buvo saugomas tamsaus stiklo taroje.

2.2. Pradinės medžiagos sintezė

tert-butil-3-(2-metoksi-2-oksoetiliden)azetid-1- karboksilat (1)



13,8 g (76 mmol) trimetilfosfonacetato ištirpinama 250 ml HPLC standarto tetrahidrofurane. Tirpalas atšaldomas iki 0 °C temperatūros bei 20 minučių per tirpalą leidžiamos argono dujos. Tuomet per 15 minučių mažomis porcijomis sudėtas 60% natrio hidridas (3,12 g, 78 mmol). Sudėjus natrio hidridą reakcija intensyviai maišoma 20 minučių. Tada 12,5 g *tert*-Butil-3-oksoazetid-1-karboksilato yra ištirpinamas 50 ml tetrahidrofurano, gautas tirpalas yra supilamas į reakcijos mišinį, kuris paliekamas maišytis kambario temperatūroje 1 valandą. Po valandos rotaciniu išgarintuvu nugarinama apie 150-200 ml tetrahidrofurano, į gautą mišinį įpilama 100 ml distiliuoto vandens ir vykdoma ekstrakcija etilacetatu 3×100 ml. Organinė fazė surenkama, apdorojama natrio sulfatu, nufiltruojama ir nugarinama iki sausumo rotaciniu išgarintuvu. Gauta masė distiliuojama Kugelrohr vakuuminiu distiliatoriumi 130 °C temperatūroje. Išiga: 72%.

^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 5.79 (s, 1H, CH), 4.81 (m, 2H, CH_2), 4.59 (m, 2H, CH_2), 3.72 (s, 3H, CH_3), 1.46 (s, 9H, 3 CH_3).

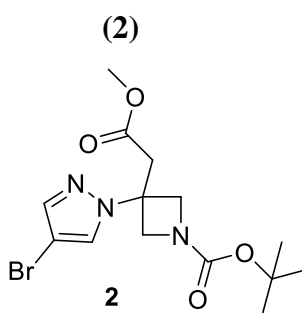
^{13}C NMR (176 MHz, CDCl_3) δ 165.70, 156.20, 153.07, 113.30, 80.13, 60.29, 57.87, 51.51, 28.35.

ATR-IR 2968, 1720, 1701, 1681, 1439, 1400, 1393, 1313, 1278, 1263, 1242, 1150, 1120, 1024, 944, 924, 865, 834, 834, 768.

HRMS $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{NO}_4\text{Na}$ ($[\text{M}+23]^+$) 250,1051

2.3. Aminogrupės jungimas prie dvigubo ryšio

tert-butil-3-(4-bromo-1H-pirazol-1-il)-3-(2-metoksi-2-oksoetil)azetidin-1-karboksilatas



3,16 g (21,5 mmol) 4-brompirazolo ištirpinama 15 ml HPLC standarto acetonitrile, tuomet į tirpalą sulašinama 3,30 g (21,5 mmol) DBU bei sudedama 5 g (22 mmol) junginio **1**. Reakcija vykdoma 65 °C temperatūroje 16 valandų. Po reakcijos acetonitrilas nugarinamas rotaciniu išgarintuvu ir gauta masė gryninama kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:etilacetatas 4:1. Išeiga: 82%.

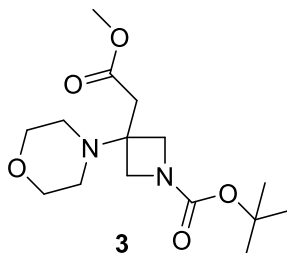
^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 7.67 (s, 1H, CH), 7.49 (s, 1H, CH), 4.37 (d, $J = 9.7$ Hz, 2H, CH_2), 4.25 (d, $J = 9.7$ Hz, 2H, CH_2), 3.64 (s, 3H, CH_3), 3.20 (s, 2H, CH_2), 1.45 (s, 9H, 3 CH_3).

^{13}C NMR (176 MHz, CDCl_3) δ 169.67, 156.01, 140.51, 128.20, 93.77, 80.48, 59.80, 57.57, 52.04, 41.77, 28.31.

ATR IR 3098, 2964, 1729, 1690, 1406, 1379, 1335, 1239, 1204, 1156, 1049, 964, 951, 849, 612.

HRMS $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{BrN}_3\text{O}_4\text{Na}$ ($[\text{M}+23]^+$) Apskaičiuota: 396,0530. Rasta: 396,0529.

***tert*-butil-3-(2-metoksi-2-oksoetil)-3-morfolinoazetidini-1-karboksilatas (3)**



453 mg (5,20 mmol) morfolino ištirpinama 3,6 ml HPLC standarto acetonitrile, tuomet į tirpalą sulašinama 796 mg (5,23 mmol) DBU bei sudedama 1,2 g (5,27 mmol) junginio **1**. Reakcija vykdoma 65 °C temperatūroje 6 valandas. Po reakcijos acetonitrilas nugarinamas rotaciniu išgarintuvu ir gauta masė gryninama kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:etilacetatas 4:1. Išeiga: 73%.

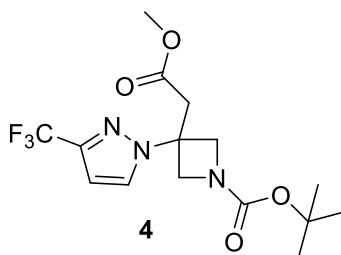
^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 3,94 – 3,79 (m, 4H, 2 CH_2), 3,70-3,66 (m, 7H, CH_3 , 2 CH_2), 2.66 (s, 2H, CH_2), 2.47 (s, 4H, 2 CH_2), 1.43 (s, 9H, 3 CH_3).

^{13}C NMR (176 MHz, CDCl_3) δ 171.64, 156.43, 79.64, 67.19, 57.58, 57.23, 56.29, 51.89, 46.02, 35.84, 28.38.

ATR-IR 2937, 2826, 1730, 1691, 1598, 1503, 1400, 1384, 1368, 1271, 1205, 1175, 1146, 957, 946, 751.

HRMS $\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_5\text{Na}$ ($[\text{M}+23]^+$) Apskaičiuota: 337,1734. Rasta: 337,1734.

***tert*-butil-3-(2-metoksi-2-oksoetil)-3-(3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)azetidini-1-karboksilatas (4)**



708 mg (5,20 mmol) 3-(trifluorometil)pirazolo ištirpinama 3,6 ml HPLC standarto acetonitrile, tuomet į tirpalą sulašinama 796 mg (5,23 mmol) DBU bei sudedama 1,2 g (5,27 mmol) junginio **1**. Reakcija vykdoma 65 °C temperatūroje 16 valandų. Po reakcijos acetonitrilas nugarinamas rotaciniu išgarintuvu ir gauta masė gryninama kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:etilacetatas 4:1. Išeiga: 63%.

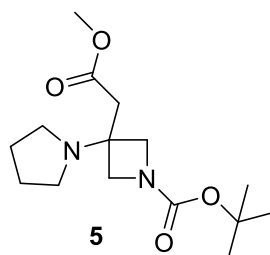
^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 7.71 (d, $J = 1.6$ Hz, 1H, CH), 6.54 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, CH), 4.43 (d, $J = 9.8$ Hz, 2H, CH_2), 4.29 (d, $J = 9.9$ Hz, 2H, CH_2), 3.62 (s, 3H, CH_3), 3.23 (s, 2H, CH_2), 1.44 (s, 9H, 3 CH_3).

^{13}C NMR (176 MHz, CDCl_3) δ 169.66, 155.99, (143.30, 143.09, 142.87, 142.65, C- CF_3), 129.70, (123.33, 121.81, 120.28, 118.76, C- CF_3) 104.64, 80.57, 59.61, 57.83, 52.02, 42.05, 28.29.

ATR-IR 3104, 2980, 2937, 1738, 1693, 1438, 1393, 1290, 1206, 1155, 1142, 1079, 1037, 1008, 963, 773.

HRMS $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4$ ($[\text{M}+1]^+$) Apskaičiuota: 386,1298. Rasta: 386,1298.

***tert*-butil 3-(2-metoksi-2-oksoetil)-3-(pirolidin-1-il)azetidin-1-karboksilatas (5)**



370 mg (5,20 mmol) pirolidino ištirpinama 3,6 ml HPLC standarto acetonitrile, tuomet į tirpalą sulašinama 796 mg (5,23 mmol) DBU bei sudedama 1,2 g (5,27 mmol) junginio **1**. Reakcija vykdoma 65 °C temperatūroje 4 valandas. Po reakcijos acetonitrilas nugarinamas rotaciniu išgarintuvu ir gauta masė gryninama kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:etilacetatas 2:1. Išėiga: 61%.

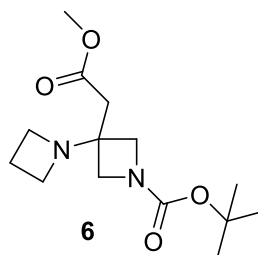
^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 3.94 (d, $J = 9.2$ Hz, 2H, CH_2), 3.90 – 3.69 (m, 2H, CH_2), 3.61 (s, 3H, CH_3), 2.67 (s, 2H, CH_2), 2.61 (m, 4H, 2 CH_2), 1.73 – 1.68 (m, 4H, 2 CH_2), 1.37 (s, 9H, 3 CH_3).

^{13}C NMR (176 MHz, CDCl_3) δ 171.42, 156.34, 79.49, 56.71, 56.59, 54.89, 51.65, 46.75, 41.25, 28.39, 24.00.

ATR IR 2972, 2880, 2824, 1736, 1697, 1479, 1390, 1365, 1343, 1336, 1286, 1202, 1143, 1059, 1007, 860, 771.

HRMS $\text{C}_{15}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4$ ($[\text{M}+1]^+$) Apskaičiuota: 299,1965. Rasta: 299,1965.

***tert*-butil-3'-(2-metoksi-2-oksoetil)-[1,3'-biazetidin]-1'-karboksilatas (6)**



486 mg (5,20 mmol) azetidino hidroklorido ištirpinama 3,6 ml HPLC standarto acetonitrile, tuomet į tirpalą sulašinama 1,58 g (10,43 mmol) DBU bei sudedama 1,2 g (5,27 mmol) junginio **1**. Reakcija vykdoma 65 °C temperatūroje 4 valandas. Po reakcijos acetonitrilas nugarinamas rotaciniu išgarintuvu, mišinys praplaunamas nedideliu kiekiu distiliuoto vandens ir vykdoma ekstrakcija etilacetatu (3×10 ml). Organinė fazė džiovinama bevandeniu natrio sulfatu, tirpalas filtruojamas ir koncentruojamas rotaciniu išgarintuvu. Gauta masė gryninama kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas dichlormetanas:metanolis 95:5. Išeiga: 64%.

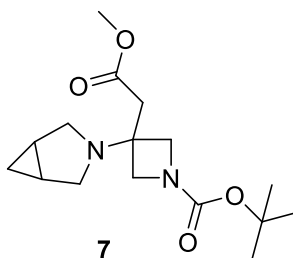
¹H NMR (700 MHz, CDCl₃) δ 3.98 (m, 2H, CH₂), 3.76 (m, 2H, CH₂), 3.66 (s, 3H, CH₃), 3.27 (t, *J* = 7.1 Hz, 4H, 2CH₂), 2.52 (s, 2H, CH₂), 2.02 (p, *J* = 7.2 Hz, 2H, CH₂), 1.42 (s, 9H, 3CH₃).

¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃) δ 170.99, 156.28, 79.58, 57.11, 54.13, 52.58, 51.66, 48.21, 40.49, 28.37, 15.98.

ATR IR 2977, 2945, 2829, 1731, 1694, 1436, 1409, 1369, 1361, 1330, 1288, 1270, 1251, 1175, 1134, 1103, 1075, 1038.

HRMS C₁₄H₂₅N₂O₄ ([M+1]⁺) Apskaičiuota: 285,1809. Rasta: 285,1809.

***tert*-butil-3-(3-azabiciklo[3.1.0]heksan-3-il)-3-(2-metoksi-2-oksoetil)azetidin-1-karboksilatas (7)**



622 mg (5,20 mmol) 3-azabiciklo[3.1.0]heksano hidroklorido ištirpinama 3,6 ml HPLC standarto acetonitrile, tuomet į tirpalą sulašinama 1,58 g (10,43 mmol) DBU bei sudedama 1,2 g (5,27 mmol) junginio **1**. Reakcija vykdoma 65 °C temperatūroje 4 valandas. Po reakcijos acetonitrilas nugarinamas rotaciniu išgarintuvu, mišinys praplaunamas nedideliu kiekiu distiliuoto vandens ir vykdoma ekstrakcija etilacetatu (3×10 ml). Organinė fazė džiovinama bevandeniu natrio sulfatu, tirpalas filtruojamas ir koncentruojamas rotaciniu išgarintuvu. Gauta masė gryninama

kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:etilacetatas 2:1. Išeiga: 54%.

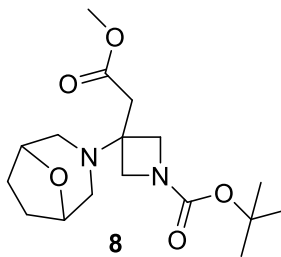
^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 3.97 (d, $J = 9.3$ Hz, 2H, CH_2), 3.79 (m, 2H, CH_2), 3.63 (s, 3H, CH_3), 2.96 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, CH_2), 2.69 (s, 2H, CH_2), 2.56 (s, 2H, CH_2), 1.42 (s, 9H, 3 CH_3), 1.34 (m, 2H, 2CH), 0.54 (q, $J = 3.8$ Hz, 1H, CH_2), 0.33 (m, 1H, CH_2).

^{13}C NMR (176 MHz, CDCl_3) δ 171.27, 156.34, 79.50, 56.31, 54.79, 51.49, 48.12, 41.96, 28.38, 15.18, 6.83.

ATR IR 2975, 2873, 2814, 2764, 1732, 1694, 1455, 1436 1378, 1363, 1327, 1314, 1279, 1254 1206, 1152, 1079, 1036, 855, 804.

HRMS $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_4$ ($[\text{M}+1]^+$) Apskaičiuota: 311,1965. Rasta: 311,1965.

***tert*-butil-3-(8-oksa-3-azabiciklo[3.2.1]oktan-3-il)-3-(2-metoksi-2-oksoetil)azetidin-1-karboksilatas (8)**



778 mg (5,20 mmol) 8-oksa-3-azabiciklo[3.2.1]oktano hidroklorido ištirpinama 3,6 ml HPLC standarto acetonitrile, tuomet į tirpalą sulašinama 1,58 g (10,43 mmol) DBU bei sudedama 1,2 g (5,27 mmol) junginio **1**. Reakcija vykdoma 65 °C temperatūroje 8 valandas. Po reakcijos acetonitrilas nugarinamas rotaciniu išgarintuvu, mišinys praplaunamas nedideliu kiekiu distiliuoto vandens ir vykdoma ekstrakcija etilacetatu (3×10 ml). Organinė fazė džiovinama bevandeniu natrio sulfatu, tirpalas filtruojamas ir koncentruojamas rotaciniu išgarintuvu. Gauta masė gryninama kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:etilacetatas 2:1. Išeiga: 43%.

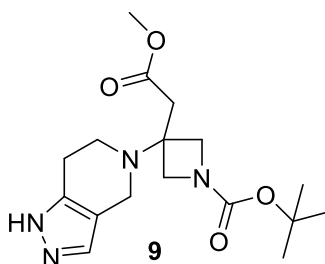
^1H NMR (700 MHz, CDCl_3) δ 3.83 (m, 4H, 2 CH_2), 3.67 (s, 3H, CH_3), 3.55 (d, $J = 9.8$ Hz, 2H, CH_2), 3.52 – 3.47 (d, $J = 9.8$ Hz, 2H, CH_2), 3.41 (d, $J = 4.6$ Hz, 2H), 2.72 (s, 2H, CH_2), 1.97 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, CH_2), 1.70 (s, 2H, 2CH), 1.42 (s, 9H, 3 CH_3).

^{13}C NMR (176 MHz, CDCl_3) δ 171.12, 156.45, 79.68, 74.85, 58.20, 57.26, 56.81, 51.64, 42.24, 28.37, 27.91.

ATR-IR 2942, 2904, 2856, 1731, 1697, 1601, 1519, 1395, 1382, 1374, 1264, 1258, 1200, 1173, 1134, 946, 938, 748.

HRMS $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_5$ ($[\text{M}+1]^+$) Apskaičiuota: 341,2070. Rasta: 341,2071.

***tert*-butil-3-(2-metoksi-2-oksoetil)-3-(1,4,6,7-tetrahidro-5H-pirazolo[4,3-c]piridin-5-il)azetidin-1-karboksilatas (9)**



1,04 g (5,30 mmol) 4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazol[4,3-c]piridino dihidrochlorido ištirpinama 3,6 ml HPLC standarto acetonitrile, tuomet į tirpalą sulašinama 2,42 g (15,90 mmol) DBU bei sudedama 1,2 g (5,27 mmol) junginio **1**. Reakcija vykdoma 65 °C temperatūroje 16 valandų. Po reakcijos acetonitrilas nugarinamas rotaciniu išgarintuvu, mišinys praplaunamas nedideliu kiekiu distiliuoto vandens ir vykdoma ekstrakcija etilacetatu (3×10 ml). Organinė fazė džiovinama bevandeniu natrio sulfatu, tirpalas filtruojamas ir koncentruojamas rotaciniu išgarintuvu. Gauta masė gryninama kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas dichlormetanas:metanolis 95:5. Išeiga: 39%.

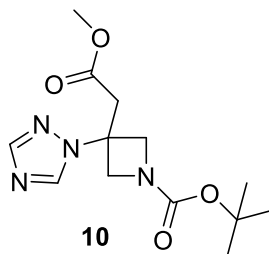
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.29 (s, 1H, CH), 5.78 (s, 1H, NH), 3.98 (s, 2H, CH₂), 3.89 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H, CH₂), 3.68 (s, 3H, CH₃), 3.54 (s, 2H, CH₂), 2.75 (m, 6H, CH₂, 2CH₂), 1.41 (s, 9H, 3CH₃).

¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 171.84, 156.47, 142.53, 128.83, 113.59, 79.70, 58.34, 57.79, 57.44, 51.97, 44.03, 41.24, 35.55, 28.37, 24.04.

ATR IR 3232, 3219, 2973, 2984, 1732, 1696, 1478, 1392, 1365, 1342, 1298, 1237, 1195, 1144, 1103, 1060, 1049, 771.

HRMS C₁₇H₂₇N₄O₄ ([M+1]⁺) Apskaičiuota: 351,2026. Rasta: 351,2027.

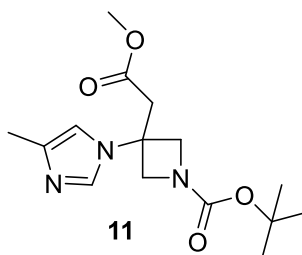
***tert*-butil-3-(2-metoksi-2-oksoetil)-3-(1H-1,2,4-triazol-1-il)azetidin-1-karboksilatas (10)**



358 mg (5,20 mmol) 1,2,4-triazolo ištirpinama 3,6 ml HPLC standarto acetonitrile, tuomet į tirpalą sulašinama 796 mg (5,23 mmol) DBU bei sudedama 1,2 g (5,27 mmol) junginio **1**. Reakcija vykdoma 65 °C temperatūroje 16 valandų. Po reakcijos acetonitrilas nugarinamas rotaciniu išgarintuvu ir gauta masė gryninama kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:etilacetatas 4:1. Gryno išskirti nepavyko.

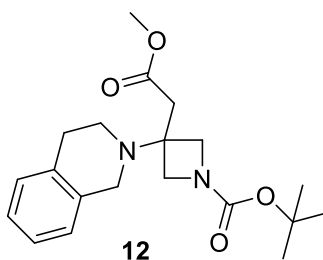
***tert*-butil-3-(2-metoksi-2-oksoetil)-3-(4-metil-1H-imidazol-1-il)azetidini-1-karboksilatas**

(11)



426 mg (5,20 mmol) 4-metilimidazolo ištirpinama 3,6 ml HPLC standarto acetonitrile, tuomet į tirpalą sulašinama 796 mg (5,23 mmol) DBU bei sudedama 1,2 g (5,27 mmol) junginio **1**. Reakcija vykdoma 65 °C temperatūroje 16 valandų. Reakcija nevyksta.

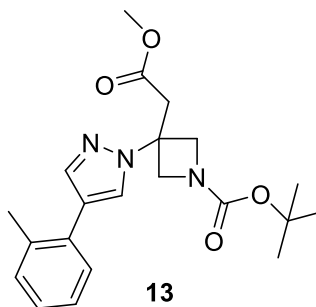
***tert*-butil-3-(3,4-dihidroizochinolin-2(1H)-il)-3-(2-metoksi-2-oksoetil)azetidini-1-karboksilatas (12)**



693 mg (5,20 mmol) 4-metilimidazolo ištirpinama 3,6 ml HPLC standarto acetonitrile, tuomet į tirpalą sulašinama 796 mg (5,23 mmol) DBU bei sudedama 1,2 g (5,27 mmol) junginio **1**. Reakcija vykdoma 65 °C temperatūroje 16 valandų. Reakcija nevyksta.

2.4. Suzuki-Miyaura kryžminė sintezė

tert-butil-3-(2-metoksi-2-oksoetil)-3-(4-(*o*-tolil)-1H-pirazol-1-il)azetidini-1-karboksilatas (13)



2 g (5,34 mmol) junginio **2** ištirpinta absoliučiam dioksane, per tirpalą 20 minučių leistos argono dujos. Tuomet į tirpalą įdėta 3,4 g (16,02 mmol) bevandenio kalio fosfato, 870 mg (6,4 mmol) *o*-tolilbororūgštis bei 310 mg (0,267 mmol) tetrakis(trifenilfosfin)paladžio. Mišinys buvo maišomas 100 °C temperatūroje 24 valandas. Po reakcijos mišinys buvo atvėsintas iki kambario temperatūros, praplautas nedideliu kiekiu vandens bei ekstrahuotas etilacetatu 3×20 ml. Organinis sluoksnis buvo išdžiovintas bevandeniu natrio sulfatu, nufilturotas ir nugarintas rotaciniu išgarintuvu. Gauta masė buvo išgryninta kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:acetonas 1:4. Išeiga 70%.

¹H NMR (700 MHz, CDCl₃) δ 7.73 (s, 1H, CH), 7.69 (s, 1H, CH), 7.36 – 7.32 (m, 1H, CH), 7.28 – 7.26 (m, 1H, CH), 7.24-7.21 (m, 2H, 2CH), 4.52 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H, CH₂), 4.35 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H, CH₂), 3.66 (s, 3H, CH₃), 3.28 (s, 2H, CH₂), 2.41 (s, 3H, CH₃), 1.49 (s, 9H, 3CH₃).

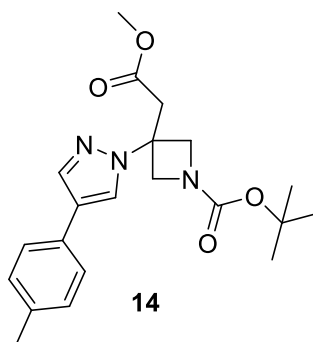
¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃) δ 169.89, 156.14, 139.64, 135.31, 131.81, 130.71, 129.13, 127.00, 126.62, 126.04, 122.49, 80.35, 59.92, 57.03, 51.96, 42.22, 28.33, 21.19.

ATR IR 2974, 1954, 1736, 1699, 1478, 1456, 1391, 1239, 1203, 1165, 1145, 1115, 1081, 1055, 1034, 974, 952, 758.

HRMS C₂₁H₂₇N₃O₄Na ([M+23]⁺) Apskaičiuota: 408,1894. Rasta: 408,1894.

***tert*-butil-3-(2-metoksi-2-oksoetil)-3-(4-(*p*-tolil)-1H-pirazol-1-il)azetidini-1-karboksilatas**

(14)



2 g (5,34 mmol) junginio **2** ištirpinta absoliučiam dioksane, per tirpalą 20 minučių leistos argono dujos. Tuomet į tirpalą įdėta 3,4 g (16,02 mmol) bevandenio kalio fosfato, 870 mg (6,4 mmol) *p*-tolilbororūgštis bei 310 mg (0,267 mmol) tetrakis(trifenilfosfin)paladžio. Mišinys buvo maišomas 100 °C temperatūroje 24 valandas. Po reakcijos mišinys buvo atvėsintas iki kambario temperatūros, praplautas nedideliu kiekiu vandens bei ekstrahuotas etilacetatu 3×20 ml. Organinis sluoksnis buvo išdžiovintas bevandeniu natrio sulfatu, nufilturotas ir nugarintas rotaciniu išgarintuvu. Gauta masė buvo išgryninta kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:acetonas 1:4. Išeiga 78%.

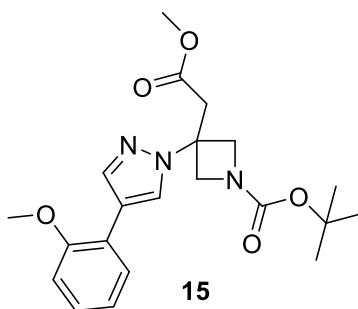
¹H NMR (700 MHz, CDCl₃) δ 7.84 (s, 1H, CH), 7.78 (s, 1H, CH), 7.37 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, 2CH), 7.17 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, 2CH), 4.47 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H, CH₂), 4.31 (d, *J* = 9.7 Hz, 2H, CH₂), 3.62 (s, 3H, CH₃), 3.25 (s, 2H, CH₂), 2.35 (s, 3H, CH₃), 1.46 (s, 9H, 3CH₃).

¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃) δ 169.91, 156.13, 137.44, 136.34, 129.56, 129.28, 125.53, 124.40, 123.50, 80.34, 60.00, 57.07, 51.96, 42.08, 28.33, 21.14.

ATR IR 2978, 2984, 1733, 1691, 1439, 1408, 1367, 1360, 1264, 1237, 1205, 1179, 1156, 1147, 1129, 1112, 1053, 972, 952, 811, 778.

HRMS C₂₁H₂₇N₃O₄Na ([M+23]⁺) Apskaičiuota: 408,1894. Rasta: 408,1894.

***tert*-butil-3-(2-metoksi-2-oksoetil)-3-(4-(2-metoksifenil)-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-karboksilatas (15)**



2 g (5,34 mmol) junginio **2** ištirpinta absoliučiam dioksane, per tirpalą 20 minučių leistos argono dujos. Tuomet į tirpalą įdėta 3,4 g (16,02 mmol) bevandenio kalio fosfato, 973 mg (6,4 mmol) 2-metoksibenzenbororūgšties bei 310 mg (0,267 mmol) tetrakis(trifenilfosfin)paladžio. Mišinys buvo maišomas 100 °C temperatūroje 24 valandas. Po reakcijos mišinys buvo atvėsintas iki kambario temperatūros, praplautas nedideliu kiekiu vandens bei ekstrahuotas etilacetatu 3×20 ml. Organinis sluoksnis buvo išdžiovintas bevandeniu natrio sulfatu, nufiltuotas ir nugarintas rotaciniu išgarintuvu. Gauta masė buvo išgryninta kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:acetonas 1:4. Išeiga 29%.

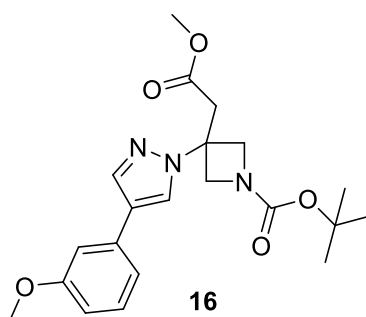
¹H NMR (700 MHz, CDCl₃) δ 8.06 (s, 1H, CH), 7.92 (s, 1H, CH), 7.51 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H, CH), 7.22 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, CH), 6.98 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H, CH), 6.96 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, CH), 4.50 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H, CH₂), 4.32 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H, CH₂), 3.91 (s, 3H, CH₃), 3.62 (s, 3H, CH₃), 3.25 (s, 2H, CH₂), 1.46 (s, 9H, 3CH₃).

¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃) δ 169.90, 156.17, 155.81, 138.97, 127.54, 127.53, 127.06, 120.98, 120.86, 118.91, 111.17, 80.28, 60.00, 56.97, 55.41, 51.94, 42.24, 28.34.

ATR IR 2975, 2957, 1737, 1698, 1492, 1462, 1436, 1391, 1365, 1241, 1204, 1165, 1146, 1131, 1119, 1051, 1026, 973, 951, 751.

HRMS C₂₁H₂₇N₃O₅Na ([M+23]⁺) Apskaičiuota: 424,1843. Rasta: 424,1843.

***tert*-butil-3-(2-metoksi-2-oksoetil)-3-(4-(3-metoksifenil)-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-karboksilatas (16)**



2 g (5,34 mmol) junginio **2** ištirpinta absoliučiam dioksane, per tirpalą 20 minučių leistos argono dujos. Tuomet į tirpalą įdėta 3,4 g (16,02 mmol) bevandenio kalio fosfato, 973 mg (6,4 mmol) 3-metoksibenzenbororūgšties bei 310 mg (0,267 mmol) tetrakis(trifenilfosfin)paladžio. Mišinys buvo maišomas 100 °C temperatūroje 24 valandas. Po reakcijos mišinys buvo atvėsintas iki kambario temperatūros, praplautas nedideliu kiekiu vandens bei ekstrahuotas etilacetatu 3×20 ml. Organinis sluoksnis buvo išdžiovintas bevandeniu natrio sulfatu, nufiltuotas ir nugarintas rotaciniu išgarintuvu. Gauta masė buvo išgryninta kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:acetonas 1:4. Išeiga 81%.

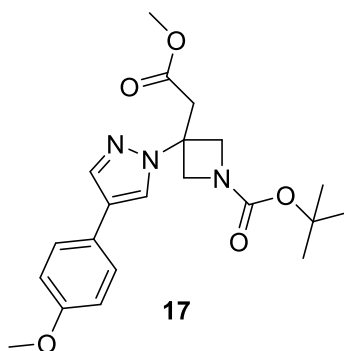
¹H NMR (700 MHz, CDCl₃) δ 7.87 (s, 1H, CH), 7.79 (s, 1H, CH), 7.28 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H, CH), 7.07 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H, CH), 7.02 – 6.99 (m, 1H, CH), 6.79 (dd, *J* = 8.2, 2.5 Hz, 1H, CH), 4.47 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H, CH₂), 4.31 (d, *J* = 9.7 Hz, 2H, CH₂), 3.84 (s, 3H, CH₃), 3.62 (s, 3H, CH₃), 3.25 (s, 2H, CH₂), 1.46 (s, 9H, 3CH₃).

ATR IR 2975, 2957, 1736, 1697, 1606, 1582, 1455, 1435, 1390, 1366, 1282, 1222, 1205, 1164, 1147, 1127, 1093, 1043, 973, 774.

¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃) δ 169.88, 160.04, 156.13, 137.63, 133.56, 129.93, 124.86, 123.39, 118.18, 112.00, 111.38, 80.38, 59.90, 57.13, 55.29, 51.99, 42.05, 28.33.

HRMS C₂₁H₂₇N₃O₅Na ([M+23]⁺) Apskaičiuota: 424,1843. Rasta: 424,1843.

***tert*-butil-3-(2-metoksi-2-oksoetil)-3-(4-(4-metoksifenil)-1H-pirazol-1-il)azetidin-1-karboksilatas (17)**



2 g (5,34 mmol) junginio **2** ištirpinta absoliučiam dioksane, per tirpalą 20 minučių leistos argono dujos. Tuomet į tirpalą įdėta 3,4 g (16,02 mmol) bevandenio kalio fosfato, 973 mg (6,4 mmol) 4-metoksibenzenbororūgšties bei 310 mg (0,267 mmol) tetrakis(trifenilfosfin)paladžio. Mišinys buvo maišomas 100 °C temperatūroje 24 valandas. Po reakcijos mišinys buvo atvėsintas iki kambario temperatūros, praplautas nedideliu kiekiu vandens bei ekstrahuotas etilacetatu 3×20 ml. Organinis sluoksnis buvo išdžiovintas bevandeniu natrio sulfatu, nufiltuotas ir nugarintas rotaciniu išgarintuvu. Gauta masė buvo išgryninta kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:acetonas 1:4. Išeiga 80%.

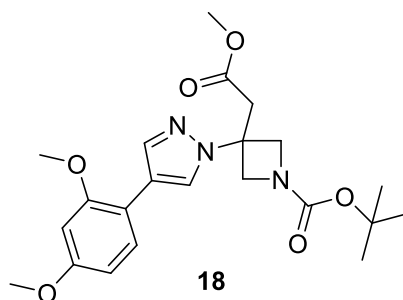
¹H NMR (700 MHz, CDCl₃) δ 7.80 (s, 1H, CH), 7.73 (s, 1H, CH), 7.39 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2CH), 6.90 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, 2CH), 4.46 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H, CH₂), 4.30 (d, *J* = 9.7 Hz, 2H, CH₂), 3.81 (s, 3H, CH₃), 3.62 (s, 3H, CH₃), 3.24 (s, 2H, CH₂), 1.45 (s, 9H, 3CH₃).

¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃) δ 169.92, 158.51, 156.13, 137.27, 126.81, 124.85, 124.06, 123.27, 114.32, 80.33, 59.94, 57.04, 55.33, 51.96, 42.06, 28.33.

ATR IR 2974, 2954, 1735, 1689, 1568, 1506, 1438, 1407, 1390, 1366, 1355, 1240, 1204, 1196, 1176, 1157, 1143, 1128, 1109, 1052, 1032, 810.

HRMS C₂₁H₂₇N₃O₅Na ([M+23]⁺) Apskaičiuota: 424,1843. Rasta: 424,1843.

***tert*-butil-3-(4-(2,4-dimetoksifenil)-1H-pirazol-1-il)-3-(2-metoksi-2-oksoetil)azetidin-1-karboksilatas (18)**



2 g (5,34 mmol) junginio **2** ištirpinta absoliučiam dioksane, per tirpalą 20 minučių leistos argono dujos. Tuomet į tirpalą įdėta 3,4 g (16,02 mmol) bevandenio kalio fosfato, 1,177 g (6,4 mmol) 2,4-dimetoksibenzenbororūgšties bei 310 mg (0,267 mmol) tetrakis(trifenilfosfin)paladžio. Mišinys buvo maišomas 100 °C temperatūroje 24 valandas. Po reakcijos mišinys buvo atvėsintas iki kambario temperatūros, praplautas nedideliu kiekiu vandens bei ekstrahuotas etilacetatu 3×20 ml. Organinis sluoksnis buvo išdžiovintas bevandeniu natrio sulfatu, nufiltuotas ir nugarintas rotaciniu išgarintuvu. Gauta masė buvo išgryninta kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:acetonas 1:4. Išeiga 64%.

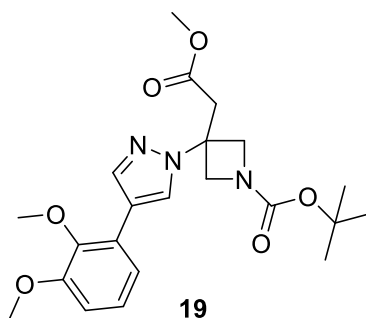
¹H NMR (700 MHz, CDCl₃) δ 7.97 (s, 1H, CH), 7.85 (s, 1H, CH), 7.40 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H, CH), 6.60 – 6.43 (m, 2H), 4.49 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H, CH₂), 4.31 (d, *J* = 9.5 Hz, 2H, CH₂), 3.88 (s, 3H, CH₃), 3.83 (s, 3H, CH₃), 3.62 (s, 3H, CH₃), 3.24 (s, 2H, CH₂), 1.45 (s, 9H, 3CH₃).

¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃) δ 171.17, 169.93, 159.54, 156.89, 156.17, 138.58, 128.08, 126.21, 118.84, 114.01, 104.74, 98.94, 80.24, 60.37, 59.52, 56.90, 55.43, 51.92, 42.24, 28.34.

ATR IR 2973, 2956, 1737, 1698, 1614, 1566, 1502, 1456, 1391, 1365, 1299, 1284, 1239, 1207, 1157, 1126, 1080, 1054, 1031, 955.

HRMS C₂₂H₂₉N₃O₆Na ([M+1]⁺) Apskaičiuota: 432,2129. Rasta: 432,2129.

***tert*-butil-3-(4-(2,3-dimetoksifenil)-1H-pirazol-1-il)-3-(2-metoksi-2-oksoetil)azetidin-1-karboksilatas (19)**



2 g (5,34 mmol) junginio **2** ištirpinta absoliučiam dioksane, per tirpalą 20 minučių leistos argono dujos. Tuomet į tirpalą įdėta 3,4 g (16,02 mmol) bevandenio kalio fosfato, 1,177 g (6,4 mmol) 2,4-dimetoksibenzenbororūgšties bei 310 mg (0,267 mmol) tetrakis(trifenilfosfin)paladžio. Mišinys buvo maišomas 100 °C temperatūroje 24 valandas. Po reakcijos mišinys buvo atvėsintas iki kambario temperatūros, praplautas nedideliu kiekiu vandens bei ekstrahuotas etilacetatu 3×20 ml. Organinis sluoksnis buvo išdžiovintas bevandeniu natrio sulfatu, nufiltuotas ir nugarintas rotaciniu išgarintuvu. Gauta masė buvo išgryninta kolonėlinės chromatografijos būdu. Sorbentas silikagelis, eliuentas heksanas:acetonas 1:4. Išeiga 28%.

¹H NMR (700 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (s, 1H, CH), 7.92 (s, 1H, CH), 7.09 (dd, *J* = 7.9, 1.5 Hz, 1H, CH), 7.05 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H, CH), 6.81 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H, CH), 4.49 (d, *J* = 9.5 Hz, 2H, CH₂), 4.31 (d, *J* = 9.6 Hz, 2H, CH₂), 3.89 (s, 3H, CH₃), 3.76 (s, 3H, CH₃), 3.62 (s, 3H, CH₃), 3.25 (s, 2H, CH₂), 1.45 (s, 9H, 3CH₃).

¹³C NMR (176 MHz, CDCl₃) δ 171.17, 169.79, 156.13, 153.46, 145.78, 139.10, 126.98, 126.26, 124.37, 119.54, 118.72, 110.53, 80.31, 59.77, 57.02, 55.86, 51.94, 42.19, 28.34.

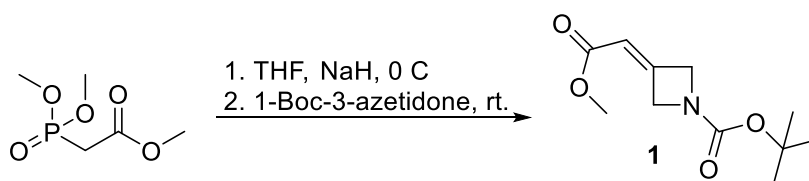
ATR IR 2974, 2936, 1736, 1699, 1579, 1477, 1431, 1391, 1366, 1261, 1239, 1202, 1167, 1145, 1109, 1070, 1048, 1003, 974, 781.

HRMS C₂₂H₂₉N₃O₆Na ([M+23]⁺) Apskaičiuota: 432,2129. Rasta: 432,2126.

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

3.1. Pradinio esterio sintezė

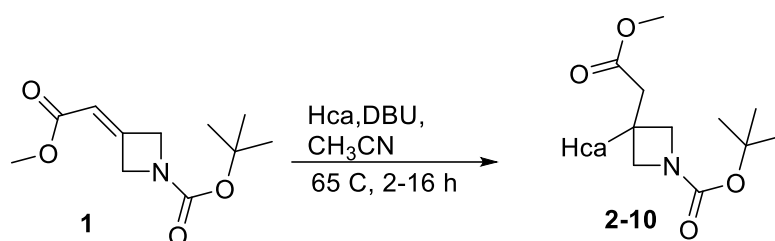
Pradinis esteris **1** buvo susintetintas gerai literatūroje žinomu metodu, Horner'io–Wadsworth'o–Emmons'o reakcijos metu [42]. Trimetilfosfonacetatas buvo ištirpintas sausame tetrahidrofurane, gautas tirpalas atvėsintas iki 0°C. Tuomet mažomis porcijomis buvo sudėtas natrio hidridas. Pastebėta, jog gaminant didesnę kiekį pradinės medžiagos geriau naudoti 95% natrio hidridą, nes 60% natrio hidride esančią mineralinę alyvą yra sudėtinga visiškai pašalinti. Kadangi, į trimetilfosfonacetato tirpalą įdėjus natrio hidrido susidaro suspensija, mašymas šioje reakcijoje yra itin svarbus. Po 20 minučių į reakcijos mišinį buvo supiltas ketono tirpalas tetrahidrofurane, tirpalas ištraukiamas iš šaldymo tirpalo ir paliekamas reaguoti 1 valandą kambario temperatūroje, reakcijos schema pateikta žemiau (žr. pav. 3.1). Po reakcijos buvo vykdoma ekstrakcija, be to buvo pastebėta, jog yra tikslinga sumažinti tetrahidrofurano kiekį tirpale, švelniomis sąlygomis jį nugarinant rotaciniu išgarintuvu. Toliau, mišinys buvo praplautas vandeniu ir vykdoma ekstrakcija etilacetatu. Organinė fazė buvo surenkta, džiovinta bevandeniu natrio sulfatu, nufiltruota bei sukonzentruota iki sausumo. Gauta masė buvo bandoma gryninti kolonėlinės chromatografijos būdu, tačiau šis metodas pasirodė nepraktiškas esant dideliems kiekiams medžiagos, dėl šios priežasties buvo panaudota vakuuminė distiliacija „Kugelrohr“ distiliatoriumi. Pirmiausiai 90°C temperatūroje bei 4×10^{-3} bar slėgyje pašalinta laki frakcija bei tirpiklio likučiai, tuomet pakeistas distiliato surinkimo indas ir temperatūra padidinta iki 130°C, šioje temperatūroje surinkta gryna produkto frakcija. Šio gryninimo metodo privalumas yra tas, kad išvengiama mineralinės alyvos priemaišų likusių nuo natrio hidrido bei santykinai mažomis sanaudomis galima gryninti didelius kiekius mišinio.



3.1 pav. Pradinio esterio **1** sintezė.

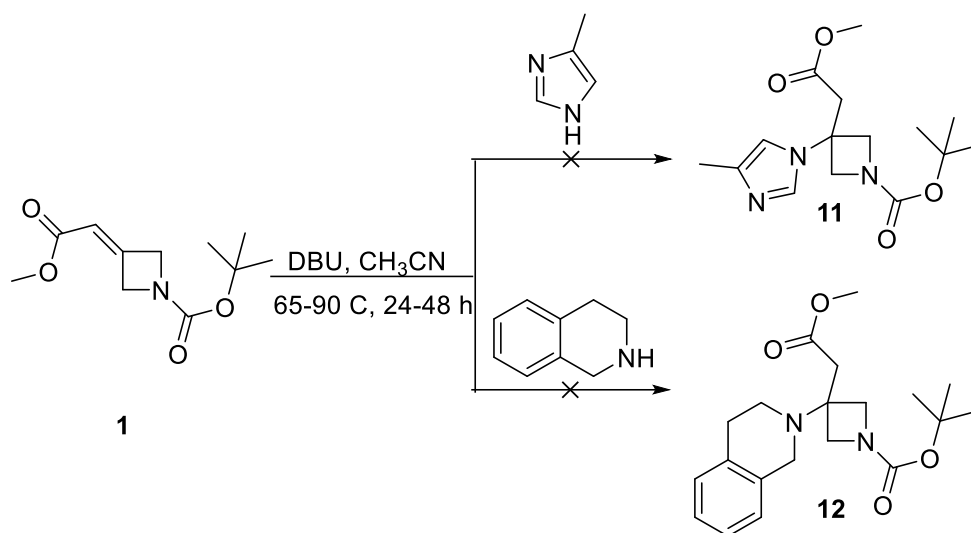
3.2. Ciklinių aminų prijungimas prie dvigubo ryšio

Sotūs bei nesotūs cikliniai aminai (skyrus 2.1; 2.1 lentelė (Nr. 5-15)) buvo prijungti pagal schemą žemiau (žr. pav. 3.2). Visiems šio tipo junginiams gauti naudotos reakcijos sąlygos atitinka modifikuotas sąlygas literatūroje, skirtas gauti junginiui su prijungtu 4-bromopirazolu [43]. Reakcija buvo vykdyta nuo 2 iki 16 valandų 65°C temperatūroje. Reagentai buvo eilės tvarka, buvo paruoštas heterociklinio amino tirpalas (arba suspensija hidrochloridų atveju) acetonitrile, tuomet į reakciją sulašintas atitinkamas kiekis DBU bazės (esant hidrochloridui kiekis dvigubinamas, o dihidrochloridui – trigubinamas) ir galiausiai į gautą tirpalą buvo sudėtas substratas. Reakcija buvo apdorota nugarinant tirpiklį, jeigu buvo naudojamas heterociklinio amino hidrochloridas, tai prieš tai vykdoma ekstrakcija etilacetatu ir vandeniu, surenkant organinę fazę. Junginiai **2-9** buvo gryninami kolonėlinės chromatografijos būdu siekiant $R_f = 0,5$, kaip stacionarią fazę naudojant silikagelį.



3.2 pav. Heterociklinių aminų prijungimo reakcijos schema.

Reakcija sėkmingai vyksta su dauguma heterociklinių aminų. Kaip heterociklinius aminos naudojant pirazolo darinius ir susidarant junginiams **2** ir **3** (išeigos atitinkamai 82% ir 72%), buvo pastebėta, kad reakcija vyksta lėtai, substrato visiškai nelieka tik po daugiau nei 12 valandų. Kita vertus, kaip heterociklinius aminos naudojant alifatinius junginius, susidarant produktams **4-8** (išeigos 43-73%), reakcija vyksta gerokai greičiau, 4 – 6 valandas. Reakcija su 1,2,4-triazolu įvyko, tačiau produktas **10** nebuvo išskirtas grynas, produkto egzistavimą mišinyje pavyko įrodyti mišinio BMR bei HPLC-MS spektrų duomenimis. Taip pat buvo pastebėta, jog ne visi heterocikliniai aminai reaguoja šioje reakcijoje, neįvykusios reakcijos pateiktos žemiau (žr. pav. 3.3).



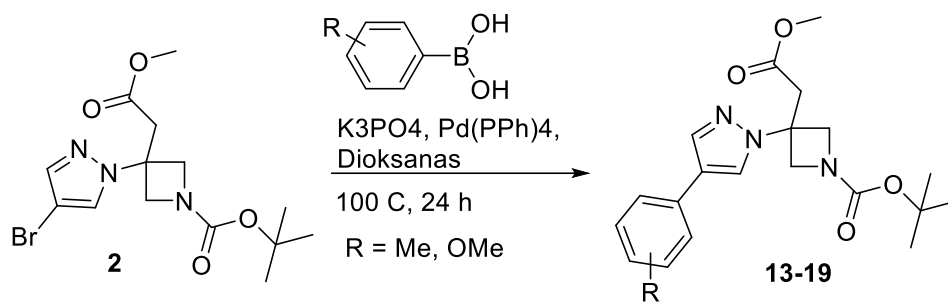
3.3 pav. Neįvykusios reakcijos.

Net keliant temperatūrą bei kardinaliai ilginant reakcijos trukmę produktai **11** ir **12** nebuvo gauti. Plonasluoksnės chromatografijos metodu nebuvo pastebėta jokie naujo produkto, taip pat nebuvo stebimas ir joks pradinio substrato kiekio sumažėjimas. Itin įdomu tai, kad visiškai nereagavo imidazoliai, nors jų struktūriniai izomerai pirazoliai reakcijoje dalyvavo.

3.3. Suzuki – Miyaura sintezė

Prie pradinio substrato sėkmingai prijungus 4-brompirazolą atsirado galimybė vykdyti paladžio katalizuojamas kryžminio prijungimo reakcijas. Atsižvelgiant į turimus reagentus buvo nuspręsta vykdyti Suzuki – Miyaura kryžminio prijungimo reakciją su boro rūgštimis pateiktomis lentelėje 2.1 (Nr. 18-24). Vis dėlto, buvo susidurta su sunkumais šią reakciją vykdant standartinėmis, literatūroje aprašytomis, sąlygomis [44]. Reakcijoje esant etanolio vyko peresterifikavimo reakcija, dėl šios priežasties norimo produkto (metilo esterio) išskyrimas tapo itin sudėtingas, negana to, šarminėmis sąlygomis taip pat vyko esterinės grupės hidrolizė. Gavus šiuos rezultatus buvo nuspręsta, jog reakcijai su substratu reikalingos bevandenės sąlygos bei kitas tirpiklis. Dėl šios priežasties tirpiklis buvo pakeistas į absoliutų dioksaną, kaip bazė buvo pasirinktas trikalo fosfatas, o kaip katalizatorius su ligadu buvo panaudotas tetrakis(trifenilfosfin)paladis(0). Substratas buvo ištirpintas absoliučiam dioksane, kolboje sudarant argono atmosferą. Tuomet į kolbą buvo sudėti kalio fosfatas, atitinkama boro rūgštis bei paladžio katalizatorius. Reakcija vykdyta 24 valandas, po reakcijos mišinys buvo praplautas nedideliu kiekiu vandens ir ekstrahuotas etilacetatu, organinė fazė buvo surinkta ir nugarinta. Junginiai (**13-19**) gryninti kolonėlinės chromatografijos metodu. Gautų produktų išeigos (29-81%) Šių junginių atskyrimas buvo itin sudėtingas, reikėjo pasiekti $R_f=0,2-0,3$ ir naudoti santykinai didelį

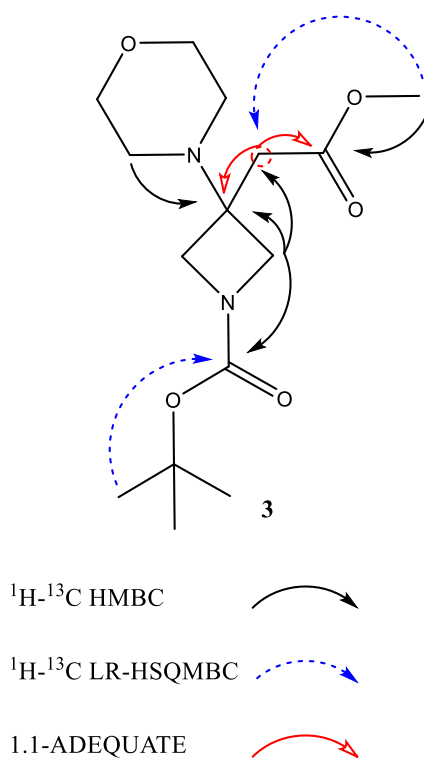
stacionarios fazės kiekį. Ilgai užtruko tinkamo eliuento paieškos, buvo bandoma gryninti etilacetatu:heksanu keičiant santykį nuo 1:2 iki 1:6, tačiau niekaip nepavykdavo išskirti grynos produkto frakcijos, galiausiai buvo rastas tinkamiausias eliuentas, acetonas:heksanas 1:4, su šiuo eliuentu pavyko sėkmingai atskirti visas priemaišas ir gauti gryną produktą bei jį charakterizuoti. Reakcija pateikta žemiau (žr. pav. 3.4).



3.4 pav. Suzuki – Miyaura reakcijos schema.

3.4. Spektriniai tyrimai

Visos junginių struktūros buvo įrodytos spektriniais tyrimais, junginiams buvo atlikti HRMS, ATR-IR bei BMR tyrimai. Svarbu paminėti, jog visiems junginiams buvo atlikti ^{13}C bei ^1H tyrimai, tačiau, kai kurių signalų įrodymui buvo atlikta pilna 2-D BMR spektrinė analizė. Žemiau pateikiama molekulės spektrinė analizė.

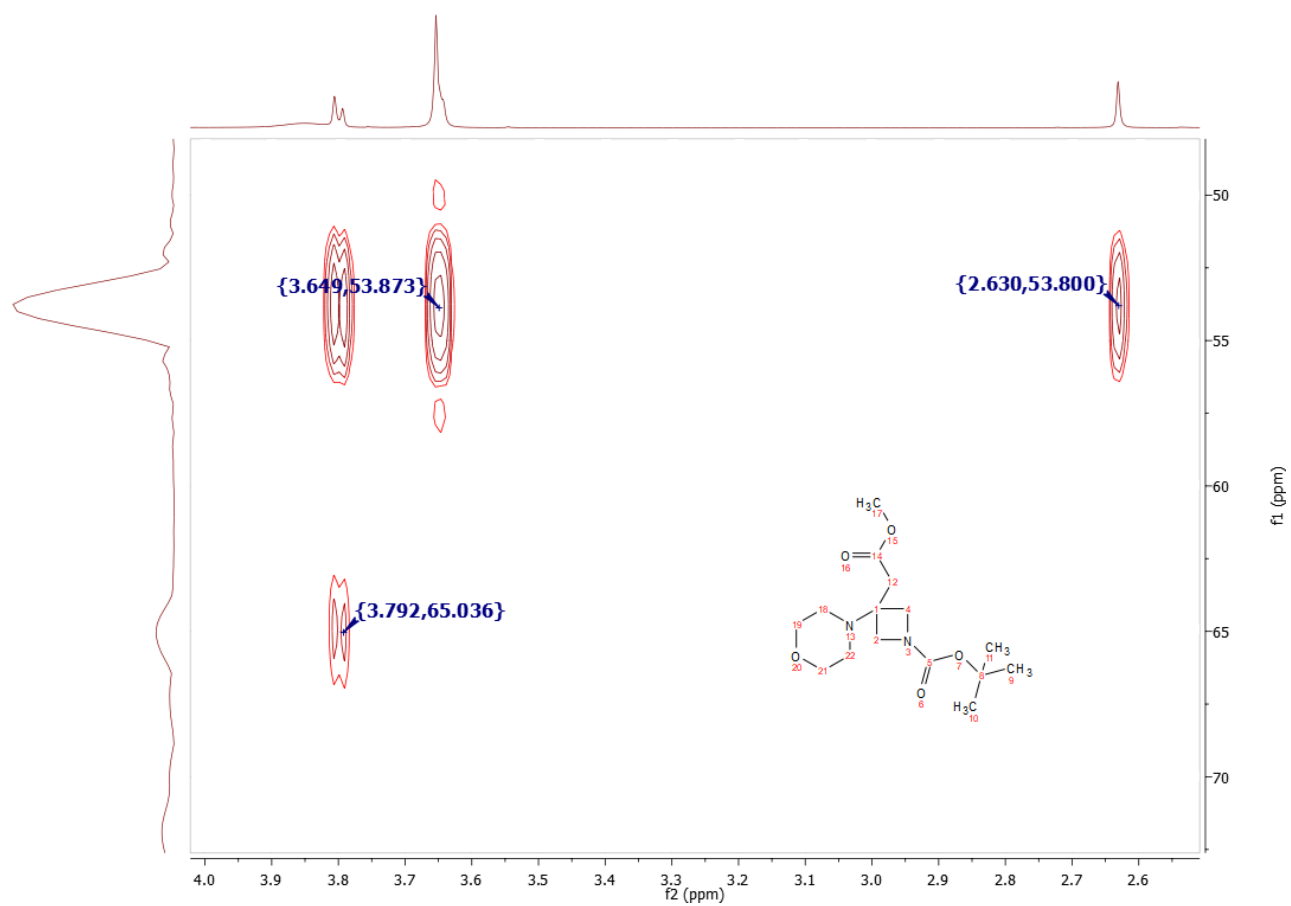


3.5 pav. BMR metodais įrodyta molekulės **3** struktūra.

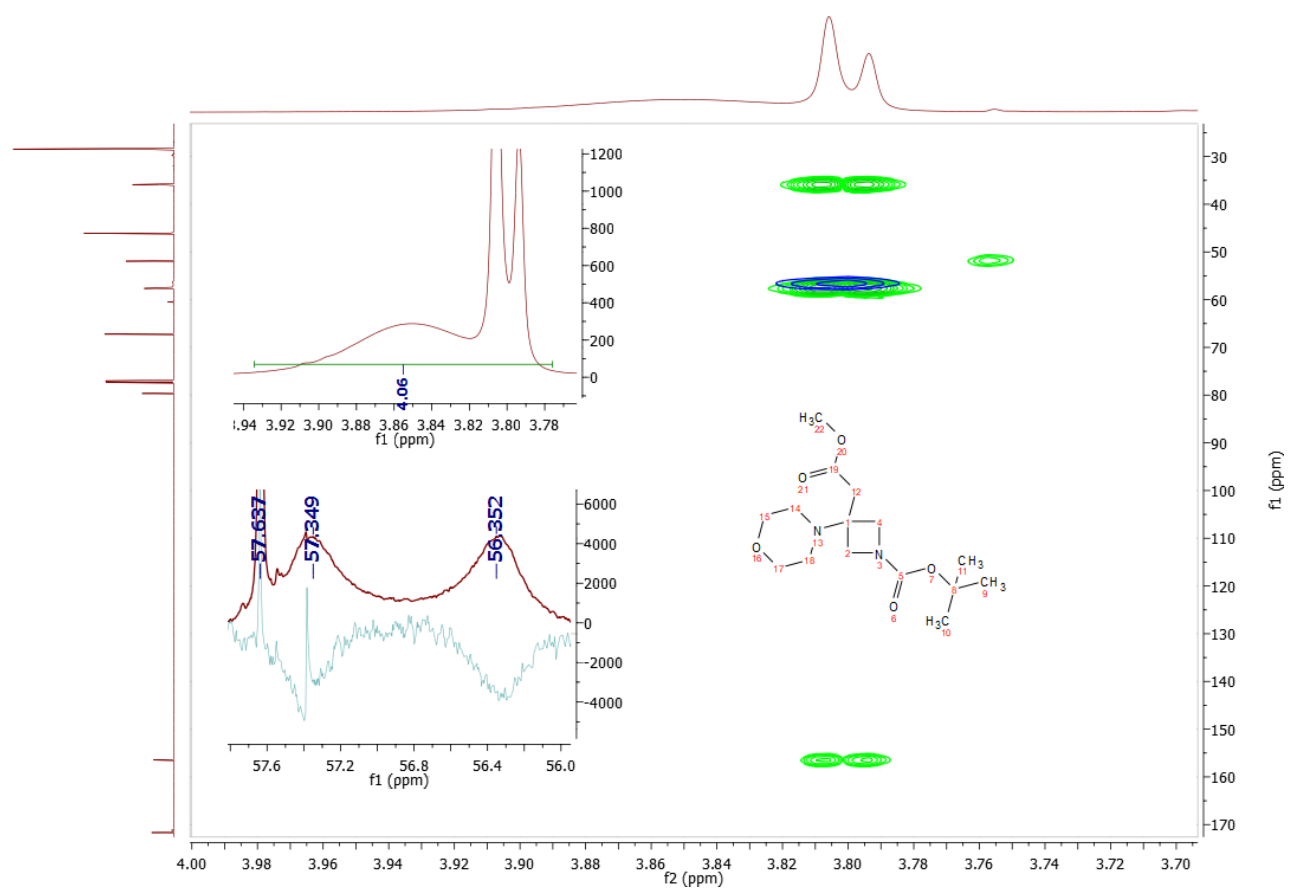
1,1-ADEQUATE eksperimentas padėjo užfiksuoti ^{13}C - ^{13}C sąveiką per vieną ryšį tarp CH_2 anglies bei azetidino fragmento ketvirtinės anglies, taip įrodant ketvirtinės anglies signalą (57,6 ppm). Taip pat užfiksuota ^{13}C - ^{13}C sąveika per vieną ryšį tarp CH_2 anglies ir karbonilinės anglies, tokiu būdu įrodant karbonilinės anglies iš esterinio fragmento signalą (171,6 ppm).

^1H - ^{13}C HMBC eksperimentas padėjo įrodyti, azetidino fragmento C-2 ir C-4 signalus. ^1H spektre stebimas stebimas multipletas (3,78-3,94 ppm). Įdomus efektas matomas ^{13}C spektre, C-2 ir C-2 azetidino fragmento anglių signalai yra mažo intensyvumo, tačiau išplatėję, kas yra nebūdinga ^{13}C spektrams.

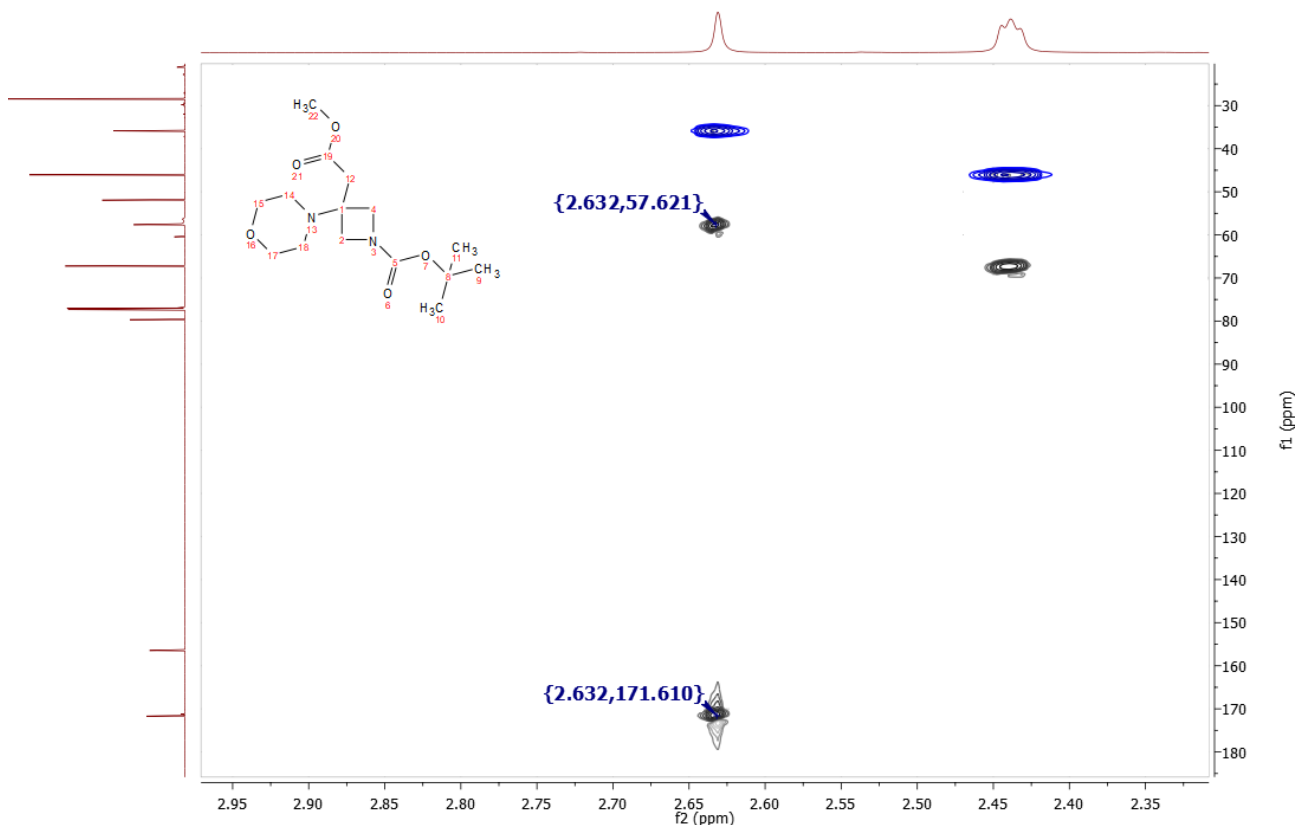
^1H - ^{15}N HMBC eksperimentas patvirtino abu azoto atomus molekulėje.



3.6 pav. Junginio 3 ^1H - ^{15}N HMBC eksperimentas, tirpiklis CDCl_3 .



3.7 pav. Junginio 3 ^1H - ^{13}C HMBC eksperimentas, tirpiklis CDCl_3 .



3.8 pav. Junginio **3** ^1H - ^{13}C HSQC/1.1-ADEQUATE eksperimentas, tirpiklis CDCl_3 .

$\text{C}=\text{O}$, $\text{C}-\text{O}-\text{C}$, $\text{C}=\text{C}$ aromatiniai bei $\text{C}-\text{F}$ svyravimai buvo stebėti ATR IR spektruose, junginių struktūra galutinai buvo patvirtinta HRMS spektrais.

3.5. Molekulių analizė įrankiu SwissADME

Gautų junginių ADME analizė buvo atlikta laisvai prieinamu, Šveicarijos bioinformatikos instituto sukurtu įrankiu SwissADME. Šis įrankis leidžia prognozuoti labai svarbius medicininės chemijos parametrus: fizikochemines savybes, lipofiliškumą, tirpumą vandenyje, molekulės panašumą į vaistą naudojant Lipinskio, Ghose, Veberio, Egano bei Muegge filtrus, o taip pat kai kuriuos farmakokinetinius parametrus. Susintetintų junginių bei jų aktyvių formų (pašalinus Boc apsauginę grupę bei pašalinus esterinę ir Boc apsauginę grupes) struktūrinės formulės buvo kovertuotos į SMILES formatą ir suvestos <http://www.swissadme.ch/> puslapyje. Toliau gauti rezultatai buvo analizuoti taip išrenkant potencialius vaistų kandidatus.

Paprastumo dėlei junginiai su pašalinta Boc grupe yra vadinami NB-*, o su pašalintomis esterine bei Boc grupėmis yra vadinami AR-*, čia * – junginio numeris.

3.1 lentelė Apskaičiuoti pagrindiniai fizikocheminiai molekūlės parametrai

| Junginys | MM | Suktis galinčios jungtys | TPSA | Log P |
|----------|--------|--------------------------------|-------|-------|
| 2 | 374,23 | 7 | 73,66 | 1,81 |
| NB-2 | 274,11 | 4 | 56,15 | 0,79 |
| AR-2 | 260,09 | 3 | 67,15 | -0,07 |
| 3 | 314,38 | 7 | 68,31 | 1,07 |
| NB-3 | 214,26 | 4 | 50,80 | 0,01 |
| AR-3 | 200,23 | 3 | 61,80 | -0,89 |
| 4 | 363,33 | 8 | 73,66 | 2,30 |
| NB-4 | 263,22 | 5 | 56,15 | 1,22 |
| AR-4 | 249,19 | 4 | 67,15 | 0,38 |
| 5 | 298,38 | 7 | 59,08 | 1,65 |
| NB-5 | 198,26 | 4 | 41,57 | 0,60 |
| AR-5 | 184,24 | 3 | 52,57 | -0,23 |
| 6 | 284,35 | 7 | 59,08 | 1,36 |
| NB-6 | 184,24 | 4 | 41,57 | 0,31 |
| AR-6 | 170,21 | 3 | 52,57 | -0,54 |
| 7 | 310,39 | 7 | 59,08 | 1,64 |
| NB-7 | 210,27 | 4 | 41,57 | 0,59 |
| AR-7 | 196,25 | 3 | 52,57 | -0,24 |
| 8 | 340,41 | 7 | 68,31 | 1,44 |
| NB-8 | 240,30 | 4 | 50,80 | 0,45 |
| AR-8 | 226,27 | 3 | 61,80 | -0,43 |
| 9 | 350,41 | 7 | 87,76 | 1,20 |
| NB-9 | 250,30 | 4 | 70,25 | 0,18 |
| AR-9 | 236,27 | 3 | 81,25 | -0,70 |
| 13 | 385,46 | 8 | 73,66 | 2,87 |

3.1 lentelė Apskaičiuoti pagrindiniai fizikocheminiai molekuliniai parametrai (tęsinys)

| | | | | |
|-------|--------|----|-------|------|
| NB-13 | 285,34 | 5 | 56,15 | 1,83 |
| AR-13 | 271,31 | 4 | 67,15 | 1,00 |
| 14 | 385,46 | 8 | 73,66 | 2,89 |
| NB-14 | 285,34 | 5 | 56,15 | 1,86 |
| AR-14 | 271,31 | 4 | 67,15 | 0,99 |
| 15 | 401,46 | 9 | 82,89 | 2,53 |
| NB-15 | 301,34 | 6 | 65,38 | 1,52 |
| AR-15 | 287,31 | 5 | 76,38 | 0,64 |
| 16 | 401,46 | 9 | 82,89 | 2,55 |
| NB-16 | 301,34 | 6 | 65,38 | 1,53 |
| AR-16 | 287,31 | 5 | 76,38 | 0,68 |
| 17 | 401,46 | 9 | 82,89 | 2,54 |
| NB-17 | 301,34 | 6 | 65,38 | 1,53 |
| AR-17 | 287,31 | 5 | 76,38 | 0,64 |
| 18 | 431,48 | 10 | 92,12 | 2,54 |
| NB-18 | 331,37 | 7 | 74,61 | 1,53 |
| AR-18 | 317,34 | 6 | 85,61 | 0,63 |
| 19 | 431,48 | 10 | 92,12 | 2,51 |
| NB-19 | 331,37 | 7 | 74,61 | 1,51 |
| AR-19 | 317,34 | 6 | 85,61 | 0,65 |

3.5.1. Molinė masė

Anot Lipinskio, vaistų kandidatų molinė masė neturėtų viršyti 500 [45]. Žiūrint į lentelėje pateiktus duomenis, visų junginių molekulinė masė atitinka šiuos reikalavimus. Vis dėlto, Brenk'as 2008 metais išleido straipsnį, kuriame teigiama, jog vaistų kandidatų molinė masė neturėtų viršyti 350 [46]. Pagal lentelėje pateiktus duomenis, matome, jog visi junginiai atitinka Lipinskio taisyklę, tačiau potencialių vaistų kandidatų sąrašą galima susiaurinti taikant Brenk'o pateiktus duomenis. Dėl to, ieškant vaisto kandidato, būtų galima netirti **2, 4, 13, 14, 15, 16, 17, 18** bei **19** junginių. Vis dėlto, Brenk'o filtras yra labiau tinkamas suteikti molekulems prioritetą, o ne jas visiškai atmesti.

3.5.2. Jungčių, aplink kurias vyksta rotacija, skaičius

Kitas svarbus faktorius, kuris taip pat yra abibrėžtas Veberio, yra jungčių, aplink kurias vyksta rotacija, skaičius. Anot Veberio, tokių jungčių vaiste kandidate neturėtų būti daugiau negu 10 [47]. Didėjant tokių jungčių skaičiui, mažėja tikimybė molekulei įgauti reikalinga konformaciją ir prisijungti prie taikinio, todėl didelis tokių jungčių skaičius gali turėti tiesioginės neigiamos įtakos molekulės aktyvumui. Iš gautų duomenų galima matyti, jog visos tirtos molekulės atitinka šią taisyklę.

3.5.3. Polinių atomų paviršiaus plotas

Tai yra visų polinių atomų, labiausiai atsižvelgiant į deguonies bei azoto atomus, paviršiaus plotas. Šis dydis yra svarbus medicininėje chemijoje, nes per didelė molekulė negali pereiti organizmo barjerų, o dėl to gali stipriai nukentėti jos aktyvumas. Ieškant vaisto kandidato, polinių atomų paviršiaus ploto reikšmė neturėtų viršyti 140 \AA^2 , tačiau jeigu ieškomas vaistas kandidatas galintis pereiti kraujo – smegenų barjerą, tuomet molekulės polinių atomų paviršiaus plotas neturėtų viršyti 90 \AA^2 . Sprendžiant iš duomenų pateiktų lentelėje ir vertinant tik pagal šį dydį, visų molekulių polinių atomų paviršiaus plotas atitinka optimalų vaistui kandidatui, taip pat visos molekulės išskyrus **18** ir **19**, vertinant tik pagal šį dydį, gali pereiti kraujo – smegenų barjerą.

3.5.4. Lipofiliškumas

Junginių pasiskirtymo koeficiento logaritmas buvo modeliuotas pasitelkus penkis skirtingus bioinformatikos modelius, gautų rezultatų vidurkis pateiktas lentelėje 3.1.

Anot Lipinskio taisyklės, vaistinių molekulių logP reikšmė neturi viršyti 5 [45]. Pateiktoje lentelėje galima aiškiai matyti, jog nei vienas iš nagrinėtų junginių nėra stipriai lipofiliškas ir didžiausia logP reikšmė (junginys **13**) yra 2,87. Šiuolaikiniai modeliai siūlo, jog logP reikšmė turėtų būti <3. Todėl iš gautų duomenų, galima teigti, jog visos tirtos molekulės, atsižvelgiant į lipofiliškumą, turi potencialą būti vaistais kandidatais.

3.5.5. Tirpumas vandenyje

Kitas labai svarbus aspektas vaistinėms molekulėms yra tirpumas vandenyje. Geriausia, kad tyriamoji molekulė būtų arba tirpi arba labai tirpi vandenyje. Geras tirpumas yra svarbus vaistinės medžiagos pasisavinimui, nes jeigu molekulė nėra pakankamai tirpi, tai gali lemti prastą poveikį ar net visišką neaktyvumą. Pritaikius kompiuterinius algoritmus buvo sumodeliuotos tirpumo vandenyje reikšmės tyrimosioms molekulėms. Reikšmės pateikiamos lentelėse 3.2 – 3.4.

3.2 lentelė Sumodeliuotas junginių tirpumas vandenyje

| Junginys | Tirpumas (mg/ml) | Tirpumas (mol/l) | Tirpumo klasė |
|----------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| 2 | $6,79 \times 10^{-1}$ | $1,82 \times 10^{-3}$ | Tirpus |
| 3 | $8,19 \times 10^0$ | $2,61 \times 10^{-2}$ | Tirpus |
| 4 | $5,97 \times 10^{-1}$ | $1,64 \times 10^{-3}$ | Tirpus |
| 5 | $4,20 \times 10^0$ | $1,41 \times 10^{-2}$ | Tirpus |
| 6 | $7,51 \times 10^0$ | $2,64 \times 10^{-2}$ | Tirpus |
| 7 | $6,84 \times 10^0$ | $2,20 \times 10^{-2}$ | Tirpus |
| 8 | $7,46 \times 10^0$ | $2,19 \times 10^{-2}$ | Tirpus |
| 9 | $4,43 \times 10^{-1}$ | $1,26 \times 10^{-3}$ | Tirpus |
| 13 | $6,34 \times 10^{-3}$ | $1,64 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |
| 14 | $6,34 \times 10^{-3}$ | $1,64 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |
| 15 | $1,24 \times 10^{-2}$ | $3,08 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |
| 16 | $1,24 \times 10^{-2}$ | $3,08 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |
| 17 | $1,24 \times 10^{-2}$ | $3,08 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |
| 18 | $1,05 \times 10^{-2}$ | $2,44 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |
| 19 | $1,05 \times 10^{-2}$ | $2,44 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |

3.3 lentelė Sumodeliuotas junginių be Boc grupės tirpumas vandenyje

| Junginys | Tirpumas (mg/ml) | Tirpumas (mol/l) | Tirpumo klasė |
|----------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| NB-2 | $6,68 \times 10^{-1}$ | $2,44 \times 10^{-3}$ | Tirpus |
| NB-3 | $8,05 \times 10^0$ | $3,76 \times 10^{-2}$ | Tirpus |
| NB-4 | $5,88 \times 10^{-1}$ | $2,23 \times 10^{-3}$ | Tirpus |
| NB-5 | $4,12 \times 10^0$ | $2,08 \times 10^{-2}$ | Tirpus |
| NB-6 | $7,35 \times 10^0$ | $3,99 \times 10^{-2}$ | Tirpus |
| NB-7 | $6,73 \times 10^0$ | $3,20 \times 10^{-2}$ | Tirpus |
| NB-8 | $7,36 \times 10^0$ | $3,06 \times 10^{-2}$ | Tirpus |
| NB-9 | $4,36 \times 10^{-1}$ | $1,74 \times 10^{-3}$ | Tirpus |
| NB-13 | $6,23 \times 10^{-3}$ | $2,18 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |
| NB-14 | $6,23 \times 10^{-3}$ | $2,18 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |
| NB-15 | $1,21 \times 10^{-2}$ | $4,03 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |
| NB-16 | $1,21 \times 10^{-2}$ | $4,03 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |
| NB-17 | $1,21 \times 10^{-2}$ | $4,03 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |
| NB-18 | $1,03 \times 10^{-2}$ | $3,11 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |
| NB-19 | $1,03 \times 10^{-2}$ | $3,11 \times 10^{-5}$ | Vidutiniškai tirpus |

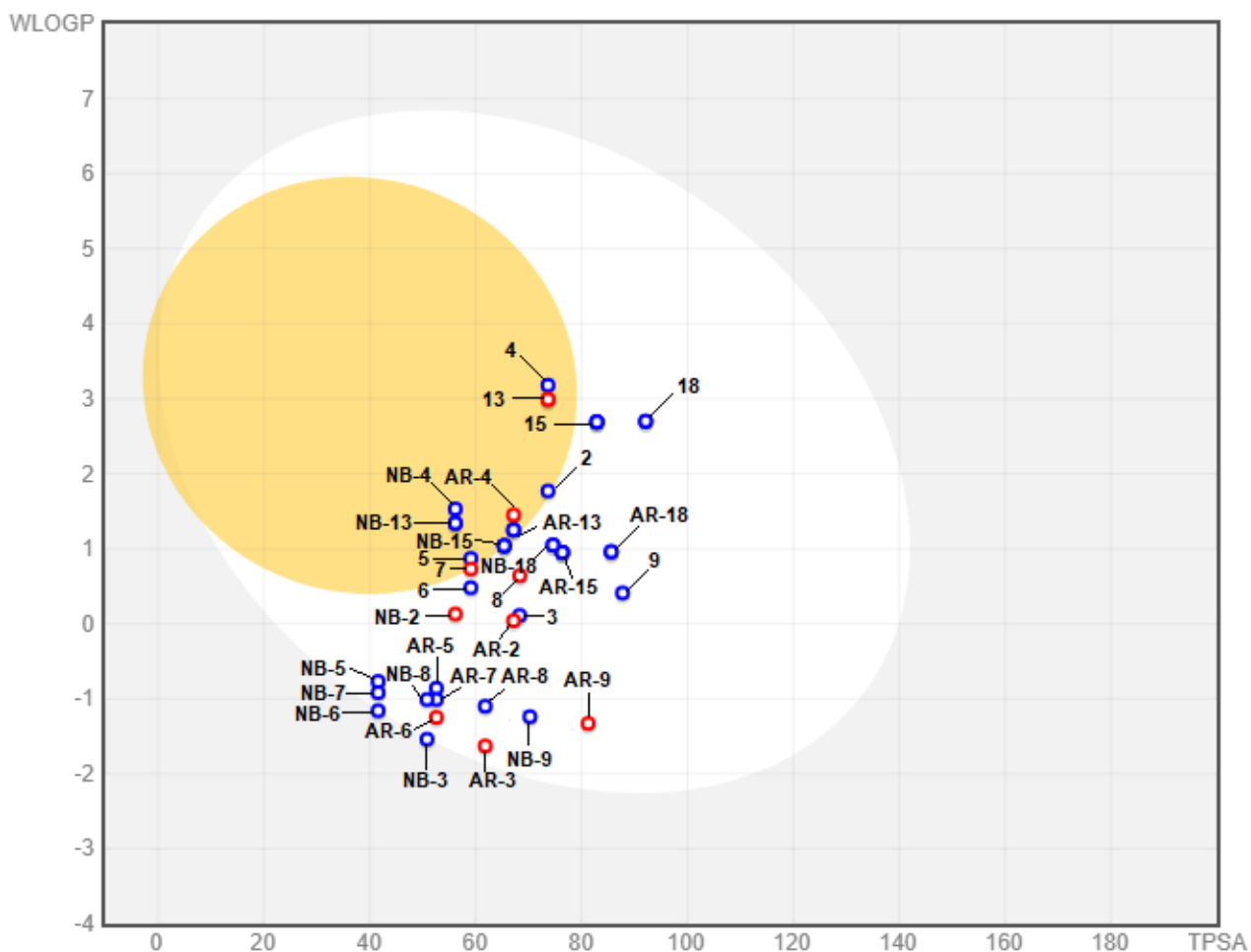
3.4 lentelė Sumodeliuotas aminorūgščių tirpumas vandenyje

| Junginys | Tirpumas (mg/ml) | Tirpumas (mol/l) | Tirpumo klasė |
|----------|-----------------------|-----------------------|---------------|
| AR-2 | $3,17 \times 10^0$ | $1,22 \times 10^{-2}$ | Tirpus |
| AR-3 | $3,82 \times 10^1$ | $1,91 \times 10^{-1}$ | Tirpus |
| AR-4 | $2,79 \times 10^0$ | $1,12 \times 10^{-2}$ | Tirpus |
| AR-5 | $1,95 \times 10^1$ | $1,06 \times 10^{-1}$ | Tirpus |
| AR-6 | $3,48 \times 10^1$ | $2,04 \times 10^{-1}$ | Tirpus |
| AR-7 | $3,19 \times 10^1$ | $1,63 \times 10^{-1}$ | Tirpus |
| AR-8 | $3,48 \times 10^1$ | $1,54 \times 10^{-1}$ | Tirpus |
| AR-9 | $2,07 \times 10^1$ | $8,75 \times 10^{-3}$ | Tirpus |
| AR-13 | $2,95 \times 10^{-2}$ | $1,09 \times 10^{-4}$ | Tirpus |
| AR-14 | $2,95 \times 10^{-2}$ | $1,09 \times 10^{-4}$ | Tirpus |
| AR-15 | $5,76 \times 10^{-2}$ | $2,00 \times 10^{-4}$ | Tirpus |
| AR-16 | $5,76 \times 10^{-2}$ | $2,00 \times 10^{-4}$ | Tirpus |
| AR-17 | $5,76 \times 10^{-2}$ | $2,00 \times 10^{-4}$ | Tirpus |
| AR-18 | $4,89 \times 10^{-2}$ | $1,54 \times 10^{-4}$ | Tirpus |
| AR-19 | $4,89 \times 10^{-2}$ | $1,54 \times 10^{-4}$ | Tirpus |

Kaip matoma iš sumodeliuotų tirpumo vandenyje reikšmių, netirpių ar mažai vandenyje tirpių junginių tarp tiriamųjų nepasitaikė, todėl galima daryti prielaidą, jog visi tiriamieji junginiai pagal savo tirpumą vandenyje yra tinkami kandidatai tolimesniems medicininiams tyrimams.

3.5.6. Virto kiaušinio modelis

Virto kiaušinio modelis buvo sudarytas pagal žinomų vaistinių molekulių savybes [48]. Šis modelis pagal polinių atomų paviršiaus ploto bei WlogP reikšmes leidžia prognozuoti ar atitinkamos struktūros junginys gali būti absorbuojamas virškinimo trakte ir ar gali pereiti kraujo – smegenų barjerą. Balta elipsė yra sritis, į kurią patenkantys junginiai bus absorbuojami virškinamajame trakte, geltona elipsė yra sritis simbolizuojanti junginių gebėjimą įveikti kraujo – smegenų barjerą (žr. 3.9 pav.). Iš diagramos matoma, jog junginiai **2, 4, 5, 7, 13, NB-4, NB-13, NB-15, AR-4** bei **AR-13** turi didelę tikimybę pereiti kraujo – smegenų barjerą, dėl ko, gali būti tinkami kaip kandidatai į centrinę nervų sistemą veikiančius vaistus. Visi likę junginiai būtų absorbuojami žarnyne, tačiau kraujo – smegenų barjero neįveiktų.



3.9 pav. Virto kiaušinio modelis.

3.5.7. Panašumo į vaistines molekules filtrai

Toliau ieškant vaistų kandidatų yra svarbu naudoti atrankinius filtrus, dažniausiai naudojamas iš jų yra Lipinskio, tačiau remdamiesi Lipinskio filtru mokslininkai sukūrė papildomų taisyklių. Taip atsirado Ghose, Veberio, Egano bei Muegge filtrai. Nors jie nėra 100% tikslūs, tačiau naudojant visus šiuos filtrus kiekvienai molekulei atskirai galima tikėtis gerokai susiaurinti vaistų kandidatų paiešką neatliekant brangių ir daug laiko trunkančių tyrimų.

Lipinskio filtrą sudaro keturios taisyklės:

- Nedaugiau nei 5 vandenilinių jungčių donorai,
- Nedaugiau nei 10 vandenilinių jungčių akceptorai,
- Molekulinė masė neviršija 500 daltonų,
- Oktanolio-vandens pasiskirstymo koeficientas $\log P < 5$.

3.5 lentelė Panašumo į vaistines molekules filtrai gautiems junginiams

| Junginys | Lipinskio filtras | Ghose filtras | Veberio filtras | Egano filtras | Muegge filtras |
|----------|-------------------|---------------|-----------------|---------------|----------------|
| 2 | + | + | + | + | + |
| 3 | + | + | + | + | + |
| 4 | + | + | + | + | + |
| 5 | + | + | + | + | + |
| 6 | + | + | + | + | + |
| 7 | + | + | + | + | + |
| 8 | + | + | + | + | + |
| 9 | + | + | + | + | + |
| 13 | + | + | + | + | + |
| 14 | + | + | + | + | + |
| 15 | + | + | + | + | + |
| 16 | + | + | + | + | + |
| 17 | + | + | + | + | + |
| 18 | + | + | + | + | + |
| 19 | + | + | + | + | + |

3.6 lentelė Panašumo į vaistines molekules filtrai junginiams be Boc grupės

| Junginys | Lipinskio filtras | Ghose filtras | Veberio filtras | Egano filtras | Muegge filtras |
|----------|-------------------|---------------|-----------------|---------------|----------------|
| NB-2 | + | + | + | + | + |
| NB-3 | + | - | + | + | + |
| NB-4 | + | + | + | + | + |
| NB-5 | + | - | + | + | + |
| NB-6 | + | - | + | + | + |
| NB-7 | + | - | + | + | + |
| NB-8 | + | - | + | + | + |
| NB-9 | + | - | + | + | + |
| NB-13 | + | + | + | + | + |

3.6 lentelė Panašumo į vaistines molekules filtrai junginiams be Boc grupės (tęsinys)

| | | | | | |
|-------|---|---|---|---|---|
| NB-14 | + | + | + | + | + |
| NB-15 | + | + | + | + | + |
| NB-16 | + | + | + | + | + |
| NB-17 | + | + | + | + | + |
| NB-18 | + | + | + | + | + |
| NB-19 | + | + | + | + | + |

3.7 lentelė Panašumo į vaistines molekules filtrai aminorūgštims

| Junginys | Lipinskio filtras | Ghose filtras | Veberio filtras | Egano filtras | Muegge filtras |
|----------|-------------------|---------------|-----------------|---------------|----------------|
| AR-2 | + | + | + | + | + |
| AR-3 | + | - | + | + | + |
| AR-4 | + | + | + | + | + |
| AR-5 | + | - | + | + | + |
| AR-6 | + | - | + | + | + |
| AR-7 | + | - | + | + | + |
| AR-8 | + | - | + | + | + |
| AR-9 | + | - | + | + | + |
| AR-13 | + | + | + | + | + |
| AR-14 | + | + | + | + | + |
| AR-15 | + | + | + | + | + |
| AR-16 | + | + | + | + | + |
| AR-17 | + | + | + | + | + |
| AR-18 | + | + | + | + | + |
| AR-19 | + | + | + | + | + |

Lipinskio filtras yra parengtas pagal Lipinskio taisyklę, kuri teigia: $MM \leq 500$, $\log P \leq 5$, N ar O skaičius ≤ 10 , NH ar OH skaičius ≤ 5 [45].

Kiti filtrai yra modifikuotos Lipinskio filtro versijos, jie padeda dar labiau susiaurinti vaistinių molekulių paiešką.

Ghose filtras susiaurina molekulinės masės diapozoną, naudoja kitokią algoritimą lipofiliškumui $WlogP$ skaičiuoti, bei įveda atomų skaičiaus diapozoną: $160 \leq MM \leq 480$, $-0,4 \leq WlogP \leq 5,6$, $20 \leq$ atomų skaičius ≤ 70 [49].

Veberio filtras įtraukia polinių atomų paviršiaus plotą bei jungčių, aplink kurias vyksta rotacija, skaičių: jungtys ≤ 10 , paviršiaus plotas $\leq 140 \text{ \AA}^2$ [47].

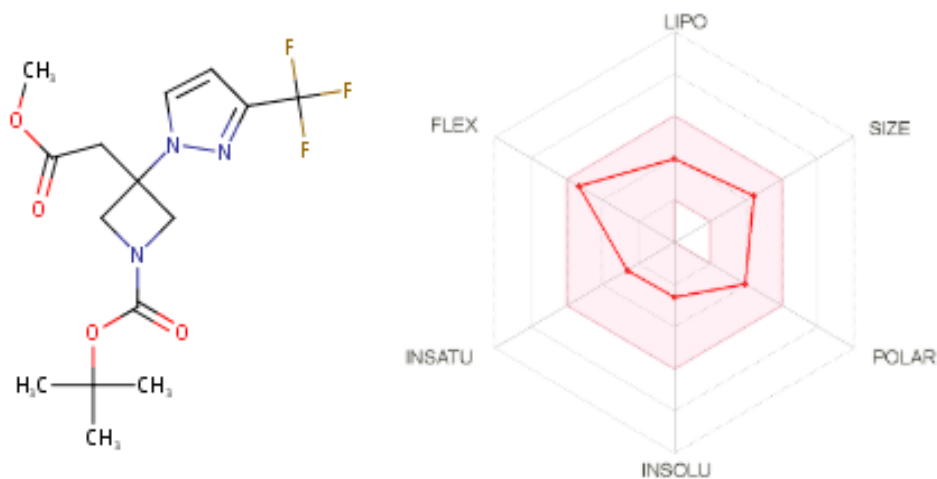
Egano modelis dar labiau sukonkretina polinių atomų paviršiaus plotą: paviršiaus plotas $\leq 131,6 \text{ \AA}^2$ [50].

Muegge papildomai įtraukia tokius parametrus kaip: ciklų skaičius ≤ 7 , anglies atomų skaičius > 4 , heteroatomų skaičius > 1 , kiti parametrai analogiškai Lipinskiego filtrui [51].

Žiūrint į pateiktas lenteles, pažeidimai Ghose filtre atsiranda dėl kai kurių molekulių per didelio lipofiliškumo skaičiuojant pagal WlogP modelį, visgi imant vidurkines penkių modelių logP reikšmes lipofiliškumas atitinka keliamus reikalavimus. Taigi iš gautų duomenų galima teigti, jog susintetintos molekulės yra artimos vaistų molekulėms ir turi potencialo tapti vaistais.

3.5.8. Optimaliausių molekulių atranka

SwissADME įrankis leidžia matyti bioprieinamumo diagramą, kurioje matoma vaistui optimali zona. Diagrama yra sudaryta pagal šešis deskriptorius: lipofiliškumą, molekulinę masę, polinių atomų paviršiaus plotą, tirpumą vandenyje, lankstumą, bei sotumo laipsnį. Šios diagramos suteikia galimybę pamatyti molekulių panašumą į vaistus ir taip pasirinkti geriausius variantus tyrimams. Žemiau galima matyti molekulę, kuri atitiktų optimalią ieškant vaisto kandidato (žr. 3.10 pav.).



3.10 pav. Optimalios molekulės 4 pavyzdys.

Išvados

Šio projekto metu buvo susintetinta 19 suvaržytos stuktūros GABA analogų. Buvo atliktas sintezės optimizavimas bei surasti optimalūs junginių gryninimo metodai. Visų susintetintų junginių struktūros buvo įrodytos spektrinės analizės metodais. Vienas iš svarbiausių šio darbo aspektų, ADME analizė, buvo atlikta ne tik susintetintoms molekulėms, bet ir jų formoms be apsauginių grupių.

Įvertinus gautus rezultatus buvo prieita kelių esminių išvadų:

- Reaguojant esteriu **1** su heterocikliniais aminais buvo sėkmingai gauti 3-pakeisti azetidini-1-karboksilatai **2-10**.
- Suzuki-Miyaura sintezės metu, kaip pradinę medžiagą naudojant junginį **2**, gauti tert-butyl-3-(2-metoksi-2-oksoetil)-3-pakeisti-1H-pirazol-1-il)azetidini-1-karboksilatai **13-19**.
- Visi gauti produktai buvo išgryninti naudojant kolonėlinę chromatografiją, kiekvienai molekulei išgryninti, buvo rastas tinkamas eliuentas.
- ADME tyrimai patvirtino hipotezę, jog susintetintos molekulės turėtų atitikti standartą tolimesniems medicininiams tyrimams.
- Spektrometrijos metodais pagrįstos visų gautų junginių struktūros.

Taigi, galima teigti, jog šio darbo tikslas bei uždaviniai yra įgyvendinti, negana to, būtų tikslinga šias, bei panašias molekules tyrinėti toliau.

Literatūros sąrašas

1. GAJCY, K., LOCHYNSKI, S. and LIBROWSKI, T., A Role of GABA Analogues in the Treatment of Neurological Diseases. *Current Medicinal Chemistry*, 2010, 17(22), 2338-2347. DOI 10.2174/092986710791698549. Bentham Science Publishers Ltd.
2. CHEBIB, M. and GRAHAM, J. A. R., GABA-Activated Ligand Gated Ion Channels: Medicinal Chemistry and Molecular Biology. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2000, 43(8), 1427-1447. DOI 10.1021/jm9904349. American Chemical Society (ACS)
3. GEE, N. S., BROWN, J. P., DISSANAYAKE, V. U. K., OFFORD, J., THURLOW, R. and WOODRUFF, G. N., The Novel Anticonvulsant Drug, Gabapentin (Neurontin), Binds to the Subunit of a Calcium Channel. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271(10), 5768-5776. DOI 10.1074/jbc.271.10.5768. American Society for Biochemistry & Molecular Biology (ASBMB)
4. BROWNING, K. N. and TRAVAGLI, R. A., 2001, Mechanism of action of baclofen in rat dorsal motor nucleus of the vagus. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2001, 280(6), G1106-G1113. DOI 10.1152/ajpgi.2001.280.6.g1106. American Physiological Society
5. TAYLOR, C. P., ANGELOTTI, T. and FAUMAN, E., Pharmacology and mechanism of action of pregabalin: The calcium channel $\alpha 2-\delta$ (alpha2-delta) subunit as a target for antiepileptic drug discovery. *Epilepsy Research*, 2007, 73(2), 137-150. DOI 10.1016/j.eplepsyres.2006.09.008. Elsevier BV
6. SHELP, B. J., BOWN, A. W. and FAURE, D., Extracellular γ -Aminobutyrate Mediates Communication between Plants and Other Organisms. *PLANT PHYSIOLOGY*, 2006, 142(4), 1350-1352. DOI 10.1104/pp.106.088955. American Society of Plant Biologists (ASPB)
7. TRABOCCHI, A., GUARNA, F. and GUARNA, A., γ - and δ -Amino Acids: Synthetic Strategies and Relevant Applications. *Current Organic Chemistry*, 2005, 9(12), 1127-1153. DOI 10.2174/1385272054553631. Bentham Science Publishers Ltd.
8. RADICS, G., PIRES, R., KOKSCH, B., EL-KOUSY, S. M. and BURGER, K., New building blocks for peptide and depsipeptide synthesis: hexafluoroacetone protected l-homoisoserine and d,l-homoisocysteine derivatives. *Tetrahedron Letters*, 2003, 44(5), 1059-1062. DOI 10.1016/s0040-4039(02)02712-0. Elsevier BV
9. ALAM, S., LAUGHTON, D. L., WALDING, A. and WOLSTENHOLME, A. J., Human peripheral blood mononuclear cells express GABAA receptor subunits. *Molecular Immunology*, 2006, 43(9), 1432-1442. DOI 10.1016/j.molimm.2005.07.025. Elsevier BV

10. REYES-GARCÍA, M. G., HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ, F., HERNÁNDEZ-TÉLLEZ, B. and GARCÍA-TAMAYO, F., GABA (A) receptor subunits RNA expression in mice peritoneal macrophages modulate their IL-6/IL-12 production. *Journal of Neuroimmunology*, 2007, 188(1-2), p. 64-68. DOI 10.1016/j.jneuroim.2007.05.013. Elsevier BV
11. FROESTL, W., BETTLER, B., BITTIGER, H., HEID, J., KAUPMANN, K., MICKEL, S. J. and STRUB, D., Ligands for expression cloning and isolation of GABAB receptors. *Il Farmaco*, 2003, 58(3), 173-183. DOI 10.1016/s0014-827x(03)00018-1. Elsevier BV
12. BIRD, S. J., KROGSGAARD-LARSEN P., SCHEEL-KRUGER J., KOFOD H., GABA-Neurotransmitters: Pharmacochemical, Biochemical and Pharmacological Aspects. *The Quarterly Review of Biology*, 1980, 55(1), 99-99. DOI 10.1086/411700. University of Chicago Press
13. BRYANS, J. S. and WUSTROW, D. J., 3-Substituted GABA analogs with central nervous system activity: A review. *Medicinal Research Reviews*, 1999, 19(2), 149-177. DOI 10.1002/(sici)1098-1128(199903)19:2<149::aid-med3>3.0.co;2-b. Wiley
14. HORNER L., BIANCA A. and POHL, R. B, Pregabalin: a new anxiolytic. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 2003, 12(4), 663-672. DOI 10.1517/13543784.12.4.663. Informa Healthcare
15. LIPPERT, B., JUNG, M. J., METCALF, B. W., BÖHLEN, P. and SCHECHTER, P. J., γ -VINYL GABA (4-amino-hex-5-enoic acid), A NEW SELECTIVE IRREVERSIBLE INHIBITOR OF GABA-T: EFFECTS ON BRAIN GABA METABOLISM IN MICE. *Journal of Neurochemistry*, 1977, 29(5), 797-802. DOI 10.1111/j.1471-4159.1977.tb10721.x. Wiley
16. ENGELBORGHES, S., PICKUT, B. A., D'HOOGHE, R., WIECHERT, P., HAEGELE, K. and DE DEYN, P. P., Behavioral effects of vigabatrin correlated with whole brain gamma-aminobutyric acid metabolism in audiogenic sensitive rats. *Arzneimittel-Forschung*, 1998, 48(713), 16.
17. RECEVEUR, J. M., BRYANS, J. S., FIELD, M. J., SINGH, L. and HORWELL, D. C., Synthesis and biological evaluation of conformationally restricted gabapentin analogues. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 1999, 9(16), 2329-2334. DOI 10.1016/s0960-894x(99)00383-2. Elsevier BV
18. Northwestern University, Warner-Lambert Co LLC. GABA and L-glutamic acid analogs for antiseizure treatment. Inventors: SILVERMAN, R. B., ANDRIUSZKIEWICZ, R., YUEN, P. W., SOBIERAY, D. M., FRANKLIN, L. C. and SCHWINDT, M. A., US patent 6525096B1, 2002 03 19.

19. PFIZER INC, Gamma amino butyric and acid analogs. US patent 6627771B1. 2003 09 30.
20. Warner-Lambert Co LLC. USE OF GABA-ANALOGUES FOR TREATING INSOMNIA. Inventors: MAGNUS, L. and SEGAL, C. A., US patent 6306910B1, 2001 10 23.
21. Warner-Lambert Co LLC. 3-heteroarylalkyl substituted GABA analogs. Inventors: YUEN, P. W., US patent 6833385B2. 2004 12 21.
22. DUKE, R. K., CHEBIB, M., HIBBS, D. E., MEWETT, K. N. and JOHNSTON, G. A. R., Synthesis and resolution of 2-methyl analogues of GABA. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, 15(11), 1745-1751. DOI 10.1016/j.tetasy.2004.04.002. Elsevier BV
23. CAMPS, P., MUÑOZ-TORRERO, D. and SÁNCHEZ, L., Stereoselective synthesis of both enantiomers of N-Boc- α -aryl- γ -aminobutyric acids. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, 15(2), 311-321. DOI 10.1016/j.tetasy.2003.10.035. Elsevier BV
24. GOTOH, H., ISHIKAWA, H. and HAYASHI, Y., Diphenylprolinol Silyl Ether as Catalyst of an Asymmetric, Catalytic, and Direct Michael Reaction of Nitroalkanes with α,β -Unsaturated Aldehydes. *Organic Letters*, 2007, 9(25), 5307-5309. DOI 10.1021/ol702545z. American Chemical Society (ACS)
25. OK, T., JEON, A., LEE, J., LIM, J. H., HONG, C. S. and LEE, H. S., Enantiomerically Pure Synthesis of β -Substituted γ -Butyrolactones: A Key Intermediate to Concise Synthesis of Pregabalin. *The Journal of Organic Chemistry*, 2007, 72(19), 7390-7393. DOI 10.1021/jo0709605. American Chemical Society (ACS)
26. CAGNOLI, R., GHELFI, F., PAGNONI, U. M., PARSONS, A. F. and SCHENETTI, L., Hydro-de-halogenation and consecutive deprotection of chlorinated N-amido-pyrrolidin-2-ones with Raney-Ni: an effective approach to gabapentin. *Tetrahedron*, 2003, 59(50), 9951-9960. DOI 10.1016/j.tet.2003.10.046. Elsevier BV
27. ALLAN, R. D., BATES, M. C., DREW, C. A., DUKE, R. K., HAMBLEY, T. W., JOHNSTON, G. A. R., MEWETT, K. N. and SPENCE, I., A new synthesis resolution and in vitro activities of (R)- and (S)- β -Phenyl-Gaba. *Tetrahedron*, 1990, 46(7), 2511-2524. DOI 10.1016/s0040-4020(01)82032-9. Elsevier BV
28. HELMCHEN, G., MEYER, O. and BECHT, J. M., Enantioselective Synthesis of (-)-(R)-Baclofen and Analogues via Rhodium-Catalysed Conjugate Addition of Boronic Acids. *Synlett*, 2003, 10, 1539-1541. DOI 10.1055/s-2003-40847. Georg Thieme Verlag KG
29. LOUKAS, V., NOULA, C. and KOKOTOS, G., Efficient protocols for the synthesis of enantiopure γ -amino acids with proteinogenic side chains. *Journal of Peptide Science*, 2003, 9(5), 312-319. DOI 10.1002/psc.458. Wiley

30. DELERIS, G., DUNOGUES, J. and GADRAS, A., Direct regiospecific allylic amination via silicon induced pericyclic reactions. *Tetrahedron*, 1988, 44(13), 4243-4258. DOI 10.1016/s0040-4020(01)86670-9. Elsevier BV
31. CASARA, P., Vigabatrin synthesis by thermal rearrangements. *Tetrahedron Letters*, 1994, 35(19), 3049-3050. DOI 10.1016/s0040-4039(00)76824-9. Elsevier BV
32. BELLIOTTI, T. R., CAPIRIS, T., EKHATO, I. V., KINSORA, J. J., FIELD, M. J., HEFFNER, T. G., MELTZER, L. T., SCHWARZ, J. B., TAYLOR, C. P., THORPE, A. J., VARTANIAN, M. G., WISE, L. D., ZHI-SU, T., WEBER, M. L. and WUSTROW, D. J., Structure–Activity Relationships of Pregabalin and Analogues That Target the $\alpha 2\text{-}\delta$ Protein. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2005, 48(7), 2294-2307. DOI 10.1021/jm049762l. American Chemical Society (ACS)
33. HANESSIAN, S. and SCHAUM, R., 1,3-Asymmetric induction in enolate alkylation reactions of N-protected γ -amino acid derivatives. *Tetrahedron Letters*, 1997, 38(2), 163-166. DOI 10.1016/s0040-4039(96)02263-0. Elsevier BV
34. PIHKO, P. M. and KOSKINEN, A. M. P., Synthesis of the C26–C32Oxazole Fragment of Calyculin C: A Test Case for Oxazole Syntheses. *The Journal of Organic Chemistry*, 1998, 63(1), 92-98. DOI 10.1021/jo971167m. American Chemical Society (ACS)
35. DRYANSKA, V., PASHKULEVA, I. and ANGELOV, V., A convenient synthesis of threo-4-amino-3,4-diphenylbutanoic acid and its derivatives. *Journal of Chemical Research*, 2003, 2, 89-90. DOI 10.3184/030823403103173066. Science Reviews 2000 LTD
36. BENTLEY, J. M., WADSWORTH, H. J. and WILLIS, C. L., Enantioselective syntheses of (S)- and (R)-3-hydroxypyrrolidin-2-ones via lactate dehydrogenase catalysed reductions of 4-benzyloxycarbonylamino-2-oxobutanoic acid. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 1995, 2, 231. DOI 10.1039/c39950000231. Royal Society of Chemistry (RSC)
37. LOHRAY, B. B., SEKAR REDDY, A. and BHUSHAN, V., An efficient synthesis of (3R)-4-amino-3-hydroxy butyric acid (GABOB) via cyclic sulfite methodology. *Tetrahedron: Asymmetry*, 1996, 7(8), 2411-2416. DOI 10.1016/0957-4166(96)00299-6. Elsevier BV
38. AUBÉ, J., WANG, Y., GHOSH, S. and LANGHANS, K. L., Oxaziridine-Mediated Ring Expansions of Substituted Cyclobutanones: Synthesis of (-)- γ -Amino- β -Hydroxybutyric Acid (GABOB). *Synthetic Communications*, 1991, 21(5), 693-701. DOI 10.1080/00397919108020838. Informa UK Limited
39. MOHAPATRA, D. K., A Short Stereoselective Synthesis of a Cyclopropyl Analog of γ -Aminobutyric acid (GABA). *Synthetic Communications*, 1999, 29(23), 4261-4268. DOI 10.1080/00397919908085899. Informa UK Limited

40. ALLAN, R. D., CURTIS, D. R., HEADLEY, P. M., JOHNSTON, G. A. R., KENNEDY, S. M. E., LODGE, D. and TWITCHIN, B., Cyclobutane analogs of GABA. *Neurochemical Research*, 1980, 5(4), 393-400. DOI 10.1007/bf00964228. Springer Nature
41. TLC Stains <http://umich.edu/~mssgroup/docs/TLCStains.pdf>
42. CHALYK, B. A., BUTKO, M. V., YANSHYNA, O. O., GAVRILENKO, K. S., DRUZHENKO, T. V. and MYKHAILIUK, P. K., Synthesis of Spirocyclic Pyrrolidines: Advanced Building Blocks for Drug Discovery. *Chemistry - A European Journal*, 2017, 23(66), 16782-16786. DOI 10.1002/chem.201702362. Wiley
43. ARRAY BIOPHARMA INC., Preparation of imidazopyrimidine derivatives for use as JAK kinase inhibitors. WO patent 2013055645. 2013 04 13.
44. PAETZOLD, E. and OEHME, G., Efficient two-phase Suzuki reaction catalyzed by palladium complexes with water-soluble phosphine ligands and detergents as phase transfer reagents. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 2000, 152(1-2), 69-76. DOI 10.1016/s1381-1169(99)00286-1. Elsevier BV
45. LIPINSKI, C. A., LOMBARDO, F., DOMINY, B. W. and FEENEY, P. J., Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001, 46(1-3), 3-26. DOI 10.1016/s0169-409x(00)00129-0. Elsevier BV
46. BRENK, R., SCHIPANI, A., JAMES, D., KRASOWSKI, A., GILBERT, I. H., FREARSON, J. and WYATT, P. G., Lessons Learnt from Assembling Screening Libraries for Drug Discovery for Neglected Diseases. *ChemMedChem*, 2008, 3(3), 435-444. DOI 10.1002/cmdc.200700139. Wiley
47. VEBER, D. F., JOHNSON, S. R., CHENG, H. Y., SMITH, B. R., WARD, K. W. and KOPPLE, K. D., 2002, Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2002, 45(12), 2615-2623. DOI 10.1021/jm020017n. American Chemical Society (ACS)
48. DAINA, A. and ZOETE, V., A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *ChemMedChem*, 2016, 11(11), 1117-1121. DOI 10.1002/cmdc.201600182. Wiley
49. GHOSE, A. K., VISWANADHAN, V. N. and WENDOLOSKI, J. J., A Knowledge-Based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases. *Journal of Combinatorial Chemistry*, 1999, 1(1), 55-68. DOI 10.1021/cc9800071. American Chemical Society (ACS)

50. EGAN, W. J., MERZ, K. M. and BALDWIN, J. J., Prediction of Drug Absorption Using Multivariate Statistics. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2000, 43(21), 3867-3877. DOI 10.1021/jm000292e. American Chemical Society (ACS)
51. MUEGGE, I., HEALD, S. L. and BRITTELLI, D., 2001, Simple Selection Criteria for Drug-like Chemical Matter. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2001. Vol. 44, no. 12, p. 1841-1846. DOI 10.1021/jm015507e. American Chemical Society (ACS)