



(12) Ausschließungspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 257 391 A5

4(51) A 61 K 31/365
A 61 K 37/64

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) AP A 61 K / 293 529 5
(31) 764168
858324(22) 08.08.86
(32) 09.08.85
30.04.86(44) 15.06.88
(33) US

(71) siehe (73)

(72) Bindra, Jasjit S.; Kleinmann, Edward F.; Rosati, Robert L., US

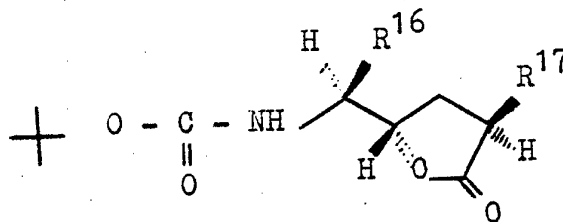
(73) Pfizer Inc., New York, N.Y. 10017, US

(74) Internationales Patentbüro Berlin, Wallstraße 23/24, Berlin, 1020, DD

(54) Stereoselektives Verfahren zur Herstellung von Renin inhibierenden Verbindungen

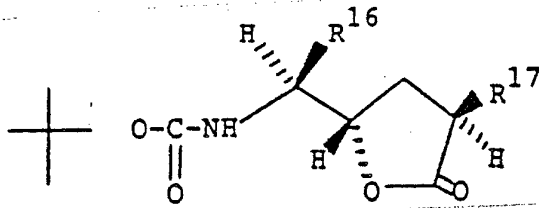
(57) Die Erfindung betrifft ein stereoselektives Verfahren zur Herstellung Renin inhibierender Verbindungen der Formel, worin die Substituenten, die in der Beschreibung angegebene Bedeutung aufweisen. Verfahren zur Herstellung einer Reihe von neuen Polypeptid-Derivaten, enthaltend

5-Amino-2,5-disubstituierte-4-hydroxypentansäure Reste werden offenbart, die die Angiotensinogenspaltende Wirkung des Enzyms Renin hemmen. Gewisse andere 5-Amino-2,5-disubstituierte-4-hydroxypentansäure Derivate sind besonders wertvolle Vorläufer für viele dieser Verbindungen. Formel



Erfindungsanspruch:

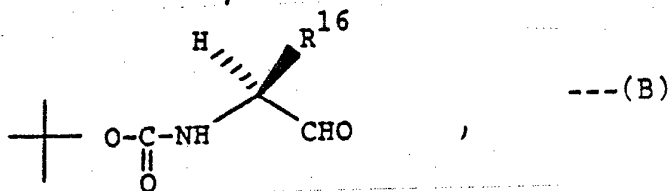
Stereoselektives Verfahren zur Herstellung von Renin inhibierenden Verbindungen der Formel,



worin R¹⁶ (C₁-C₆)Alkyl, (C₁-C₆)Alkenyl, Phenyl, Naphthyl, (C₄-C₇)Cycloalkyl, (C₄-C₇)Cycloalkenyl, (C₇-C₉)Phenylalkyl, (C₁₁-C₁₃)Naphthylalkyl, (C₅-C₁₀)(Cycloalkyl)-alkyl oder eine dieser Gruppen mono- oder disubstituiert am aromatischen Ring mit gleichen oder verschiedenen Substituenten, die (C₁-C₃)Alkyl, (C₁-C₃)Alkoxy, Fluor oder Chlor sind; und R¹⁷ (C₁-C₆)(2-Alkenyl), (C₄-C₇)(Cyclo-2-alkenyl), Benzyl oder Naphthylmethyl oder eine dieser Gruppen mono- oder disubstituiert am aromatischen Ring mit gleichen oder verschiedenen Substituenten, die (C₁-C₃)Alkyl, (C₁-C₃)Alkoxy, Fluor oder Chlor sind, bedeuten;

gekennzeichnet dadurch, daß in der ersten Stufe

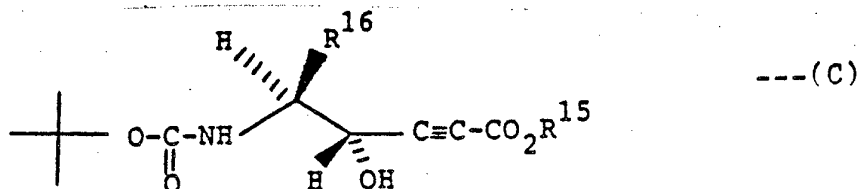
1) ein Aldehyd der Formel,



worin R¹⁶ obige Bedeutung hat mit LiC≡CCOOR¹⁵,

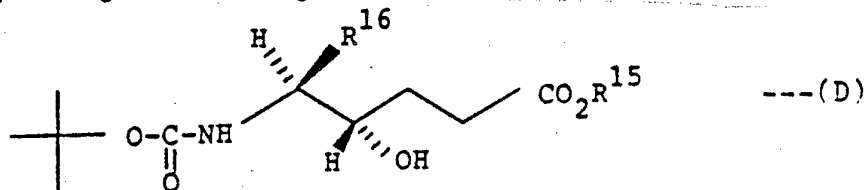
worin R¹⁵ (C₁-C₃)Alkyl ist,

umgesetzt wird, in einem reaktionsinerten Lösungsmittel bei -50°C bis -80°C, um überwiegend eine Verbindung der Formel



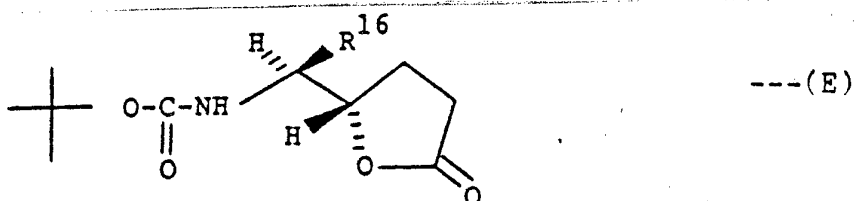
zu bilden, in weiteren Stufen

2) die Hydrierung der Verbindung der Formel (C) zur Bildung einer Verbindung der Formel



und anschließend

3) die Cyclisierung der Verbindung der Formel (D) zur Bildung einer Verbindung der Formel



erfolgt und in der vierten Stufe

4) dieses Lacton (E) mit im wesentlichen einem Moläquivalent eines organischen Halogenids der Formel



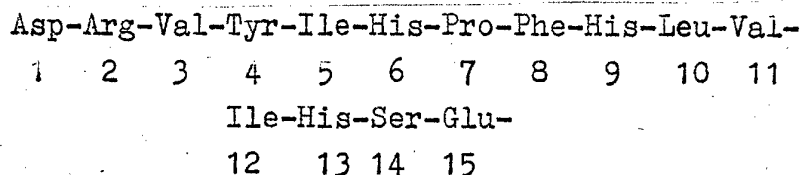
worin X Chlor, Brom oder Jod bedeutet und R^{17} obige Bedeutung hat, in Gegenwart eines wesentlichen Überschusses einer starken Base mit niedriger Nucleophilität umgesetzt wird.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die vorliegende Erfindung betrifft ein stereoselektives Verfahren zur Herstellung Renin inhibierender Verbindungen, enthaltend 5-Amino-2,5-disubstituierte-4-hydroxypentansäure-Reste, die zur Hemmung der Wirkung des Enzyms Renin auf die Angiotensinogen-Spaltung nützlich sind; und Zwischenprodukte dazu, insbesondere N-alpha-[N-(t-butoxy-carbonyl)-phenylalanyl]-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidin.

Charakteristik des bekannten Standes der Technik

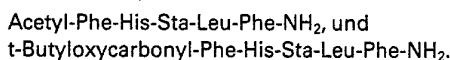
Das proteolytische Enzym Renin, das ein Molekulargewicht von etwa 40000 besitzt, wird in der Niere produziert und von ihr in das Blut ausgeschieden. Es ist bekannt, daß es in vivo aktiv ist, indem es das natürlich vorkommende Plasma Glycoprotein Angiotensinogen spaltet. Im Falle von menschlichem Angiotensinogen tritt die Spaltung an der Bindung zwischen den Leucin (10.)- und Valin (11.)-Aminosäureresten am N-terminalen Ende des Angiotensinogens ein:



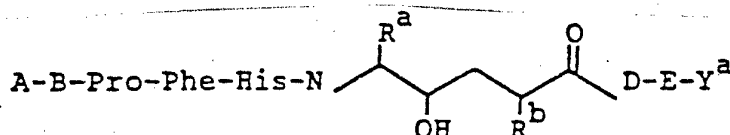
Das zirkulierende durch die obige Spaltungswirkung von Renin gebildete N-terminale Decapeptid (Angiotensin I) wird dann durch den Körper zu einem als Angiotensin II bekannten Octapeptid abgebaut. Angiotensin II ist als potente Drucksubstanz bekannt, d. h. eine Substanz, die in der Lage ist, eine beträchtliche Blutdrucksteigerung herbeizuführen, wobei angenommen wird, daß sie dadurch wirkt, daß sie eine Kontraktion der Blutgefäße und eine Ausschüttung des Natrium-zurückhaltenden Hormons Aldosteron aus der Nebenniere bewirkt.

Man hat deshalb das Renin-Angiotensinogen-System als ursächlichen Faktor mit gewissen Formen der Hypertonie in Zusammenhang gebracht.

Ein Mittel, die ungünstigen Folgen der Wirkungsweise des Renin-Angiotensinogen-Systems zu mildern, besteht in der Verabreichung einer Substanz, die zur Hemmung der Wirkung des Enzyms Renin auf die Angiotensinogen-Spaltung fähig ist. Eine Reihe derartiger Substanzen sind bekannt, einschließlich Antirenin-Antikörper, Pepstatin und natürlich vorkommende Phospholipid-Verbindungen. Die Europäische Patentanmeldung Nr. 77028 offenbart eine Reihe von Renin-hemmenden Polypeptidverbindungen, die ein nicht-terminales Statin (Sta; 4-Amino-3-hydroxy-6-methylheptansäure) oder Statin-Derivat aufweisen. Unter Einschluß von Sta enthält die große Mehrheit von exemplifizierten Verbindungen 6 oder mehr Aminosäurereste. Beispiele der wenigen dort offenbarten kürzesten Ketten sind:



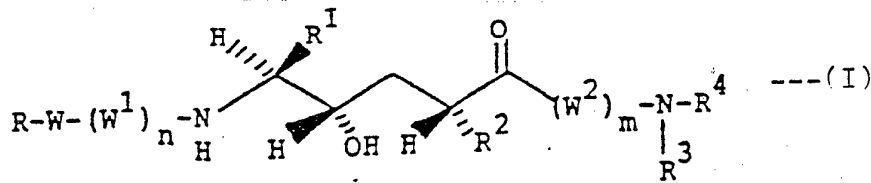
Es gibt konstant mindestens zwei Aminosäurereste auf jeder Seite von Statin. Die Di- oder Polypeptidyl-statyl-Gruppe ist konstant mit einer lipophilen Aminosäure verbunden, am häufigsten Leucin. (Siehe auch U.S. Patente 4470971 und 4478826). Die Europäische Patentanmeldung Nr. 45665 und das U.S. Patent 4424207 offenbaren eine Reihe von Renin-hemmenden Polypeptid-Derivaten der Formel,



worin A zum Beispiel t-Butoxycarbonyl, B His oder ein anderer lipophiler Aminoacylrest, D Val, Ile oder ein anderer lipophiler Aminoacylrest, E Tyr, Phe, His oder ein anderer aromatischer Aminoacylrest, R^a und R^b je Isopropyl, Isobutyl, Benzyl oder eine andere Seitenkette vom Typus einer lipophilen Aminosäure und Y^a eine terminale Gruppe vom Säure-, Ester- oder Amidtypus bedeuten. Unter Einschluß der zentralen 5-Aminopentansäurereste sind diese Verbindungen in jedem Fall Heptapeptide, d. h. N-Tetrapeptidyl-5-aminopentanoyl-lipophile-aminoacyl-aromatische-aminosäure-Derivate.

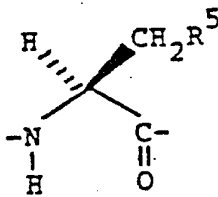
Ziel der Erfindung

Wir haben nun entdeckt, daß gewisse neue Verbindungen außergewöhnlichen Wert als Renin-hemmende Mittel besitzen. Diese Verbindungen sind Polypeptidderivate der Formel

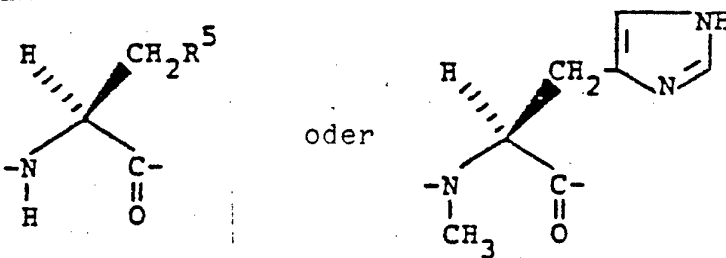


oder ein pharmazeutisch verwendbares Salz davon, worin bedeuten:

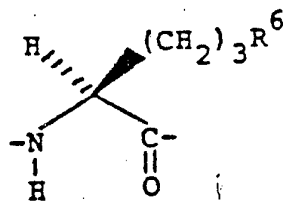
n und m sind je 1 oder 0, wobei die Summe von n und m mindestens 1 ist; W ist,



wobei R⁵ Phenyl, 1-Naphthyl, 4-Hydroxyphenyl, 4-Methoxyphenyl, 4-Imidazolyl, Propyl oder Isopropyl ist; W¹ ist



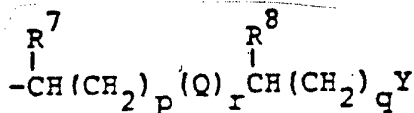
W² ist



falls n 1 ist, ist R Wasserstoff, ein Amino-schützender Acylrest mit einem Molekulargewicht von weniger als 500, Prolyl, Pyroglutamyl oder Prolyl oder Pyroglutamyl geschützt am Stickstoff mit diesem Amino-schützenden Acylrest; und falls n 0 ist, ist R Phenoxyacetyl oder 2-Benzyl-3-phenylpropionyl (Dibenzylacetyl);

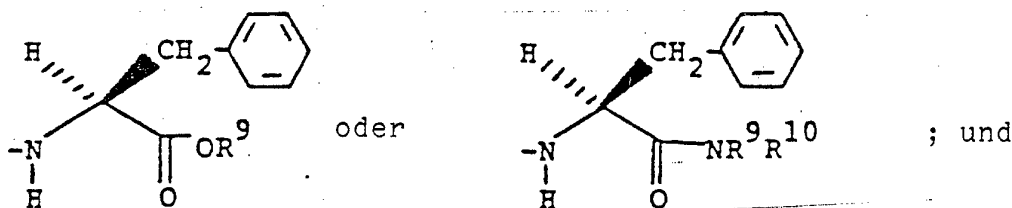
R¹ und R² sind jedes unabhängig Wasserstoff, (C₁-C₆)Alkyl, (C₁-C₆)Alkenyl, Phenyl, Naphthyl, (C₄-C₇)Cycloalkyl, (C₄-C₇)Cycloalkenyl, (C₇-C₉)Phenylalkyl, (C₁₁-C₁₃)Naphthylalkyl, (C₅-C₁₀)(Cycloalkyl)-alkyl, (C₅-C₁₀)(Cycloalkenyl)-alkyl oder eine dieser Gruppen mono- oder disubstituiert am aromatischen Ring durch gleiche oder verschiedene Gruppen, ausgewählt aus (C₁-C₃)Alkyl, (C₁-C₃)Alkoxy, Fluor oder Chlor; und

(a) R³ und R⁴, falls getrennt genommen, sind jedes unabhängig Wasserstoff, (C₁-C₆)Alkyl, Phenyl, Naphthyl, (C₄-C₇)Cycloalkyl, (C₇-C₉)Phenylalkyl, (C₁₁-C₁₃)Naphthyl-alkyl, (C₅-C₁₀)(Cycloalkyl)-alkyl oder Adamantyl; oder R³ ist Wasserstoff und R⁴ ist



p und q sind jedes unabhängig Null oder eine Zahl von 1 bis 6; r ist Null oder 1; Q ist -CH₂-, -CH=CH-, -O-, -NH-, -CHOH- oder -CO-;

R⁷, R⁸, R⁹ und R¹⁰, -COOR⁹, -CONR⁹R¹⁰,
-CONHCOOCH₂C₆H₅, -NH₂, -NHCOCH₂C₆H₅,



R⁷, R⁸, R⁹ und R¹⁰ sind jedes unabhängig Wasserstoff, (C₁-C₆)Alkyl, Phenyl, (C₄-C₇)Cycloalkyl, (C₇-C₉)Phenylalkyl, (C₅-C₁₀)(Cycloalkyl)-alkyl oder Adamantyl;

oder

(b) R³ und R⁴, falls zusammengekommen, bilden mit dem Stickstoff, mit dem sie verbunden sind, ein Pyrrol-, Indolin-, Isoindolin-, Piperidin-, 1,2,3,4-Tetrahydrochinolin-, 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-, Perhydroazepin- oder Morpholin-Ringsystem.

Darlegung des Wesens der Erfindung

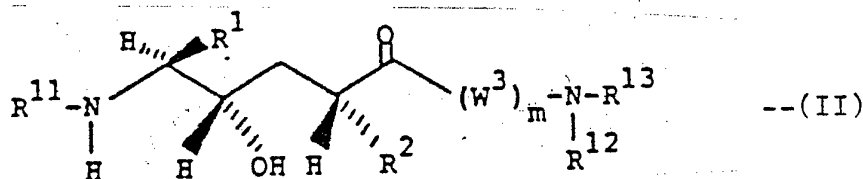
Der Ausdruck „Amino-schützender Acylrest“ bezieht sich auf solche Acylgruppen, die in der Lage sind, die Wirkung des alpha-Stickstoffs von W (oder W¹ wenn n = 0) in vivo wesentlich zu hemmen. R hat ein Molekulargewicht von weniger als 500, um eine übermäßige nachteilige Wirkung auf die Löslichkeitseigenschaften zu verhindern. Beispiele geeigneter Amino-schützender Acylreste sind dem Fachmann wohl bekannt, z. B. die t-Butyloxycarbonyl-, t-Butylacetyl-, Benzoyloxycarbonyl-, t-Butylureido-, (Tris-hydroxy)-(t-butylureido)- und Phenoxyacetyl-Reste.

Wenn n für 1 steht, ist die bevorzugte Bedeutung von R t-Butoxycarbonyl, und die bevorzugten Bedeutungen von W und W¹ sind Phenylalanyl bzw. Histidyl. Wenn m für 1 steht, ist die bevorzugte Bedeutung von W² Lysyl. In allen Fällen ist die bevorzugte Bedeutung von R¹ Cyclohexylmethyl und die bevorzugten Bedeutungen von R² 2-Methylpropyl, Benzyl, 2-Methylpropenyl, 4-Chlorbenzyl, 4-Methylbenzyl, 4-Methoxybenzyl, 3,4-Dichlorbenzyl, 2-Chlorbenzyl, 3-Chlorbenzyl und Cyclohexylmethyl, insbesondere 2-Methylpropyl. Wenn m für 0 und n für 1 stehen, sind die bevorzugten Bedeutungen von NR³R⁴ NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂, NHCH₂C₆H₅, NH(CH₂)₃COOH, NH(CH₂)₄NH₂, NH(CH₂)₄NHCOCH₂C₆H₅ und Tetrahydroisochinolin. Wenn m und n je für 1 stehen, sind die bevorzugten Bedeutungen von NR³R⁴ Phenylalanin und Statin-äthylester.

Der Ausdruck pharmazeutisch verwendbares Salz bezieht sich auf Säureadditionssalze irgendwelcher Verbindungen der Formel (I), die eine basische Funktionalität enthalten, mit einer Säure, wie (aber nicht beschränkt darauf) HCl, HNO₃, H₂SO₄, H₃PO₄, CH₃SO₃H, pCH₃C₆H₄SO₃H, CH₃COOH oder HOOCCH₂CH₂COOH. Wenn die Verbindung (I) mehr als eine basische Funktion enthält, enthält das Salz gewünschtenfalls mehr als ein Säureäquivalent. Alternativ bezieht sich der Ausdruck, wenn die Verbindung der Formel I eine saure Funktion enthält, auf kationische Salze, wie (aber nicht beschränkt darauf) ein Alkalimetallsalz (z. B. Na, K), ein Erdalkalimetallsalz (z. B. Ca, Mg) oder ein Aminsalt (z. B. Diäthanolamin, Meglumin). Konventionelle Methoden werden zur Herstellung solcher Salze verwendet.

Die vorliegende Erfindung betrifft auch pharmazeutische Präparate, die eine zur Renin-Hemmung wirksame Menge einer Verbindung der Formel (I) als wesentlichen aktiven Bestandteil in einem pharmazeutisch verwendbaren Trägermaterial enthalten; und ein Verfahren zur Hemmung der Spaltung von Angiotensinogen durch Renin im Körper eines Säugetieres, welches darin besteht, daß man dem Säugetier eine wirksame Menge einer Verbindung der Formel (I) verabreicht.

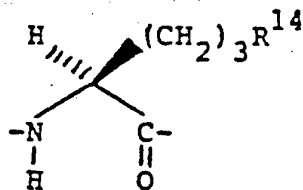
Zusätzlich umfaßt die vorliegende Erfindung Zwischenprodukte der Formel



worin bedeuten:

R¹ und R² sind wie oben definiert;

W³ ist

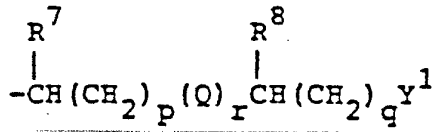


wobei R¹⁴ -NHCO₂CH₂CH₂C₆H₅, -NHCNHCO₂CH₂C₆H₅ oder

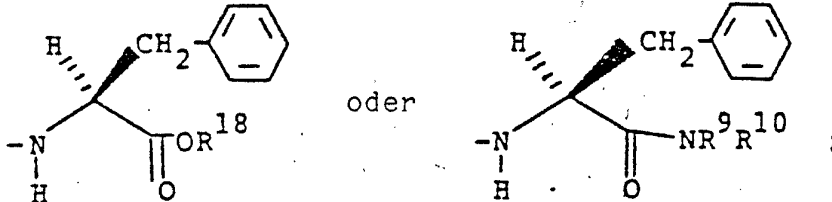
-CH₂NHCO₂C₆H₅ ist;

R¹¹ ist Wasserstoff oder t-Butoxycarbonyl; und

(a) R¹² und R¹³, falls getrennt genommen, sind jedes unabhängig Wasserstoff, (C₁-C₆)Alkyl, Phenyl, Naphthyl, (C₄-C₇)Cycloalkyl, Adamantyl, (C₇-C₉)Phenylalkyl, (C₁₁-C₁₃)Naphthylalkyl oder (C₅-C₁₀)(Cycloalkyl)-alkyl; oder R¹² ist Wasserstoff und R₁₃ ist



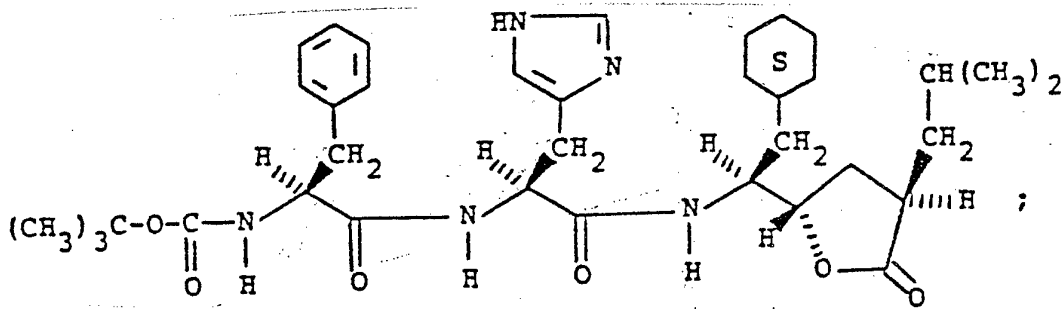
p, q, r und Q sind wie oben definiert;
Y¹ ist Methyl, Phenyl, -COOR¹⁸, -CONR⁹R¹⁰,
-CONHCOOCH₂C₆H₅, -NHCOCH₂C₆H₅,



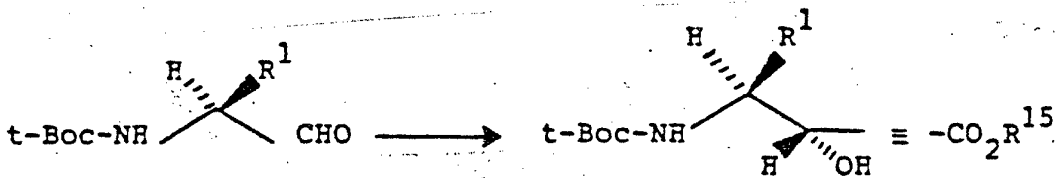
R⁷, R⁸, R⁹ und R¹⁰ sind unabhängig wie oben definiert;
und

R¹⁸ hat unabhängig eine Bedeutung von R⁷, die von Wasserstoff verschieden ist; oder

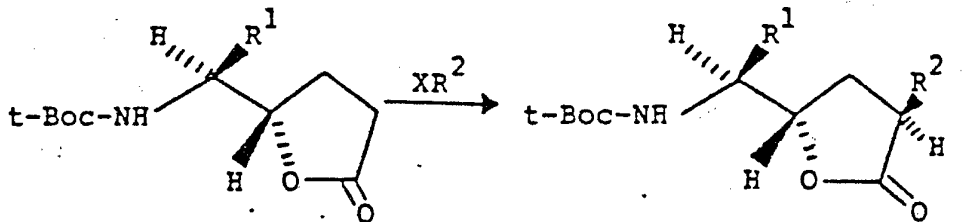
(b) R¹² und R¹³, falls zusammen genommen, bilden mit dem Stickstoff, mit dem sie verbunden sind ein Pyrrol-, Indolin-, Isoindolin-, Piperidin-, 1,2,3,4-Tetrahydrochinolin-, 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-, Perhydroazepin- oder Morpholin-Ringsystem; und ein Zwischenprodukt der Formel



Schließlich umfaßt die vorliegende Erfindung die folgenden stereoselektiven Verfahren:



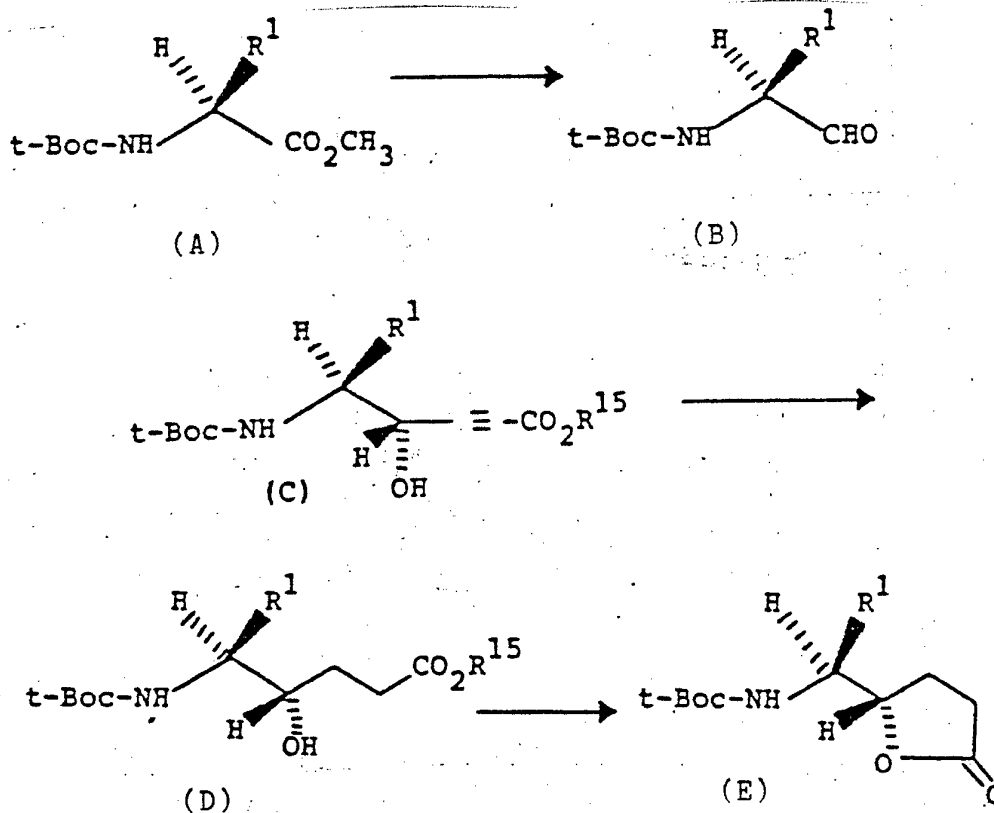
worin R¹ wie oben definiert, aber von Wasserstoff verschieden und R¹⁵ (C₁-C₃)Alkyl sind; und



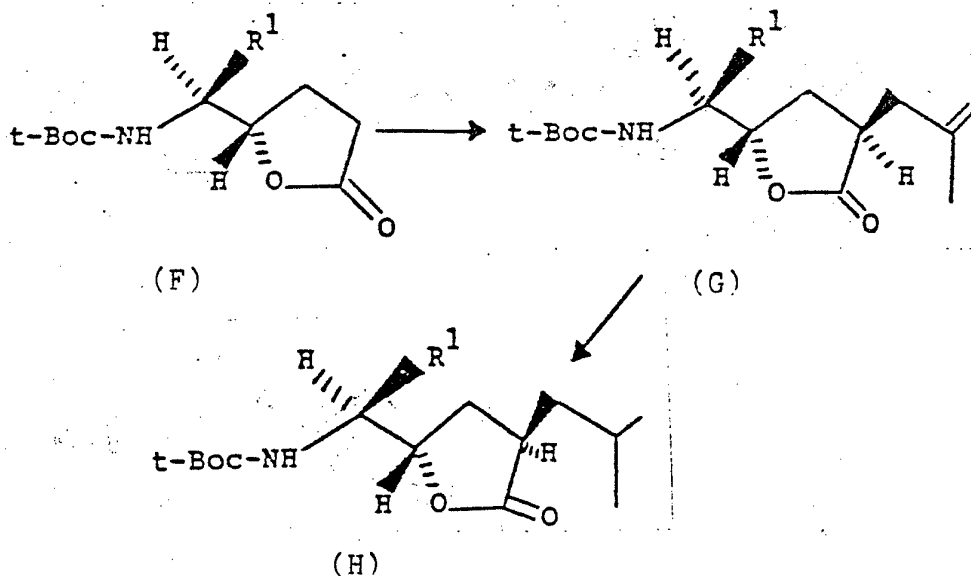
worin X Chlor, Brom oder eine andere nucleophil austauschbare Gruppe ist, R¹ und R² wie oben definiert sind, R² aber von Wasserstoff verschieden und vorzugsweise eine aktivierende Gruppe vom Allyl- oder Benzyltypus ist; und die entstehenden, reinen, bisher nicht-erhältlichen chiralen Zwischenprodukte der Formeltypen (D), (E), (F), (G) und (H) unten. Die bevorzugte Bedeutung von X ist Brom.

Die Verbindungen der Erfindung werden im allgemeinen durch Methoden hergestellt, die dem Fachmann vertraut sind. Die grundlegende Untereinheit der bevorzugten chemischen Synthese ist die Acylierung der ungeschützten alpha-Aminogruppe eines Aminosäurerestes mit einer Aminosäure, die eine aktivierte (für Acylierungszwecke) Carboxylfunktion und eine geeignete, an das eigene alpha-Stickstoffatom gebundene Schutzgruppe aufweist, um eine Peptidbindung zwischen den zwei Aminosäureresten zu bilden, gefolgt von der Entfernung dieser Schutzgruppe. Diese synthetische Untereinheit des Kuppelns-Deblockierens wird wiederholt durchgeführt, um das Polypeptid aufzubauen, ausgehend vom C-terminalen Ende der molekularen Struktur und fortschreitend zum N-terminalen Ende. Die Standard-alpha-Aminosäuren, die bei der Synthese der Verbindungen der vorliegenden Erfindung benutzt werden, sind im Handel erhältlich (als freie Säuren, Salze oder Ester etc.),

sowohl in alpha-Amino-geschützten als auch in alpha-Amino-ungeschützten Formen. Statin ist im Handel erhältlich als N-(t-Butyloxycarbonyl)-statin; außerdem kann man Statin (als freie Säure oder Ester) sowohl in gamma-Amino-geschützten als auch gamma-Amino-ungeschützten Formen durch in der Literatur angegebenen Methoden herstellen (siehe z. B. U. S. Patent 4397786 und Rich, D. H. et al., J. Org. Chem. Bd. 43, Seiten 3624ff. (1978). Erwünschtenfalls wird ein geeignetes N-ungeschütztes Aminosäure-Analogon (freie Säure, Salz oder Ester etc.), wie 4-Aminobuttersäure, 4-Aminovaleriansäure, 5-(Benzyloxycarbonylamino)pentylamin oder Äthyl-3-(2-amino-äthoxy)propionat als Reagens in der ersten Kupplungsstufe verwendet. Falls nicht im Handel erhältlich oder bereits bekannt, werden solche Verbindungen leicht durch in der organischen Chemie gut bekannte Methoden hergestellt. Wenn das gewünschte Produkt einen basischen Aminosäurerest W^2 (d. h. $m = 1$) enthält, wird das erforderliche Zwischenprodukt $H-(W^3)-NR^{12}R^{13}$ (worin R^3 , R^{12} und R^{13} wie oben definiert sind) aus Lysin, Ornithin oder Arginin, geschützt an der alpha- NH_2 -Gruppe mit einer hydrolysierten Gruppe, wie t-Butoxycarbonyl (t-Boc), die unter wasserfreien Säurebedingungen (z. B. ca. 3-5N HCl in Dioxan oder wasserfreie Trifluoressigsäure) gespalten werden kann, und am omega-Stickstoffatom mit einer hydrogenolytisch spaltbaren Gruppe, wie Benzyloxycarbonyl (Cbz), hergestellt, indem man sie mit einem Amin $HNR^{12}R^{13}$ kuppelt. Bevorzugte Kupplungsbedingungen verwenden mehr oder weniger äquimolare Mengen der zu kuppelnden Reagentien, Dicyclohexylcarbodiimid (oder ein ähnliches dehydratisierendes Kupplungsmittel) in einer äquimolaren Menge und 1-Hydroxybenzotriazol in 1-2 molarer Menge, in einem reaktionsinerten Lösungsmittel, wie CH_2Cl_2 bei 0-50°C (zweckmäßigerweise bei Raumtemperatur). Wenn ein Reagens in Form eines Säuresalzes vorliegt, wird ein tertiäres Amin (z. B. Triäthylamin, N-Methylmorpholin) in einer Menge, die zur Neutralisation dieser Säure ausreicht, verwendet. Vor der nächsten Kupplungsstufe wird die alpha-Aminogruppe des basischen Aminosäurerestes W^2 von der Schutzgruppe befreit, d. h. eine alpha-t-Boc-Gruppe wird einfach durch die Einwirkung von 3,5 bis 4,5N HCl in Dioxan bei -10°C bis 40°C, zweckmäßigerweise bei Raumtemperatur, entfernt; oder durch die Einwirkung von wasserfreier Trifluoressigsäure bei -20°C bis 20°C, zweckmäßigerweise bei etwa 0-5°C. Die erforderlichen 2,5-disubstituierten-4-Hydroxypentensäurereste müssen im allgemeinen synthetisiert werden. Ein vorliegender stereoselektiver Weg geht von einem Vorläufer mit geeigneter Chiralität, zweckmäßigerweise einer L-Aminosäure, aus, z. B. in den Anfangsstufen:

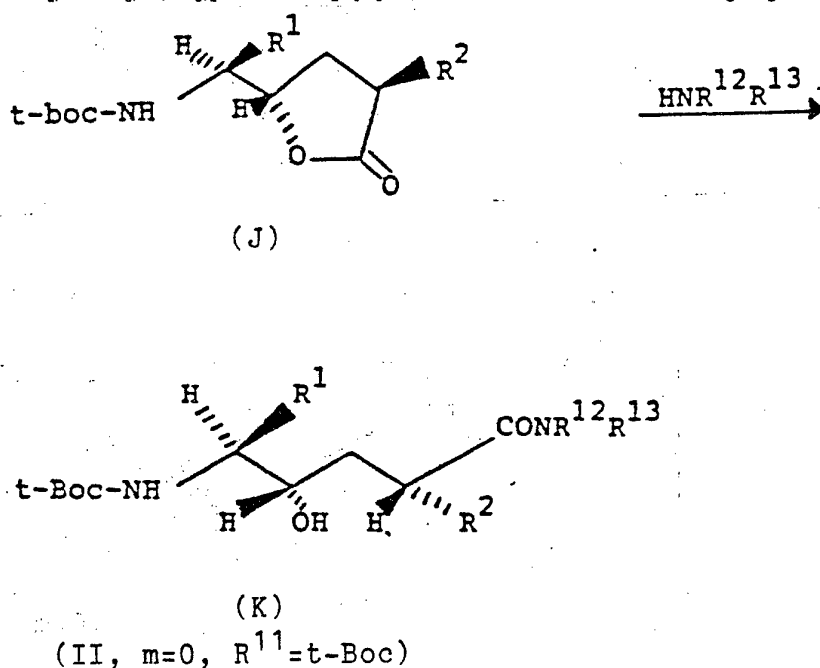


Die geschützte L-Aminosäure, von der ausgegangen wird, wird kommerziell oder durch auf dem Fachgebiet gut bekannte Standardmethoden erhalten, erwünschtenfalls unter Einschluß der Reduktion des aromatischen Rings, z. B. diejenige von N-(t-Butoxycarbonyl)phenylalanin-methylester, wie unten exemplifiziert. Der niedere Alkylester, vorzugsweise der Methylester wie gezeigt, wird leicht zum Aldehyd reduziert, zum Beispiel mit Diisobutylaluminiumhydrid in Toluol bei -50 bis -80°C. Der Aldehyd seinerseits wird mit $LiC\equiv CCOOR^{15}$ (üblicherweise ist R^{15} Äthyl, gebildet in situ aus Äthylpropionat) umgesetzt, abermals bei -50 bis 80°C in einem reaktionsinerten Lösungsmittel, wie Tetrahydrofuran. Im allgemeinen wird in dieser Stufe ein Stereoisomerenpaar gebildet, wobei das gewünschte Diastereoisomere (C) stark überwiegt. Das geringer vorhandene, unerwünschte Isomere wird vorzugsweise entfernt, worauf die Dreifachbindung hydriert wird (durchgeführt unter Standard-Hydrierbedingungen, z. B. über einem Palladiumkatalysator, vorzugsweise Pd in $BaSO_4$ unter relativ milden Bedingungen) und Bildung des Lactons (z. B. durch Umsetzen in Toluol in Gegenwart von Essigsäure). Das gewünschte Lacton-Epimere, das die in Formel (E) und (F) gezeigte 4S-Stereochemie aufweist, wird dann mit einem Halogenid R^2X ($X=Cl, Br$ oder J ; vorzugsweise $X=Br$) in Gegenwart eines wesentlichen Überschusses, z. B. 2 bis 2,5 Moläquivalente, einer starken Base mit niedriger Nucleophilität, wie $LiN[CH(CH_3)]_2$ oder vorzugsweise Lithiumhexamethyldisilazid, kondensiert. Vorzugsweise ist das Halogenid ein solches vom Allyl- oder Benzyltypus (z. B. 2-Methyl-2-propenyl-bromid, Benzylbromid), wobei die Doppelbindung oder der aromatische Ring anschließend hydriert wird, falls die gesättigte Gruppe R^2 gewünscht wird, z. B.



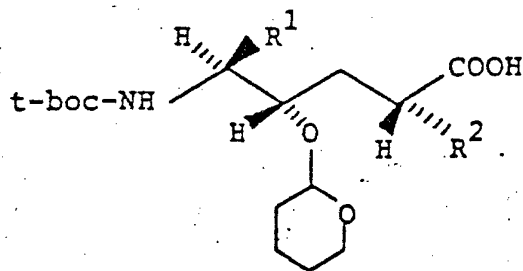
Abermals überwiegt das gewünschte Diastereoisomere, das die gezeigte trans (2R)-Stereochemie aufweist. Es wird durch Chromatographie abgetrennt (entweder vor oder nach irgendeiner zur Herstellung der gewünschten Gruppe R² erforderlichen Hydrierung). Alternativ kann die Hydrierung, insbesondere dann, wenn R² in der Stufe der Kondensation eine Benzylgruppe ist, auf später in der Gesamtsynthese der gewünschten Verbindung hinausgeschoben werden. Die bevorzugten Katalysatoren für die Hydrierung eines einfachen Olefins umfassen Pd oder Rh, während für die Reduktion von Phenyl zu Cyclohexyl Rh bevorzugt ist.

In gewissen bevorzugten Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung, insbesondere dann, wenn NR¹²R¹³ ein einfaches Amin, wie NH₂, NHCH₃, N(CH₃)₂ oder NHCH₂C₆H₅ ist, wird das Lacton direkt mit dem geeigneten Amin umgesetzt, z. B.

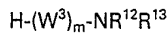


Die Lactone reagieren glatt mit einem Überschuß an basischeren Aminen mit niedrigem Molekulargewicht, wie NH₃, NH₂CH₃ und NH(CH₃)₂, bei niedrigen Temperaturen (z. B. 0 bis 40°C) in einem reaktionsinerten Lösungsmittel. Bei stärker gehinderten oder weniger basischen Aminen werden höhere Temperaturen, z. B. 80–100°C, verwendet, gegebenenfalls in Anwesenheit eines Essigsäurekatalysators.

Bei komplexeren NR¹²R¹³-Gruppen ist es bevorzugt, das Lacton via Verseifung des blockierten Lactons (J) mit verdünnter NaOH in einem wäßrigen Lösungsmittel in die Säure umzuwandeln, die Säure durch Verwendung von Benzylbromid in Anwesenheit von K₂CO₃ in einem reaktionsinerten Lösungsmittel, wie Dimethylformamid, in den Benzylester umzuwandeln, durch Einwirkung von 3,4-Dihydro-2H-pyran in einem reaktionsinerten Lösungsmittel in Gegenwart eines Katalysators, wie Pyridinium-p-tosylat, den Tetrahydropyranyläther zu bilden und schließlich mittels Hydrogenolyse zur Säure zu gelangen.



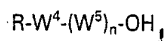
Die letztere wird dann mit einer Aminoverbindung



gekuppelt unter Verwendung einer dehydratisierenden Kupplungsmethode (z. B. mit Dicyclohexylcarbodiimid), wie sie oben beschrieben ist, oder des sogenannten gemischten Anhydrid-Verfahrens, das ebensogut auf dem Fachgebiet bekannt und unten exemplifiziert ist, gefolgt von selektiver Hydrolyse des Tetrahydroxyranyläthers durch Erwärmen in wäßriger Essigsäure, um das Zwischenprodukt der Formel (II), worin R^{11} t-Butoxycarbonyl ist, zu bilden.

Die Verbindung der Formel (II), worin R^{11} t-Boc ist, wird dann, unabhängig vom Ursprung, selektiv gespalten (durch die oben beschriebenen Methoden), um die freie Aminoverbindung (II), worin R^{11} Wasserstoff ist, zu erhalten.

In den Schlußstufen des bevorzugten Verfahrens wird das Zwischenprodukt mit



worin R und n wie oben definiert sind; und W^4 und W^5 mit den obigen W bzw. W^1 korrespondieren, wobei aber der Imidazolstickstoff irgendeines Histidinrestes mit t-Butoxycarbonyl blockiert ist, gekuppelt. Die bevorzugte Kupplungsmethode verwendet Dicyclohexylcarbodiimid unter Bedingungen, wie sie oben beschrieben wurden. Diese bevorzugte Methode ist von besonderem Vorteil, wenn n die Bedeutung 1 hat, im Vergleich zu der üblichen Methode der Einführung jeder Aminosäure in einzelnen fortlaufenden Stufen. Schließlich wird irgendeine Imidazol-t-Boc-Schutzgruppe selektiv durch Hydrolyse in wäßriger Essigsäure (z. B. 80%ige Essigsäure) bei 10–40°C und irgendwelche N-Benzyloxycarbonyl- oder Benzylester-Blockierungsgruppen werden selektiv durch Standard-Hydriermethoden, wie vorstehend beschrieben, entfernt, wobei im allgemeinen die gewünschte n-terminale Schutzgruppe intakt bleibt.

Die Aktivität der Verbindungen der vorliegenden Erfindung als Hemmer der Aktivität von Renin auf die Angiotensinogen-Spaltung wird bestimmt durch (1) Untersuchung ihrer Fähigkeit, die Aktivität von Renin auf die Angiotensinogen-Spaltung in vitro zu hemmen. In diesem Test wird Blutplasma von gesundem Laborpersonal erhalten, vereinigt und gefroren bis zum Gebrauch gelagert. Vor der Verwendung wird ein Quantum dieses Plasmas aufgetaut und zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit mit Proteasehemmer vermischt und auf einen pH von 7,4 gepuffert. Reninhemmer verschiedener Menge werden zu verschiedenen aliquoten Teilen von überstehendem Plasma zugesetzt und die erhaltenen Mischungen (310 λ) während drei Stunden bei 37°C zusammen mit Reninhemmer-freien Kontroll-Mischungen bebrütet. Nach dem Bebrüten werden die Mischungen in Eiswasser abgeschreckt und jede unter Verwendung von Angiotensin-I-Antikörper auf Angiotensin I geprüft. Die Erzeugung von Angiotensin I in Anwesenheit von Reninhemmer wird mit derjenigen verglichen, die in Abwesenheit des Hemmers erzeugt wird, und die prozentuelle Hemmung wird berechnet. Unter Verwendung von Werten aus Doppelbebrütungen bei jeder von mehreren verschiedenen Hemmerkonzentrationen wird die Hemmerkonzentration in der Bebrütungsmischung, die erforderlich ist, eine 50%ige Hemmung der Aktivität von Renin auf die Angiotensinogen-Spaltung zu bewirken, d. h. die IC_{50} an Hemmer, für verschiedene Hemmer berechnet. Das Angiotensin I in den abgeschreckten Bebrütungsmischungen wird durch einen Radioimmuntest bestimmt, wobei Komponenten eines Renin-Radioimmuntest-Kits von Becton Dickinson and Co. (Orangeburg, N. Y.) verwendet werden. Dieser Radioimmuntest basiert auf einem von Haber et al., J. Clin. Endocrinol., 29, Seiten 1349–1355 (1969), entwickelten Test.

Die Aktivität der vorliegenden Verbindungen kann auch durch ihre Fähigkeit festgestellt werden, der exogenen Renin-induzierten Druckreaktion in vivo entgegenzuwirken. Männliche Sprague-Dawley Ratten (230 bis 300 g Körpergewicht) werden mit Natriumpentobarbital (65 mg/kg Körpergewicht, intraperitoneal) anästhesiert, worauf in jedem Tier Katheder in der Vena femoralis und Arteria carotis implantiert werden. Nach Durchführung des chirurgischen Eingriffs werden die Tiere in Bauchlage gebracht und die rektale Temperatur fortlaufend gemessen. Der mittlere arterielle Blutdruck (MAP) wird über den Carotis-Arterie-Katheder aufgezeichnet unter Verwendung eines Statham P23 ID Druckwandlers und eines Physiograph. Am Anschluß an eine Stabilisierungsperiode werden Kontroll-Renin-Druckreaktionen (dP) von 20 bis 30 mm Hg durch Verabreichung von Schweinerenin (30 bis 80 mE/kg Körpergewicht, intravenös) erhalten. Die Tiere werden abermals mit Schweinerenin (gleiche Dosis für die Kontrollreaktion) nach 5, 15 und 30 Minuten nach der Reninhemmer-Verabreichung beansprucht, und die entsprechenden Renin-Druckreaktionen werden gemessen. Die prozentuelle Gegenwirkung wird berechnet als

$$\frac{(\text{Kontroll dP} - \text{experimentelle dP}) \times 100\%}{\text{Kontroll dP}}$$

wobei Kontroll dP und experimentelle dP die Druckänderungen in MAP vor bzw. nach der Reninhemmer-Verabreichung sind. Vorzugsweise werden mindestens drei Tiere in jedem Test verwendet und die Ergebnisse gemittelt.

Die Verbindungen der vorliegenden Erfindung können als antihypertensive Mittel sowohl auf oralem als auch auf parenteralem Wege verabreicht werden und sind gewöhnlich auf dem letzteren Wege wirksam, insbesondere, wenn sie als intravenöse Lösung dosiert werden. Falls es die gastrointestinale Adsorption erlaubt, ist die orale Verabreichung aus Gründen der Annehmlichkeit für den Patienten und der Zweckmäßigkeit bevorzugt. Im allgemeinen werden diese antihypertensiven Verbindungen in üblicher Weise in Dosierungen im Bereich von etwa 0,1 mg bis etwa 10 mg pro kg Körpergewicht pro Tag verabreicht, wobei

Abweichungen notwendigerweise vorhanden sein werden in Abhängigkeit von den Umständen des zu behandelnden Patienten und der besonderen zu verabreichenden Verbindung. In charakteristischer Weise wird die Behandlung mit einer niedrigen täglichen Dosis begonnen und durch den Arzt nur erforderlichenfalls erhöht. Es ist zu bemerken, daß diese Verbindungen in Kombination mit pharmazeutisch verwendbaren Trägermaterialien auf irgendeine der vorstehend aufgezeigten Wege verabreicht werden können, und daß eine solche Verabreichung sowohl in Einzel- als auch in Mehrfachdosierungen vorgenommen werden kann.

Für die parenterale Verwendung werden die vorliegenden Verbindungen in bekannter Art unter Verwendung geeigneter Dispergier- oder Netzmittel und Suspendiermittel formuliert. Die sterile injizierbare Formulierung kann auch eine Lösung oder Suspension in einem nicht-toxischen parenteral verwendbaren Verdünnungs- oder Lösungsmittel, zum Beispiel als eine Lösung in 1,3-Butandiol, ein. Unter den verwendbaren Trägermaterialien und Lösungsmitteln sind Wasser, Ringer'sche Lösung und isotonischen NaCl-Lösung, fixierte Öle unter Einschluß synthetischer Mono- oder Diglyceride, Fettsäuren, wie Oelsäuren, und Mischungen davon.

Für die orale Verabreichung wird eine breite Vielfalt von Dosierungsformen verwendet, z. B. Tabletten, Kapseln, Raufen, Pastillen, Hartbonbons, Pulver, Sprays, wäßrige Suspensionen, Elixiere, Sirups und dgl. formuliert mit verschiedenen pharmazeutisch verwendbaren inerten Trägermaterialien. Solche Trägermaterialien schließen feste Verdünnungs- oder Füllmittel, sterile wäßrige Medien und verschiedene nichttoxische organische Lösungsmittel etc. ein. Im allgemeinen sind die Verbindungen dieser Erfindung in solchen oralen Dosierungsformen in einer Konzentration vorhanden, die von etwa 0,5 Gew.-% bis etwa 90 Gew.-% des Gesamtpräparates reichen und in Mengen, die ausreichen, die gewünschte Einzeldosierung zu bilden. Tabletten können verschiedene Hilfsstoffe enthalten, wie Natriumcitrat, Calciumcarbonat und Calciumphosphat, zusammen mit verschiedenen Sprengmitteln, wie Stärke (vorzugsweise Kartoffel- oder Tapiokastärke), Alginsäure und gewisse komplexe Silikate, zusammen mit Bindemitteln, wie Polyvinylpyrrolidon, Rohrzucker, Gelatine und Akazie. Zusätzlich sind Gleitstoffe, wie Magnesiumstearat, Natrium-laurylsulfat und Talk, häufig für Tablettierungszwecke nützlich. Feste Präparate einer ähnlichen Art können auch als Füllstoffe in gefüllten Weich- und Hartgelatine-kapseln verwendet werden; bevorzugte Materialien in dieser Beziehung würden auch Lactose oder Milchzucker und auch Polyäthylenglycole mit hohem Molekulargewicht umfassen. Wenn wäßrige Suspensionen und/oder Elixiere für die orale Verabreichung gewünscht werden, kann der essentielle aktive Bestandteil darin kombiniert werden mit verschiedenen Süß- oder Geschmacksmitteln, Färbungsmitteln oder Farbstoffen und erwünschtenfalls auch Emulgier- und/oder Suspendiermitteln, zusammen mit solchen Verdünnungsmitteln, wie Wasser, Äthanol, Propylenglycol, Glycerin und verschiedene ähnliche Kombinationen davon.

Alle hierin gezeigten Strukturangaben der Stereochemie stellen die absolute Stereochemie dar.

Ausführungsbeispiele

Die vorliegende Erfindung wird durch die folgenden Beispiele veranschaulicht. Es ist jedoch klar, daß die Erfindung nicht auf die Einzelheiten dieser Beispiele beschränkt ist. Alle Temperaturen werden in °C angegeben und sind Raumtemperatur, wenn nicht anders vermerkt. Jedes Abziehen der Lösungsmittel erfolgte im Vakuum. Alle Standardlösungen sind in Wasser, wenn nicht anders vermerkt. THF steht für Tetrahydrofuran; DMF steht für Dimethylformamid; DME steht für 1,2-Dimethoxyäthan; und DMSO steht für Dimethylsulfoxid. Alle Standard-alpha-Aminosäuren oder Derivate sind in der L-Form. Statin ist 3S,4S-4-Amino-3-hydroxy-6-methylheptansäure.

Beispiel 1

S-3-Cyclohexyl-2-(t-butoxycarbonylamino)-propionaldehyd

Methyl-S-3-Cyclohexyl-2-(t-butoxycarbonylamino)-propionat (51,2g, 0,179 Mol) wurde in 728ml trockenem Toluol gelöst und auf -78°C gekühlt. Diisobutylaluminiumhydrid (449ml von 1 M in Toluol, 0,449 Mol) wurde tropfenweise im Verlaufe einer Stunde zugesetzt, wobei -70°C bis -78°C aufrechterhalten wurde. Methanol (12ml) wurde bei -70°C zugesetzt, gefolgt von 608ml halbgesättigter Natrium-Kaliumtartrat-Lösung, und die Mischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt. Äther (300ml) wurde zugesetzt und die organische Schicht abgetrennt und mit 1l gesättigter Natrium-Kalium-tartrat-Lösung gewaschen. Die ursprüngliche wäßrige Schicht wurde mit 600ml frischen Äther extrahiert und mit 600ml frischer gesättigter Natrium-Kalium-tartrat-Lösung rückgewaschen. Die organischen Schichten wurden vereinigt, über MgSO₄ getrocknet und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt als ein Gummi erhalten wurde, verunreinigt mit Toluol auf Basis des ¹H-NMR, 45,6g; DC Rf 0,45 (1:3 Äthylacetat:Hexan); ¹H-NMR (CDCl₃) delta: 0,9 bis 2,3 (m), welches das t-Butyl-Singulett bei 1,4 einschließt, 3,0-4,8 (m), 4,9-5,2 (d), 9,6 (s).

Beispiel 2

Äthyl-4RS,5RS,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxy-carbonylamino)-4-hydroxy-2-hexinoat

Trockenes, frisch destilliertes THF (117ml) und Diisopropylamin (22,0ml, 0,156 Mol) wurden unter Stickstoff in einen mit der Flamme getrockneten Reaktionskolben gebracht und die erhaltene Lösung wurde auf -30°C abgekühlt und im Verlaufe von 5 Minuten mit Butyllithium (76,9ml von 1,6M in Hexan, 0,123 Mol) versetzt. Die Lösung wurde dann auf -78°C gekühlt und im Verlaufe von 20 Minuten tropfenweise mit Äthylpropionat (12,5ml, 0,123 Mol) versetzt, wobei eine Temperatur von -65°C bis -78°C aufrechterhalten wurde. Nach 30 Minuten bei -78°C wurde im Verlaufe von 20 Minuten die Titelverbindung des vorhergehenden Beispiels (19,52g, 0,0866 Mol) in 35ml THF zugesetzt, wobei abermals -56°C bis -78°C aufrechterhalten wurden. Nach 2 Stunden wurden 200ml 5:1 THF:Essigsäure zur Reaktionsmischung zugesetzt. Diese konnte sich auf Raumtemperatur erwärmen und wurde mit einem halben Volumen Äther und einem gleichen Volumen 10%iger Zitronensäure verdünnt.

Die organische Schicht wurde abgetrennt, der Reihe nach mit 2 x 200ml frischer 10%iger Zitronensäure, 200ml gesättigter Kochsalzlösung und 2 x 200ml gesättigter NaHCO₃ gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und vom Lösungsmittel befreit, wodurch ein dunkelrotes Öl erhalten wurde, 38,2g. Letzteres wurde an einer 10cm x 42cm Kolonne von Kieselgel mit DC-Überwachung und Elution mit 5l 1:9 Äthylacetat:Hexan chromatographiert. Nach 1500ml zur Entwicklung der Kolonne wurden 500ml Fraktionen aufgefangen. Die Fraktionen 29-37 wurden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt in Form eines Öls erhalten wurde, 15,3g; DC Rf 0,44 (3:7 Äthylacetat:Hexan); ¹H-NMR (CDCl₃) delta: 1,0-2,0 (m, 25H) umfassend das Singulett der t-Butylgruppe bei 1,5, 3,8-5 (m, 6H).

Beispiel 3**4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butyloxycarbonylamino)-gamma-hexanolacton**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (18,28 g) und 5% Pd/BaSO₄ (10,97 g) wurden mit 150 ml Äthylacetat vereinigt und 2 Stunden unter 4 Atmosphären Wasserstoffdruck hydriert. Der Katalysator wurde durch Filtration abgetrennt und das Filtrat vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Zwischenprodukt Äthyl-4RS,5S-6-Cyclohexyl-4-hydroxy-4-hydroxy-5-(t-butyloxyamino)hexanoat erhalten wurde, 19 g. Letzteres wurde in 250 ml 2,5%iger Essigsäure in Toluol aufgenommen, 2,5 bis 3 Stunden zum Rückfluß erhitzt, vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand an einer 10 cm × 30 cm Kolonne von Kieselgel unter Überwachung durch DC und Elution mit 4l 9:11 Äther:Hexan, 8l 1:1 Äther:Hexan, 2l 11:9 Äther:Hexan und schließlich 3l 3:2 Äther:Hexan chromatographiert, wobei 28 × 400 ml Fraktionen, 6 × 150 ml Fraktionen und schließlich 11 × 400 ml Fraktionen gesammelt wurden. Die Fraktionen 17–24 wurden vereinigt und zusammen mit Äther vom Lösungsmittel befreit, wodurch das vorherrschende und gewünschte, weniger polare 4S,5S-Titelprodukt in Form eines Öls erhalten wurde, 9,13 g; DC Rf 0,5 (7:3 Äther:Hexan). Das mehr polare, 4R,5S-Epimere des Titelproduktes wurde durch Entfernung des Lösungsmittels von den kombinierten Fraktionen 28–45 isoliert und kristallisierte durch Verreiben mit Hexan, 1,77 g; Schmp. 101,5–103,5°C.

Beispiel 4**2R,4S,5S- und 2S,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-2-(2-methyl-2-propenyl)-gamma-hexanolacton**

Trockenes frisch destilliertes THF (30 ml) und Diisopropylamin (3,51 ml, 2,52 g, 0,0249 Mol) wurden unter Stickstoff in einen mit der Flamme getrockneten Reaktionskolben gebracht. Die erhaltene Lösung wurde auf –50°C gekühlt und mit Butyllithium (13,9 ml von 1,6 M in Hexan, 0,0222 Mol) versetzt, und die Mischung wurde weiter auf –78°C gekühlt. Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (2,77 g, 0,0089 Mol) in 15 ml THF wurde im Verlaufe von 10 Minuten tropfenweise zugesetzt. Während weiteren 20 Minuten bei –78°C konnte sich das Enolat bilden, zu welchem Zeitpunkt 3-Brom-2-methyl-1-propen in 5 ml THF im Verlaufe von 10 Minuten zugesetzt wurde. Die Mischung wurde eine weitere Stunde bei –78°C gerührt, mit 5 ml gesättigter NH₄Cl abgeschreckt, auf Raumtemperatur erwärmt, mit einem halben Volumen Äther verdünnt, mit 2 × 50 ml 10%iger Zitronensäure, 2 × 50 ml gesättigter NaHCO₃ und 1 × 25 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und unter Bildung eines Öls vom Lösungsmittel befreit, 3,06 g, eine Mischung der Titlepimeren. Letztere wurden durch Chromatographie an 7 cm × 20 cm Kieselgel getrennt; Überwachung durch DC; Elution der Reihe nach mit 2l 1:9 Äther:Hexan, 4l 3:17 Äther:Hexan, 2l 1:4 Äther:Hexan, 2l 1:3 Äther:Hexan, 2l 7:13 Äther:Hexan und 2l 1:1 Äther:Hexan; Auffangen von 125 ml Fraktionen. Das weniger polare Titelprodukt mit der trans(2R)-Stereochemie wurde in den Fraktionen 30–48 gesammelt, vereinigt und vom Lösungsmittel befreit, wodurch dieses als Öl erhalten wurde, 1,17 g; DC Rf 0,45 (2:3 Äther:Hexan); ¹H-NMR (CDCl₃) delta: 1,4 (s, 9H), 1,8 (s, 3H), 0,3–3,0 (m, 18H), 3,6–4,0 (m, 1H), 4,69 (s, 1H), 4,75 (s, 1H), 4,1–4,8 (m, 2H). Die Fraktionen 55–76 lieferten das mehr polare Titelprodukt auch in Form eines Öls, 0,358 g, mit cis(2S)-Stereochemie; RC Rf 0,36 (2:3 Äther:Hexan); ¹H-NMR identisch mit demjenigen des weniger polaren Epimeren.

Beispiel 5**2R,4S,5S- und 2S,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-2-(2-methylpropyl)-gamma-hexanolacton**

Das weniger polare Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (1,17 g) und 10% Pd/C (0,351 g) wurden in 20 ml Äthylacetat vereinigt und während 2,5 Stunden bei 4 Atmosphären Druck hydriert. Der Katalysator wurde durch Filtration abgetrennt und das Filtrat vom Lösungsmittel befreit, wodurch das weniger polare Titelprodukt (ebenfalls mit trans, d. h. 2R-Stereochemie) in Form eines Öls erhalten wurde, das beim Stehen kristallisierte, 1,20 g; Schmp. 88–93°C; DC Rf 0,65 (1:1 Äther:Hexan), Rf 0,73 (2:1 Äthylacetat:Hexan). Das andere Isomere mit cis(2S)-Stereochemie wurde in gleicher Weise erhalten; DC Rf 0,59 (1:1 Äther:Hexan). In folgenden Beispielen, die das vorliegende weniger polare Epimere mit Rf 0,65 (1:1 Äther:Hexan) verwenden, ist die 2R-Stereochemie angegeben.

Beispiel 6**Benzyl-2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-hexanoat**

Das weniger polare 2R-Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (1,0 g, 2,72 mMol), DME (14 ml) und NaOH (4,4 ml von 5 N, 0,022 Mol) wurde, vereinigt, während 12 Stunden gerührt und dann vom organischen Lösungsmittel befreit. Der wäßrige Rückstand wurde mit Wasser (5 ml) verdünnt, mit einem gleichen Volumen Äther überschichtet, auf 0°C abgekühlt und mit 22 ml von 1 N HCl angesäuert, zu welchem Zeitpunkt die wäßrige Schicht trübe wurde. Die Ätherschicht wurde abgetrennt und die wäßrige Schicht (pH 2,0) mit einem gleichen Volumen frischen Äthers gewaschen. Die Ätherschichten wurden vereinigt, über MgSO₄ getrocknet und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Zwischenprodukt 2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexansäure als weißer Schaum erhalten wurde, 0,909 (2,36 mMol). Letzterer wurde zusammen mit K₂CO₃ (0,330 g, 2,36 mMol) in 20 ml DMF gebracht und auf 0°C gekühlt. Benzylbromid (0,308 ml, 0,443 g, 2,59 mMol) wurde zugesetzt und die gerührte Mischung auf Raumtemperatur erwärmen gelassen. Nach 4 Stunden wurde die Reaktionsmischung mit einem gleichen Volumen Äther verdünnt, mit 1 × 75 ml 10%iger Zitronensäure und 1 × 75 ml gesättigter NaHCO₃ gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und vom Lösungsmittel befreit, wodurch ein Öl erhalten wurde, 1,35 g. Letzteres wurde an 4 cm × 20 cm Kieselgel chromatographiert; Überwachung durch DC; Elution mit 1l 1:9 Äther:Hexan, 1l 1:4 Äther:Hexan und schließlich 1l 3:7 Äther:Hexan; und Auffangen von 23 ml Fraktionen. Die Fraktionen 46–75 wurden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit, wodurch kristallines Ausgangsmaterial erhalten wurden, 0,583 g, geeignet zur Wiederverwendung. Die Fraktionen 85–199 wurde vereinigt und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das vorliegende Titelprodukt als Öl erhalten wurde, 0,275 g; DC Rf 0,47 (1:1 Äther:Hexan); ¹H-NMR (CDCl₃): 0,3–2,0 (m, 24H), 1,4 (s, 9H), 2–2,4 (m, 1H), 2,6–3,0 (m, 1H), 3,2–3,7 (m, 2H), 4,65 (d, 1H), 5,1 (s, 2H), 7,3 (s, 5H).

Beispiel 7**Benzyl-2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-(t-butoxy-carbonylamino)-2-(2-methylpropyl)-4-(2-tetrahydropyranlyoxy)hexanoat**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (0,442 g, 0,929 mMol), 3,4-Dihydro-2H-pyran (97%ig, 0,255 ml, 0,235 g, 2,79 mMol) und Pyridinium-p-tosylat (23 mg, 0,093 mMol) wurden in 6,5 ml CH₂Cl₂ vereinigt und in einem mit einem Stopfen verschlossenen Kolben 18 Stunden gerührt und dann vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde in 100 ml Äther aufgenommen, mit 2 × 100 ml halbgesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und zusammen mit CH₂Cl₂ vom Lösungsmittel befreit und im Hochvakuum getrocknet, wodurch das vorliegende Titelprodukt als Öl erhalten wurden, 0,565 g; DC Rf 0,59 (2:3 Äther:Hexan).

Beispiel 8**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-2-(2-methylpropyl)-4-(2-tetrahydropyranlyoxy)-hexansäure**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (0,565 g) und 10% Pd/C (0,170 g) wurden in 10 ml Äthylacetat vereinigt und 2,5 Stunden bei 4 Atmosphären Druck hydriert. Der Katalysator wurde durch Filtration abgetrennt und das Filtrat zusammen mit CH_2Cl_2 vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt als Öl erhalten wurde, 0,55 g, das die theoretische Ausbeute (0,474 g) an Produkt enthielt; DC Rf 0,0 (2:3 Äther:Hexan); 0,35 (1:1 Äthylacetat:Hexan); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) enthält 9,5–10,1 (bs, 1 H, COOH) und keine Peaks, die von einer Benzylgruppe stammen.

Dieses Beispiel wurde mit einem 300 mg Ansatz wiederholt, wobei nach Trocknung des Produkts im Hochvakuum 250,5 mg erhalten wurden (quantitative Ausbeute an Titelprodukt als weißer Schaum).

Beispiel 9**N-[N-alpha-(t-Butoxycarbonyl)-N-epsilon-(benzyloxycarbonyl)lysyl]phenylalanin-benzylester**

N-Hydroxybenzotriazol (162 mg, 1,2 mMol), N-Methylmorpholin (101,2 mg, 1 mMol), L-Phenylalanin-benzylester-p-toluolsulfonat (428 mg, 1 mMol), N-alpha-(t-Butyloxycarbonyl)-N-epsilon-benzyloxycarbonyl-L-lysin (456 mg, 1,2 mMol) und 1-Cyclohexyl-3-(2-morpholinoäthyl)carbodiimid-metho-p-toluolsulfonat (635 mg, 80% rein, 1,2 mMol) wurden der Reihe nach bei 0°C in Methylenchlorid (50 ml) gelöst. Die erhaltene Lösung wurde 19 Stunden bei 20°C gerührt. Die Reaktionsmischung wurde dann der Reihe nach mit 75 ml 5,5%iger wäßriger HCl, 75 ml gesättigter wäßriger NaHCO_3 und 75 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt als trockener Schaum erhalten wurde, 0,669 g; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) enthält delta 1,5 (s, 9H, t-Butyl). Das Produkt wurde ohne weitere Reinigung direkt im nächsten Beispiel verwendet.

Beispiel 10**N-[N-epsilon-(Benzyloxycarbonyl)lysyl]-phenylalanin-benzylester-hydrochlorid**

Das Produkt der vorhergehenden Stufe (0,650 g) wurde in 7 ml von 3,7 N HCl in Dioxan gelöst, 1 Stunde stehen gelassen und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt erhalten wurde, 0,583 g; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) enthält delta 5,2 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$).

Beispiel 11**N-((N-alpha-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]-N-epsilon-(benzyloxycarbonyl)lysyl))-phenylalanin-benzylester-hydrochlorid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (0,560 g, 1,01 mMol) wurde mit 5 ml CH_2Cl_2 gerührt und unter Stickstoff auf 0°C abgekühlt. Triäthylamin (0,211 ml, 1,51 mMol) und dann das Produkt von Beispiel 8 (0,474 g, 1,01 mMol) in 5 ml CH_2Cl_2 wurden zugesetzt. Schließlich wurden 1-Hydroxybenzotriazol (0,204 g, 1,51 mMol) und dann Dicyclohexylcarbodiimid (0,208 g, 1,01 mMol) in 5 ml CH_2Cl_2 zugesetzt. Die Reaktionsmischung konnte sich auf Raumtemperatur erwärmen und wurde 18 Stunden gerührt. Die erhaltene Suspension wurde filtriert und das Filtrat von CH_2Cl_2 befreit, mit 15 ml Äthylacetat verdünnt und neuerlich filtriert. Das zweite Filtrat wurde mit 2 x 10 ml 10%iger Zitronensäure, 2 x 10 ml gesättigter NaHCO_3 und 1 x 10 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und zusammen mit CH_2Cl_2 vom Lösungsmittel befreit, wodurch als Zwischenprodukt der Tetrahydro-2-pyranyläther des Titelproduktes erhalten wurde, 0,97 g. Letzterer wurde 20 Stunden mit 35 ml 70%iger Essigsäure gerührt. Die Mischung wurde auf ein kleines Volumen eingeeengt und der Rückstand zusammen mit Toluol vom Lösungsmittel befreit, wodurch ein fester weißer Rückstand erhalten wurde. Letzterer wurde in 20 ml CH_2Cl_2 aufgenommen, mit 1 x 10 ml gesättigter Kochsalzlösung und 2 x 10 ml gesättigter NaHCO_3 gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und vom Lösungsmittel unter Bildung eines weißen Feststoffs befreit, 1,02 g, der an 7 cm x 15 cm Kieselgel unter Elution mit 2 l 0,5%igem Methanol in CHCl_3 und Überwachung mit DC chromatographiert wurde, wobei 125 ml Fraktionen aufgefangen wurden. Das Titelprodukt wurde als weißer Feststoff erhalten, indem die vereinigten Fraktionen 29–40 vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand mit Äther verrieben wurde, 0,497 g; Schmp. 157–159°C; DC Rf 0,39 (1:1 Äthylacetat:Hexan); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) enthält 1,4 (s, 9H, t-Butyl) und 6,5–7,4 (m, 15H, aromatisch).

Beispiel 12**N-alpha-((2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-((N-t-butoxy-carbonylphenylalanyl)histidyl)amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl))-N-epsilon-((benzyl-oxycarbonyl)lysyl)-phenylalanin-benzylester**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (250 mg, 0,282 mMol) wurde mit 3 ml Trifluoressigsäure, geschützt vor Feuchtigkeit durch einen Trockenaufsatz, gerührt und auf 0°C abgekühlt. Nach 35 Minuten wurde das Reaktionsgemisch zusammen mit Äther vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Zwischenprodukt N-((N-alpha-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]-N-epsilon-(benzyloxycarbonyl)lysyl))-phenylalanin-benzylester-trifluoacetat-Salz als weißer Schaum erhalten wurde, 0,291 g. Letzterer wurde unter N_2 in 2 ml CH_2Cl_2 aufgenommen, auf 0°C gekühlt und der Reihe nach mit Triäthylamin (0,0471 ml, 0,0342 g, 0,338 mMol), 1-Hydroxybenzotriazol (0,0571 g, 0,423 mMol), N-alpha-[N-(t-Butoxycarbonyl)phenylalanyl]-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)-histidin (149,7 mg, 0,296 mMol) und Dicyclohexylcarbodiimid (61,1 mg, 0,296 mMol) in 5 ml CH_2Cl_2 versetzt. Die Reaktionsmischung konnte sich auf Raumtemperatur erwärmen und wurde 18 Stunden gerührt. Die erhaltene Suspension wurde vom Lösungsmittel befreit, der Rückstand in 5 ml Äthylacetat suspendiert und zur Entfernung von Dicyclohexylharnstoff filtriert, wodurch 373 g Feststoff erhalten wurde, wobei im DC festgestellt wurde, daß es ebenfalls beträchtliche Mengen an gewünschtem Zwischenprodukt enthielt, das die Histidinimidazol-(t-butoxycarbonyl)-Schutzgruppe am gamma-Histidinstickstoff behalten hatte; DC Rf 0,51 (1:19 Methanol: CHCl_3). Das Filtrat wurde zu 140 mg Rückstand eingeeengt, enthaltend weiteres Zwischenprodukt gemäß DC und $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3), das für die zwei t-Butylgruppen Singulets bei 1,3 und 1,6 und für das Methylen der Benzylgruppe ein Singulett bei 5,1 zeigte. Beide Zwischenprodukte enthaltenden Materialien wurden vereinigt und unter Rühren unter Stickstoff während 3 Stunden mit 70 ml einer gesättigten Lösung von Dimethylamin in CHCl_3 behandelt. Die Reaktionsmischung wurde zu einem von Amingeruch freien Feststoff eingeeengt und an 7 cm x 15 cm Kieselgel chromatographiert, wobei Gradientelution mit 2- bis 5%igem Methanol in CHCl_3 vorgenommen und mit DC überwacht wurde. Die Produktfraktionen wurden vereinigt, vom Lösungsmittel befreit und mit Hexan/Äther verrieben, wodurch das Titelprodukt in Form eines weißen Feststoff erhalten wurde, 0,182 g; DC Rf 0,85 (1:1:1:1 Äthylacetat:Butanol:Essigsäure: H_2O), Rf 0,24 (1:19 Methanol: CHCl_3); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 mit einem kleinen Anteil an CD_3OD) enthält 1,3 (s, 9H, t-Butyl), 6,8 (s, 1H) und 7,5 (s, 1H)-Imidazol-Protonen und 5,0 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$).

Beispiel 13**N-alpha-(2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-(t-butoxy-carbonylphenylalanyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl)lysyl-phenyl-alanin-diacetat**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (70 mg) und 10%iges Pd/C (70 mg) wurden mit 10 ml 4:1 Methanol:Essigsäure vereinigt und 2 Stunden bei 4 Atmosphären hydriert. Der Katalysator wurde durch Filtration entfernt und das Filtrat zusammen mit Toluol vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt in Form eines weißen Pulvers erhalten wurde, 73 mg; DC Rf 0,63 (1:1:1:1 Äthylacetat:Butanol:Essigsäure:H₂O), Rf 0,0 (1:19 Methanol:CHCl₃); ¹H-NMR (DMSO-d₆) enthält 1,3 (s, 9H, t-Butyl), keine CH₂-Protonen und aromatische Protonen bei 6,8–7,8 ppm; Schmp. Zers. über 200°C.

Beispiel 14**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl-amino)-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N-methyl-hexanamid (Methode A)**

2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-2-(2-methylpropyl)-gamma-hexanolacton (197 mg, 0,536 mMol, Beispiel 5) wurde in 1 ml Wasser gelöst und in einem Eiswasserbad gekühlt. In die kalte Lösung wurde während 3 Minuten CH₃NH₂ eingeleitet, dann mit einem Stopfen verschlossen und 2 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen, nach welcher Zeit das DC anzeigte, daß die Reaktion vollständig war. Die Mischung wurde vom Lösungsmittel befreit und im Hochvakuum getrocknet, was das Titelprodukt als weißen festen Schaum lieferte, 204 mg; DC Rf 0,31 (3:1 Äthylacetat:Hexan).

Beispiel 15**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N-methylhexanamid-hydrochlorid**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (199 mg, 0,499 mMol) wurde in 4N HCl in Dioxan (1 ml) gelöst und 25 Minuten unter N₂ gerührt, zu welchem Zeitpunkt das DC zeigte, daß das gesamte Ausgangsmaterial verbraucht war. Die Reaktionsmischung wurde dann vom Lösungsmittel befreit und im Hochvakuum getrocknet, wodurch das Titelprodukt als nicht ganz trockenes, schwach gelbes Pulver erhalten wurde, 185 mg; DC Rf 0,20 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure; die DC-Platte wurde vor der Elution mit NH₃-Dämpfen behandelt, um das HCl-Salz in die freie Base umzuwandeln).

Beispiel 16**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-(N-(t-butoxycarbonyl)-phenylalanyl)norleucyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N-methylhexanamid**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (61,8 mg, 0,185 mMol), CH₂Cl₂ (0,5 ml), Triäthylamin (0,033 ml, 0,240 mMol), [N-(t-Butoxycarbonyl)phenylalanyl]norleucin (70 mg, 0,185 mMol), 1-Hydroxybenzotriazol (43 mg, 0,278 mMol) und Dicyclohexylcarbodiimid (38 mg, 0,185 mMol) wurden der Reihe nach in einen 2-ml-Kolben gebracht. Die Mischung wurde 18 Stunden bei 0°C gerührt und filtriert. Das Filtrat wurde mit 2,5 ml CH₂Cl₂ verdünnt, mit 2 × 3 ml 1 N NaOH und 1 × 3 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und vom Lösungsmittel befreit unter Bildung eines fast weißen Pulvers. Letzteres wurde an 2 g Kieselgel mit Gradientelution mit je 50 ml 0,5-, 1-, 2-, 4- und 6%igem Äthanol in CH₂Cl₂ chromatographiert, wodurch 21,1 mg weißes Pulver, verunreinigt mit Dicyclohexylharnstoff (DCU) erhalten wurde. Letzteres wurde mit den das Produkt und DCU enthaltenden Feststoffen, die aus der Reaktionsmischung zu Beginn erhalten wurden, vereinigt und an 15 g Kieselgel mit Gradientelution mit je 500 ml 1, 2, 3 und 4%igem Äthanol in CH₂Cl₂ chromatographiert. Die von DCU freien Produktfraktionen wurden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt erhalten wurde, 60,4 mg; ¹H-NMR (DMSO-d₆) 300 MHz (ppm) enthält 0,9–0,95 (m, 9H, C(CH₃)₂ und C-CH₃); 1,33 (s, 9H, Boc); 2,56 (d, 3H, NCH₃; J = ca. 5 Hz); 3,8, 4,18 und 4,32 (m, 1H, jedes); 4,62 (d, 1H, J = ca. 4 Hz); 7,06, 7,46 und 7,95 (d, 1H, jedes, J = ca. 8 Hz); 7,68 (q, 1H, J = ca. 0,5 Hz); 7,2–7,4 (m, aromatisch).

Beispiel 17**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-(2-tetrahydropyranoxy)-2-(2-methylpropyl)-N-methylhexanamid**

Das Titelprodukt von Beispiel 8 (211 mg, 0,449 mMol) wurde in 1 ml trockenem THF gelöst und unter Stickstoff auf –50°C gekühlt. Unter Rühren wurde N-Methylmorpholin (0,0545 ml, 0,494 mMol) zugesetzt und nach 2–3 Minuten wurde tropfenweise Chlorameisensäureisobutylester (0,0641 ml, 0,494 mMol) zugesetzt. Nach weiteren 10 Minuten bei –50°C wurde die Temperatur auf –30°C erhöht und im Verlauf von 20 Minuten tropfenweise mit Methylamin (37,6 mg, 1,21 mMol) in 0,068 ml THF versetzt. Nach 10 Minuten wurde die Mischung auf Raumtemperatur erwärmt, mit 5 ml Äthylacetat verdünnt, mit 3 × 5 ml gesättigter NaHCO₃ und dann mit 1 × 5 ml H₂O gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und zu einem Öl eingedampft, 245 mg. Letzteres wurde an 5 g Kieselgel chromatographiert, wobei mit 1:1 Äther:Hexan eluiert und mit DC überwacht wurde, wodurch das Titelprodukt in Form eines weißen festen Schaums erhalten wurde, 102,2 mg; DC Rf 0,2 und 0,25 (3:1 Äther:Hexan), was 1:1-Epimere in der Tetrahydropyranyläther-Seitenkette zeigt.

Beispiel 18**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl-amino)-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N-methylhexanamid (Methode B)**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (98,6 mg, 0,204 mMol) wurde in 1,5 ml 2:1 Essigsäure:H₂O gelöst und 6 Stunden gerührt. Dann wurde es vom Lösungsmittel befreit und mit 2 × CH₃C₆H₅ eingedampft, um ein Öl zu erhalten, 99,2 mg. Letzteres wurde an 5 g Kieselgel chromatographiert, wobei mit 200 ml 1:1 und dann 100 ml 3:1 Äthylacetat:Hexan eluiert und mit DC überwacht wurde. Die reinen Produktfraktionen wurden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt als weißer fester Schaum erhalten wurde, 61,5 mg; DC Rf 0,22 (2:1 Äthylacetat:Hexan); ¹H-NMR (CDCl₃) 300 MHz (ppm) enthält 0,9 (d, 6H), 1,46 (s, 9H), 2,82 (d, 3H); identisch mit dem Titelprodukt von Beispiel 14.

Das vorliegende Produkt (59,2 mg) wurde durch die Methode von Beispiel 15 in 2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N-methylhexanamid-hydrochlorid umgewandelt, 50,0 mg, das identisch war mit dem Produkt jenes Beispiels.

Beispiel 19**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-(N-t-butoxy-carbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxy-carbonyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methyl-propyl)-N-methylhexanamid**

Das Titelprodukt von Beispiel 15 (47,3 mg, 0,141 mMol; hergestellt gemäß den unmittelbar vorhergehenden Beispielen) und N-alpha-[N-(t-Butoxycarbonyl)phenylalanyl]-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidin (74,4 mg, 0,148 mMol) in 1 ml CH₂Cl₂ wurden nach der Methode von Beispiel 16 in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt. Nach der Filtration der Reaktionsmischung wurde das Filtrat vom CH₂Cl₂ befreit und mit 1 ml Äthylacetat verdünnt, mit 2 × 1 ml 1 N NaOH und 1 × 1 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und zu einem Schaum (123,6 mg) eingedampft, der an 4 g Kieselgel chromatographiert wurde, wobei mit je 100 ml 0,5-, 1-, 2-, 4- und 6%igem Äthanol in CH₂Cl₂ eluiert und mit DC überwacht wurde. Die reinen Produktfraktionen wurden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt in Form eines weißen festen Schaums erhalten wurde, 48,4 mg; DC Rf 0,58 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure).

Beispiel 20**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-(N-t-butoxy-carbonylphenylalanyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N-methylhexanamid**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (81,1 mg, 0,104 mMol) wurde in 1 ml Methanol gelöst und unter Stickstoff während einer Stunde mit etwa 5 mg K₂CO₃ gerührt. Das K₂CO₃ wurde mit Essigsäure neutralisiert und die Mischung annähernd zur Trockene eingeeengt, mit Wasser verdünnt und an einem Ionenaustauscher (5 g RP C-18) entsalzt, wobei mit dem zweifachen Kolonnenvolumen von 2:3 Methanol:H₂O und dann mit dem vierfachen Kolonnenvolumen von Methanol eluiert wurde. Die nicht-wässrigen Fraktionen wurden vereinigt, vom Lösungsmittel befreit und im Hochvakuum getrocknet, wodurch das Titelprodukt als weißes Pulver erhalten wurde, 63,5 mg; DC Rf 0,03 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure); ¹H-NMR (DMSO-d₆) 300 MHz (ppm) enthaltend: 0,90 und 0,95 (Dubletten, 6H total, J = 7 Hz, C(CH₃)₂); 1,30 (s, 9H, C(CH₃)₃); 2,56 (d, 3H, J = ca. 5 Hz, NCH₃); 3,72 (m, 1H); 4,14 (m, 1H); 4,47 (m, 1H); 7,53 (s, 1H, ein Imidazolyl CH); 6,86, 7,12, 7,76 und 8,22 (m, 1H jedes, NH); 7,16–7,40 (m, aromatisch).

Beispiel 21**2-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl-amino)-4-(2-tetrahydropyranlyoxy)-2-(2-methyl-propyl)hexanoyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin**

Das Titelprodukt von Beispiel 8 (0,243 g, 0,517 mMol), Tetrahydroisochinolin (0,044 ml, 0,069 g, 0,517 mMol) und 1-Hydroxybenzotriazol (70 mg, 0,517 mMol) wurden mit 5 ml CH₂Cl₂ vereinigt und auf 0°C gekühlt. Dicyclohexylcarbodiimid (107 mg, 0,517 mMol) wurde zugesetzt und die Mischung 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, filtriert, das Filtrat vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand mit 5 ml Äthylacetat verrieben und neuerlich filtriert. Das zweite Filtrat wurde mit 1 × 5 ml 5%iger HCl, 1 × 5 ml gesättigter NaHCO₃ und 1 × 5 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄), vom Lösungsmittel befreit und der zweite Rückstand an 36 g Kieselgel unter Verwendung von 1% Methanol in CHCl₃ als Elutionsmittel chromatographiert, 229 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthaltend delta 1,4 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃).

Beispiel 22**2-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]-1,2,3,4-tetrahydro-isochinolin-hydrochlorid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (176 mg, 0,301 mMol) wurde nach der Methode von Beispiel 15 zum nicht ganz trockenen Titelprodukt umgewandelt, 153 mg; ¹H-NMR (CD₃OD) enthält delta 1,2 ppm (6H, J = 7, -CH(CH₃)₂).

Beispiel 23**2-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(N-alpha-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]-1,2,3,4-tetrahydro-isochinolin**

Das nasse Produkt des vorhergehenden Beispiels (153 mg, 0,301 mMol angenommen) und N-alpha-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidin (186 mg, 0,367 mMol) wurden nach der Methode von Beispiel 16 unter Verwendung von N-Methylmorpholin anstelle von Triäthylamin in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt. Die Reaktionsmischung wurde filtriert und das Filtrat an Kieselgel unter Verwendung von 2,5% Methanol in CHCl₃ als Elutionsmittel chromatographiert, wodurch das vorliegende Titelprodukt erhalten wurde, 286 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃).

Beispiel 24**2-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(N-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl)histidyl)amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (286 mg) wurde während 6 Tagen mit 10 ml 4:1 Essigsäure:H₂O gerührt, dann mit Hilfe von Toluol vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand an 20 g Kieselgel unter Verwendung von 10% Methanol in CHCl₃ als Elutionsmittel chromatographiert, wodurch das Titelprodukt, das weniger polare von 2 Produkten erhalten wurde, 110 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält 1,4 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃).

Beispiel 25**N-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-(2-tetrahydropyranlyoxy)-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]prolin-methylester**

Mit Ausnahme der Anwendung einer Reaktionszeit von 2 Stunden bei 0°C und von 16 Stunden bei Raumtemperatur, der Verwendung von N-Methylmorpholin anstelle von Triäthylamin und der Verwendung von 1% Methanol in CHCl₃ als Elutionsmittel bei der Chromatographie wurde die Methode des Beispiels 19 verwendet, um das Produkt von Beispiel 8 (300 mg, 0,639 mMol) und Prolinmethylester-hydrochlorid (106 mg, 0,639 mMol) in das Titelprodukt umzuwandeln, 215 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃); DC Rf 0,7 (2,5% CH₃OH in CHCl₃).

Beispiel 26**N-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]-prolin-methylester**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (165 mg) wurde 18 Stunden in 10 ml 4:1 Essigsäure:H₂O gerührt, vom Lösungsmittel befreit und mit 2 × 5 ml Toluol und 1 × 5 ml CHCl₃ eingedampft, um das etwas nasse Titelprodukt als Öl zu erhalten, 166 mg; DC Rf 0,6 (2,5% CH₃OH in CHCl₃).

Beispiel 27**N-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]prolin-methylester**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (166 mg, naß) wurde mit 3,7 HCl in Dioxan (1 ml) vereinigt. Nach 2 Stunden wurde die Mischung vom Lösungsmittel befreit, in 5 ml Acetylacetat aufgenommen, mit 1 × 5 ml gesättigter NaHCO₃ und dann mit 1 × 5 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und abermals vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt erhalten wurde, ¹H-NMR (CD₃OD) enthält delta 3,8 ppm (s, 3 H, CO₂CH₃).

Beispiel 28**N-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(N-alpha-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidyl)amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]prolin-methylester**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (123 mg, 0,334 mMol), N-alpha-(N-t-Butoxycarbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidin (168 mg, 0,334 mMol), 1-Hydroxybenzotriazol (45 mg, 0,334 mMol) und Dicyclohexylcarbodiimid (69 mg, 0,334 mMol) wurden bei 0°C in 5 ml CH₂Cl₂, geschützt mit einem CaCl₂-Aufsatz, vereinigt und 18 Stunden bei dieser Temperatur gerührt. Dann wurde vom Lösungsmittel befreit, der Rückstand mit 5 ml Äther verrieben und filtriert. Das Ätherfiltrat wurde zu einem Rückstand eingeengt (230 mg), der an Kieselgel unter Verwendung von 1% CH₃OH in CHCl₃ als Elutionsmittel chromatographiert wurde, wodurch das gereinigte Titelprodukt erhalten wurde, 110 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃).

Beispiel 29**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl)histidyl]amino-2-(2-methylpropyl)-gamma-hexanolacton**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels wurde nach der Methode des Beispiels 26 in N-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(N-alpha-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl)histidyl)amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]prolin-methylester umgewandelt, 110 mg; ¹H-NMR zeigte die Entfernung der Histidin-t-butoxycarbonyl-Schutzgruppe. Dieses Zwischenprodukt bildete beim Chromatographieren an Kieselgel mit 1:24 CH₃OH:CHCl₃ unter Abspaltung des Prolinmethylesters das Titelprodukt, 51 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃), aber keinen Methylester-Peak; IR (CDCl₃) enthält Lactoncarbonyl bei 1785 cm⁻¹.

Beispiel 30**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-(N-t-butoxy-carbonylphenylalanyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanamid**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (23,7 mg) in 0,5 ml Methanol wurde bei 0°C mit überschüssigem trockenem NH₃ behandelt. Nach etwa 10 Minuten wurde die Reaktionsmischung vom Lösungsmittel befreit, der Rückstand mit Äther verrieben und das Titelprodukt durch Filtration als weißer Feststoff gewonnen, 23 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃).

Beispiel 31**N-[N-alpha-(t-Butoxycarbonyl)-N-epsilon-(benzyloxycarbonyl)lysyl]statin-äthylester**

Statin-äthylester-hydrochlorid (0,467 g, 0,00195 Mol), N-alpha-(t-Butoxycarbonyl)-N-epsilon-(benzyloxycarbonyl)lysin (0,198 g, 0,00195 Mol), N-Methylmorpholin (0,215 ml, 198 mg, 0,00195 Mol), 1-Hydroxybenzotriazol (264 mg, 0,00195 Mol) und Dicyclohexylcarbodiimid (403 mg, 0,00195 Mol) in 25 ml CH₂Cl₂ wurden nach der Methode des Beispiels 19, wobei chromatographische Reinigung unnötig war, in das Titelprodukt in Form eines festen Schaums umgewandelt, 0,704 g; DC Rf 0,65 (9:1 CHCl₃:CH₃OH); ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃).

Beispiel 32**N-[N-epsilon-(Benzyloxycarbonyl)lysyl]-statin-äthylester-hydrochlorid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (0,805 g, 0,00142 Mol) wurde 2 Stunden in 10 ml 3,7 N HCl in Dioxan gerührt, vom Lösungsmittel befreit, und der Rückstand wurde mit Äther verrieben und filtriert, wodurch das Titelprodukt erhalten wurde, 0,650 g; ¹H-NMR (CD₃OD) delta 5,2 ppm (s, 2H, Benzyl-CH₂).

Beispiel 33**N-[N-alpha-(2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxy-carbonylamino)-4-(2-tetrahydropyranlyoxy)-2-(2-methylpropyl)hexanoyl)-N-epsilon-(benzyloxy-carbonyl)lysyl]statin-äthylester**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (332 mg, 0,662 mMol) und das Produkt von Beispiel 8 (311 mg, 0,662 mMol) wurden nach dem Verfahren von Beispiel 28 unter Verwendung von 0,5% Methanol in CHCl₃ als Elutionsmittel zum chromatographierten Titelprodukt umgewandelt, 300 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,4 (s, 9H, C(CH₃)₃).

Beispiel 34**N-[N-alpha-(2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxy-carbonylamino)-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-hexanoyl)-N-epsilon-(benzyloxycarbonyl)lysyl]-statin-äthylester**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (300 mg) wurde nach dem Verfahren von Beispiel 26 in das Titelprodukt übergeführt, mit 2 × 10 ml Toluol vom Lösungsmittel befreit und im Hochvakuum getrocknet, 200 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃).

Beispiel 35**N-[[N-alpha-(2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl)-N-epsilon-(benzyloxycarbonyl)lysyl]statin-äthylester**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (200 mg) und 10 ml 3,7 N HCl in Dioxan wurden 2 Stunden gerührt und vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde mit Äther verrieben und ein weißer Feststoff durch Filtration gewonnen. Chromatographie dieses Feststoffs an 35 g Kieselgel unter Verwendung von 1:19 CH₃OH:CHCl₃ lieferte das HCl-freie Titelprodukt, 52 mg; ¹H-NMR (CD₃OD) enthält delta 5,2 (s, 2H, Benzyl-CH₂).

Beispiel 36**N-[[N-alpha-(2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-((N-alpha-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidyl))amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]-N-epsilon-(benzyloxy-carbonyl)lysyl]statin-äthylester**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (52 mg, 0,0709 mMol) und N-alpha-(N-t-Butoxycarbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidin (36 mg, 0,0709 Mol) wurden, mit Ausnahme der Verwendung von 2 Äquivalenten 1-Hydroxybenzotriazol und der Verwendung von 2,5% CH₃OH in CHCl₃ als Elutionsmittel, in das chromatographierte Titelprodukt umgewandelt, 28 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃); Hochdruckflüssigkeitschromatographie: Retentionszeit 10,28 Minuten (Gegenphasen C 18 Kolonne, Elution mit 1:1 Acetonitril:pH 2,1 Phosphatpuffer mit 3 ml/Minute).

Beispiel 37**N[[N-alpha-(2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(N-butoxycarbonylphenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]-N-epsilon-(benzyloxycarbonyl)lysyl]statin-äthylester**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (28 mg) wurde nach der Methode von Beispiel 26 in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt, 22 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) zeigte den Verlust der Imidazol-t-butoxycarbonyl-Schutzgruppe, enthält jedoch delta 1,4 ppm (s, 9H) wegen der nichtentfernten t-Butoxycarbonyl-Gruppe.

Beispiel 38**N-[[N-alpha-(2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]lysyl]statin-äthylester**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (22 mg) wurde 3 Stunden in 2 ml Äthanol über 10%igem Pd/C bei Atmosphärendruck hydriert. Der Katalysator wurde durch Filtration über Diatomeerde mit Waschen mit 2 x 1 ml Äthanol abgetrennt. Das mit der Waschflüssigkeit vereinigte Filtrat wurde zu einem glasartigen Produkt eingedampft und durch Verreiben mit einer minimalen Menge Äther in ein weißes, filtrierbares Pulver umgewandelt, 13 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,5 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃).

Beispiel 39**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-2-benzyl-gamma-hexanolacton**

Trockenes Diisopropylamin (2,48 ml, 0,0177 Mol; destilliert über CaH₂) in trockenem THF (7,4 ml, destilliert über K) wurde unter Stickstoff auf 0°C abgekühlt. Während 5 Minuten wurde tropfenweise Butyllithium (11,0 ml von 1,62 M in Hexan, 0,0177 Mol) zugesetzt. Nach dem Rühren während 15 Minuten bei 0°C wurde die Mischung auf -78°C abgekühlt und während 5 Minuten das weniger polare 4S,5S-Titelprodukt von Beispiel 3 (3,20 g, 0,0074 Mol) in 3,7 ml trockenem THF zugesetzt. Nach Rühren während weiterer 30 Minuten bei -78°C wurde während 5 Minuten tropfenweise Benzylbromid (0,923 ml, 0,0078 Mol) in 3,7 ml trockenem THF zugesetzt. Nach 1 Stunde bei -78°C wurde die Reaktion durch Zusatz von 10 ml gesättigter NH₄Cl abgebrochen, auf Raumtemperatur erwärmt, mit 25 ml Äther verdünnt und die Schichten getrennt. Die organische Schicht wurde mit 2 x 15 ml gesättigter NaHCO₃ gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und zu einem Öl eingeengt (3,29 g). Das Öl wurde an 150 g Kieselgel unter Verwendung von 2,5 Liter 1:9 Äthylacetat:Hexan als Elutionsmittel und Überwachung durch DC chromatographiert. Die reinen Produktfraktionen wurden vereinigt und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das gereinigte Titelprodukt in Form eines weißen öligen Feststoffs erhalten wurde, 1,46 g; DC Rf 0,60 (1:1 Äthylacetat:Hexan). Das mehr polare Ausgangsmaterial (0,91 g gelbes Öl, etwa 70% rein, DC Rf 0,4 im gleichen System) wurde ebenfalls aus der Kolonne gewonnen.

Beispiel 40**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl-amino)-4-hydroxy-2-benzyl-N-methylhexanamid**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (157 mg) wurde in 2 ml CH₃OH gelöst, auf 0°C gekühlt und es wurde während 3 Minuten CH₃NH₂ durchgeleitet. Der Kolben wurde mit einem Stopfen verschlossen und 1,5 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen, mit 2 x 2 ml Äther vom Lösungsmittel befreit und im Hochvakuum getrocknet, wodurch das Titelprodukt als weißer, fester Schaum erhalten wurde, 164 mg; DC Rf 0,17 (1:1 Äthylacetat:Hexan), Rf 0,29 (3:1 Äthylacetat:Hexan); ¹H-NMR, (CDCl₃, 300 MHz) zeigte die erwarteten Peaks für C(CH₃)₃ (s, 9H), N-CH₃ (d, 3H), aromatische Resonanzen und t-Butoxycarbonyl-NH (d, 1H).

Beispiel 41**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-benzyl-N-methylhexanamid-hydrochlorid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (159 mg) wurde in 2 ml 4 N HCl in Dioxan gelöst, unter N₂ 0,5 Stunden gerührt, eingedampft, mit 3 x 2 ml Äther vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand im Hochvakuum zum Titelprodukt in Form eines schwach gelben Pulvers getrocknet, 135 mg; DC 0,20 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure; die Platte mit aufgetragener Probe wurde NH₃ ausgesetzt, um das HCl-Salz vor der Elution zu neutralisieren).

Beispiel 42**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxy-carbonyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-benzyl-N-methylhexanamid**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (123 mg, 0,333 mMol), CH₂Cl₂ (1 ml), Triäthylamin (0,060 ml, 0,433 mMol), N-alpha-(N-t-Butoxycarbonylphenylalanyl)-N-(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidin (176 mg, 0,350 mMol), 1-Hydroxybenzotriazol (84 mg, 0,550 mMol) und Dicyclohexylcarbodiimid (72 mg, 0,350 mMol) wurden der Reihe nach bei 0°C vereinigt und 16 Stunden

unter Stickstoff bei dieser Temperatur gerührt. Das Nebenprodukt DCU wurde durch Filtration unter Waschen mit 3 ml CH₂Cl₂ abgetrennt. Das mit der Waschflüssigkeit vereinigte Filtrat wurde mit 2 × 3 ml 1 N NaOH und dann mit 1 × 3 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄), zu 342 mg blaß weißem Feststoff eingengt und an 20 g Kieselgel unter Anwendung von Gradientelution mit je 250 ml 0,5, 1, 2, 4 und 6% Äthanol in CH₂Cl₂ und unter Überwachung mit DC chromatographiert, wodurch das gereinigte Titelprodukt erhalten wurde, 154 mg; DC Rf 0,55 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure).

Beispiel 43**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylphenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-benzyl-N-methyl-hexanamid**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (147 mg) wurde unter Stickstoff während 7 Stunden mit 1,5 ml 4:1 Essigsäure: H₂O gerührt, dann mit 3 × 3 ml Äther vom Lösungsmittel befreit und im Hochvakuum getrocknet, wodurch das Titelprodukt als weißes Pulver erhalten wurde, 135 mg; DC Rf 0,05 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure); ¹H-NMR (DMSO-d₆), 250 MHz enthält delta (ppm): 1,32 (s, 9H, t-Butyl), 3,72, 4,15 und 4,48 (3M, 1H, jedes), 6,87 und 7,52 (s, 1H, jedes, Imidazolyl-CH), 7,0–7,35 (m, aromatisch), 7,40, 7,62 und 8,17 (3d, 1H, jedes).

Beispiel 44**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino-4-hydroxy-2-(cyclohexylmethyl)-N-methylhexanamid**

Das Titelprodukt von Beispiel 40 (83,1 mg) wurde während 1,5 Stunden über 45 mg 10%igem Rh/C in 10 ml Methanol bei 4 Atmosphären H₂ hydriert. Der Katalysator wurde durch Filtration über Diatomeenerde und Waschen mit Methanol abgetrennt. Das mit der Waschflüssigkeit vereinigte Filtrat wurde mit 2 × 5 ml Äther vom Lösungsmittel befreit und im Hochvakuum getrocknet, wodurch das Titelprodukt als weißer, fester Schaum erhalten wurde, 76,9 mg; ¹H-NMR (CDCl₃, 300 MHz) enthält C(CH₃)₃ Singulett, keine Phenylprotonen und N-CH₃ Dublett; DC Rf 0,32 (3:1 Acethylacetat:Hexan).

Beispiel 45**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(cyclohexylmethyl)-N-methylhexanamid-hydrochlorid**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (75 mg) wurde nach der Methode von Beispiel 41 in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt, 64,1 mg; DC Rf 0,18 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure; Platte mit aufgetragener Probe mit NH₃-Dampf vor der Elution neutralisiert.

Beispiel 46**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(cyclohexylmethyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (59,1 mg 0,158 mMol) wurde nach der Methode von Beispiel 42 zum chromatographierten Titelprodukt in Form eines weißen, festen Schaums übergeführt, 76,4 mg; DC Rf 0,60 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure); ¹H-NMR (DMSO-d₆, 250 MHz) enthält zwei C(CH₃)₃ Singuletts gemittelt bei 1,6 ppm.

Beispiel 47**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylphenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(cyclohexylmethyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (71,5 mg) wurde nach der Methode von Beispiel 43 in das Titelprodukt in Form eines weißen Pulvers umgewandelt, 59,1 mg; DC Rf 0,05 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure); ¹H-NMR (DMSO-d₆, 250 MHz) enthält C(CH₃)₃-Singulett bei 1,32 ppm, N-CH₃-Dublett bei 2,58 ppm und Imidazol-CH-Singuletts bei 6,86 und 7,52 ppm.

Beispiel 48**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N-benzylhexanamid**

Das Titelprodukt des Beispiels 5 (150 mg, 0,408 mMol), trockenes Toluol (2 ml), Benzylamin (0,29 ml, 5 Äquivalente) und Essigsäure (0,023 ml, 1 Äquivalent) wurden unter Stickstoff gerührt, allmählich auf 90 °C erhitzt und bei dieser Temperatur 6 Stunden gehalten. Die Reaktionsmischung wurde gekühlt, mit 3 ml Äthylacetat verdünnt mit 2 × 3 ml 1 N HCl und 1 × 3 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt als weißer, öliges Schaum erhalten wurde, 187 mg; DC Rf 0,58 (2:1 Äthylacetat:Hexan).

Beispiel 49**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N-benzylhexanamid-hydrochlorid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (172 mg) wurde nach der Methode des Beispiels 41 in das vorliegende Titelprodukt in Form eines weißen Pulvers umgewandelt, 146 mg; DC Rf 0,30 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure; Platte mit aufgetragener Probe vor der Elution NH₃-Dampf ausgesetzt).

Beispiel 50**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-(N-t-butoxy-carbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxy-carbonyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N-benzylhexanamid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (136 mg, 0,331 mMol) wurde nach der Methode des Beispiels 42 in das chromatographierte Titelprodukt in Form eines weißen, festen Schaums übergeführt, 167 mg; DC Rf 0,60 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure).

Beispiel 51**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl-phenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N-benzylhexanamid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels wurde nach der Methode des Beispiels 43 in das Titelprodukt in Form eines weißen, festen Schaums übergeführt, 146 mg; DC Rf 0,18 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure); ¹H-NMR (DMSO-d₆, 250 MHz) enthält delta (ppm): 0,83 und 0,90 (d, 3H, jedes, J = 6 Hz, C(CH₃)₂), 1,32 (s, 9H, C(CH₃)₃), 3,72, 4,16 und 4,50 (m, 1H, jedes), 4,28 (m, 2H, NCH₂), 6,86 (br, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,1–7,4 (m, 11–13H, aromatisch und NH), 8,25 (d, 1H, NH), 8,36 (t, 1H).

Beispiel 52**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N,N-dimethylhexanamid**

Das Titelprodukt des Beispiels 5 (595 mg) wurde in 5 ml Methanol gelöst, auf 10°C abgekühlt, es wurde während 3 Minuten Dimethylamin durchgeleitet, mit einem Stopfen verschlossen und 1,5 Stunden bei Raumtemperatur stehen gelassen. Das DC zeigte 80%ige Umsetzung an. Durch die Lösung wurde dann während 2 Minuten Dimethylamin durchgeleitet, abermals mit einem Stopfen verschlossen und 18 Stunden stehen gelassen, zu welchem Zeitpunkt das DC vollständige Umwandlung anzeigte. Die Lösung wurde vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand im Hochvakuum getrocknet, wodurch das Titelprodukt in Form eines weißen, festen Schaums erhalten wurde, 112 mg; DC Rf 0,31 (3:1 Äthylacetat:Hexan); MS enthält Peaks bei 281,0, 230,9, 212,0, 186,1, 131,0, 100,0, 80,9, 68,9 und 57,0.

Beispiel 53**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N,N-dimethylhexanamid-hydrochlorid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (107 mg) wurde nach der Methode des Beispiels 41 in das vorliegende Titelprodukt in Form eines nahezu weißen, festen Schaums umgewandelt, 94,7 mg; DC Rf 0,16 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure; Platte mit aufgetragener Probe vor der Elution NH₃-Dampf ausgesetzt); MS enthält 313,3, 256,1, 215,2, 186,1, 156,0, 143,1, 126,1, 111,1, 100,1, 83,0 und 69,1.

Beispiel 54**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N,N-dimethylhexanamid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (87 mg, 0,249 mMol) wurde nach der Methode des Beispiels 42, jedoch unter zusätzlicher Verwendung von je 250 ml 8, 12, 20 und 50% Äthanol in CH₂Cl₂ für die chromatographische Elution in das vorliegende Titelprodukt in Form eines weißen, festen Schaums umgewandelt, 107 mg; DC Rf 0,52 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol:Essigsäure); ¹H-NMR (DMSO-d₆, 250 MHz) enthält zwei C(CH₃)₃-Singulets, aromatische Peaks und Imidazol-Peaks; MS 511,4, 357,3, 329,1, 301,2, 257,0, 211,1, 165,1, 136,0, 120,1, 110,0, 91,0, 57,1, 41,0.

Beispiel 55**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylphenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N,N-dimethylhexanamid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels wurde nach der Methode des Beispiels 43 in das rohe Titelprodukt übergeführt, 78,2 mg, das eine wesentliche mp-Verunreinigung gemäß Hochdruckflüssigkeitschromatographie enthält. Das rohe Produkt wurde an einer 5g Gegenphasen-C-18-Kolonnen einer präparativen Hochdruckflüssigkeitschromatographie unterworfen, wobei mit vier Kolonnenvolumina von je 1:1, 3:1, 17:3 und 100:0 Methanol:H₂O eluiert wurde. Die Verunreinigung eluierte mit dem 3:1-Elutionsmittel, während das gereinigte Titelprodukt mit dem 17:3 Elutionsmittel eluierte, das durch Einengen als weißes Pulver isoliert wurde, 46,0 mg; DC Rf 0,02 (18:2:1 CHCl₃:Äthanol-Essigsäure); Hochdruckflüssigkeitschromatographie-Retentionszeit 5,87 Minuten (C-8 4,6 mm x 25 cm Kolonne, eluiert mit 3:2 CH₃CN:pH 2,1 Phosphatpuffer bei 1,5 ml/min); MS 322,4, 311,1, 283,1, 218,9, 165,1, 131,0, 110,1, 97,0, 91,0, 69,1, 59,1, 43,0; ¹H-NMR (DMSO-d₆, 250 MHz) enthält delta 1,32 (s, 9H, C(CH₃)₃), 2,85 und 3,07 (2s, 6H, N(CH₃)₂), 6,92 und 7,52 (2s, 2H, Imidazol-CH).

Beispiel 56**5-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-(2-tetrahydropyranloxy)-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]amino-1-(benzyloxycarbonylamino)-pentan**

Das Titelprodukt des Beispiels 8 (160 mg, 0,341 mMol) und der Herstellung 3 (80,5 mg, 0,341 mMol) wurden nach der Methode des Beispiels 31, mit Ausnahme der Verwendung von Äther anstelle von Äthylacetat bei der Isolierung, in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt, 222 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃).

Beispiel 57**5-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]amino-1-(benzyloxycarbonylamino)pentan**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (221 mg) wurde nach der Methode des Beispiels 26 in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt, 193 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃).

Beispiel 58**5-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]amino-1-(benzyloxycarbonylamino)pentan**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (193 mg) wurde während 2 Stunden mit 10 ml 3,7N HCl in Dioxan gerührt, vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand mit Äther verrieben, wodurch das Titelprodukt erhalten wurde, 144 mg; ¹H-NMR (CD₃OD) enthält delta 5,2 ppm (s, 2H, Benzyl-CH₂).

Beispiel 59**5-[[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]amino-1-(benzylcarbonyl-amino)pentan**

Die Methode des Beispiels 28 unter Verwendung von CHCl₃ als Elutionsmittel wurde verwendet, um das Produkt des vorhergehenden Beispiels in das vorliegende chromatographierte Titelprodukt umzuwandeln, 25 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, C(CH₃)₃).

Beispiel 60**5-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylphenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]amino-1-(benzyloxycarbonylamino)-pentan**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (25 mg) wurde nach der Methode des Beispiels 43 in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt. Nach dem Einengen wurde der Rückstand zweimal mit Toluol vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand mit

Äther verrieben, wodurch das Titelprodukt als weißer Feststoff erhalten wurde, 11 mg; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

Hydrierung über Pd/C gemäß Beispiel 13 wird verwendet, um dieses Produkt in 5-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylphenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]aminopentylamin umzuwandeln.

Beispiel 61

Benzyl-4-[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-(2-tetrahydropyranloxy)-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]aminobutyrat

Das Titelprodukt des Beispiels 8 (160 mg, 0,341 mMol) und Benzyl-4-aminobutyrat-hydrochlorid (66 mg, 0,341 mMol) wurden gemäß dem Verfahren des Beispiels 23 gekuppelt. Am Ende der Reaktionsperiode wurde die Mischung vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand in 5 ml Äther aufgenommen, mit 1×3 ml gesättigter NaHCO_3 , 1×3 ml 5%iger HCl und 1×3 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen und neuerlich zu einem rohen Produkt eingengt, 172 mg, das an 20 g Kieselgel mit CHCl_3 als Elutionsmittel chromatographiert wurde, wodurch das gereinigte Titelprodukt erhalten wurde, 107 mg; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

Beispiel 62

Benzyl-4-[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]aminobutyrat

Das Produkt des vorgehenden Beispiels (380 mg) wurde nach der Methode des Beispiels 43 in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt, 330 mg; $^1\text{H-NMR}$ enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

Beispiel 63

Benzyl-4-[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]aminobutyrat

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (330 mg) in 10 ml 3,7 N HCl in Dioxan wurde während 2 Stunden stehen gelassen. Die Mischung wurde vom Lösungsmittel befreit, der Rückstand in 5 ml Äthylacetat aufgenommen, mit je 5 ml gesättigter NaHCO_3 und dann gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO_4) und abermals vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt in Form eines Öls erhalten wurde, 220 mg; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) enthält delta 5,2 ppm (s, 2H, $\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$).

Beispiel 64

Benzyl-4-[[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-[N-alpha-(N-(t-butoxycarbonyl)phenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoylamino]]butyrat

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (270 mg, 0,586 mMol) wurde nach der Methode des Beispiels 42 gekuppelt, um das Titelprodukt zu bilden. Nach der Abtrennung von DCU wurde das Filtrat vom Lösungsmittel befreit, in Äther aufgenommen, abermals filtriert und das Filtrat zu 480 mg Rohprodukt eingengt. Letzteres wurde an 50 g Kieselgel unter Verwendung von 2,5% Methanol in CHCl_3 als Elutionsmittel chromatographiert, wodurch das gereinigte Titelprodukt erhalten wurde, 132 mg; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

Beispiel 65

4-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(N-(t-butoxycarbonyl)phenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoylamino]buttersäure

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (93 mg) wurde während 2 Stunden in 2,5 ml 1:1 Äthylacetat:Methanol über 23 mg 10%igem Pd/C bei 4 Atmosphären hydriert. Der Katalysator wurde durch Filtration abgetrennt und das Filtrat zu einem Öl eingengt, das in Äther aufgenommen wurde und nach Filtrieren und neuerlichem Einengen das Titelprodukt lieferte, 62 mg; $^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) enthält delta 1,4 ppm (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

Beispiel 66

2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butyloxycarbonylamino)-2-[(2-naphthyl)methyl]-gamma-hexanolacton

Das Titelprodukt des Beispiels 3 (0,295 g, 0,95 mMol) und 2-(Brommethyl)-naphthalin (220 mg, 0,99 mMol) wurden nach der Methode des Beispiels 39 in das rohe Titelprodukt (0,43 g; gelbes Öl) umgewandelt, das an 20 g Kieselgel chromatographiert wurde, wobei mit 700 ml 1:9 Äthylacetat:Hexan und dann mit 300 ml 1:1 Äthylacetat:Hexan eluiert und mit DC überwacht wurde. Das reine Titelprodukt wurde aus mittleren Schnitten isoliert, 139 mg; Rf 0,62 (1:1 Äthylacetat:Hexan).

Beispiel 67

2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-[(naphthyl)methyl]-N-methylhexanamid

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (113 mg) in 2 ml Methanol wurde auf 0–5°C abgekühlt und in die kalte Lösung während 2 Minuten CH_3NH_2 eingeleitet, mit einem Stopfen verschlossen, während 2 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, eingengt, mit 2×2 ml Äther vom Lösungsmittel befreit und im Hochvakuum getrocknet, wodurch das Titelprodukt in Form eines weißen Schaums erhalten wurde, 114 mg; DC Rf 0,15 (1:1 Äthylacetat:Hexan), Rf 0,48 (18:2:1 CHCl_3 :Äthanol:Essigsäure).

Beispiel 68

2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-[(2-naphthyl)methyl]-N-methylhexanamid-hydrochlorid

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (107,4 mg) wurde nach der Methode des Beispiels 15 unter Zusatz von Äther beim Abziehen des Lösungsmittels in das vorliegende Titelprodukt, ein Lösungsmittel-nasses Pulver, umgewandelt, 102,5 mg; Rf 0,2 (18:2:1 CHCl_3 :Äthanol:Essigsäure; Platte mit aufgetragener Probe vorher mit NH_3 -Dampf neutralisiert).

Beispiel 69**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(N-(N-alpha-(N-t-butoxycarbonyl)phenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidyl)amino-4-hydroxy-2-[(2-naphthyl)methyl]-N-methylhexanamid**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (96 mg, 0,229 mMol) und das Titelprodukt der Herstellung 1 (121 mg, 0,240 mMol) wurden nach der Methode des Beispiels 16 in das rohe Titelprodukt in Form eines öligen Schaums umgewandelt, 235 mg, das an 5 g Kieselgel chromatographiert wurde, wobei mit je 200 ml 0,5, 1, 2, 4 und 6% Äthanol in CH_2Cl_2 eluiert und mit DC überwacht wurde. Die reinen Produktfraktionen wurden vom Lösungsmittel befreit, wodurch das gereinigte Titelprodukt als ein weißer Schaum erhalten wurde, 124 mg; DC Rf0,6 (18:2:1 CHCl_3 :Äthanol:Essigsäure).

Beispiel 70**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-[(2-naphthyl)methyl]-N-methylhexanamid**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (116 mg) in 1,5 ml Methanol wurde mit K_2CO_3 (1 g) während 1 Stunde gerührt und dann mit 2 Tropfen Essigsäure neutralisiert. Die Mischung wurde zusammen mit Äther vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt in Form eines weißen Pulvers erhalten wurde, 101,4 mg; DC Rf0,08 (18:2:1 Äthanol:Essigsäure); MS kein m^+ aber enthaltend Massen-Peaks 311,1, 283,0, 257,0, 213,0, 192,1, 179,1, 141,0, 111,0, 97,1 und 57,1; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) delta (300 MHz), 1,30 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2,46 (d, 3H, NCH_3), 3,70, 4,14, 4,47 (3 m, 1H jedes), 6,86, 7,62 (2s, 1H jedes), 7,10, 8,22 (2d, 1H jedes), 7,15–7,41 (m, aromatisch), 7,48, 7,84 (2 m, aromatisch).

Beispiel 71**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[[N-[N-alpha-methyl-N-alpha-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)]histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N,N-dimethylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 53 (0,534 g, 0,00153 Mol) und N-alpha-Methyl-N-alpha-(N-t-butoxycarbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidin (0,790 g, 0,00153 Mol) wurden nach der Methode der Beispiele 16 und 69 in das vorliegende, chromatographierte Produkt in Form eines annähernd weißen Schaums übergeführt, 0,394 g; DC Rf0,52 (18:2:1 Äthanol:Essigsäure).

Beispiel 72**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-methyl-N-alpha-(N-(t-butoxycarbonyl)phenylalanyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-N,N-dimethylhexanamid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (195 mg) wurde nach der Methode des Beispiels 70 in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt, durch präparative Hochdruckflüssigkeitschromatographie an einer RP C-18 Kolonne unter Elution mit 4 Kolonnenvolumina 1:1 $\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$ und 6 Kolonnenvolumina 3:1 $\text{CH}_3\text{OH}:\text{H}_2\text{O}$ als Elutionsmittel gereinigt. Die reinen Produktfraktionen wurden im letzteren Elutionsmittel gefunden und nach Abziehen des Lösungsmittels als weißes Pulver gewonnen, 153,6 mg; DC Rf0,09 (18:2:1 CHCl_3 :Äthanol:Essigsäure); MS kein m^+ aber enthaltend 575,3, 525,3, 511,3, 472,3, 442,2, 416,2, 399,2, 288,2, 371,2, 343,1, 291,0, 247,1, 186,1, 165,1, 123,9, 109,0, 95,0, 69,1, 59,0, 43,0; $^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) delta (300 MHz) 0,78 (2d, 6H, $(\text{CH}_3)_2$ -Rotamere), 3,0 (3s, 3H), 3,10, 3,76, 4,50, 4,60, 4,95, 5,10, 6,92, 7,48, 7,60 (Multipletts), 7,10–7,35 (breite Multipletts, aromatisch).

Beispiel 73**N-alpha-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl)amino-4-(2-tetrahydropyranyloxy)-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]-N-epsilon-[benzyloxycarbonyl]lysine-methylester**

Das Titelprodukt des Beispiels 8 (0,318 g, 0,00068 Mol) wurde mit N-epsilon-(Benzyloxycarbonyl)lysine-methylester-hydrochlorid (0,223 g, 0,00068 Mol) gemäß der Methode des Beispiels 9 gekuppelt. Das rohe Produkt (0,261 g) wurde durch Chromatographie an 30 g Kieselgel unter Verwendung von 99:1 $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ als Elutionsmittel gereinigt, wodurch das gereinigte Titelprodukt erhalten wurde, 0,147 g; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) enthält delta 3,8 (s, 3H, OCH_3).

Beispiel 74**N-alpha-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl)-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]-N-epsilon[benzyloxycarbonyl]lysine-methylester**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (0,131 g, 0,00018 Mol) wurde während 16 Stunden in 5 ml 4:1 Essigsäure: H_2O gerührt und dann unter Zusatz von Toluol vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt als weißer Feststoff erhalten wurde, 95 mg; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) enthält delta 3,8 (s, 3H, OCH_3).

Beispiel 75**N-alpha-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]-N-epsilon-[benzyloxycarbonyl]lysine-methylester**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (95 mg) wurde bei 0°C in 2 ml Trifluoressigsäure gelöst, während 1 Stunde gehalten und unter Zusatz von Toluol vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde zwischen 10 ml Äthylacetat und 10 ml gesättigter Bicarbonatlösung verteilt, die wäßrige Schicht mit 2×10 ml frischem Äthylacetat extrahiert, die organischen Schichten vereinigt und mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über MgSO_4 getrocknet und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt als ein Öl erhalten wurde, 80 mg; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) enthält delta 3,8 (s, 3H, OCH_3).

Beispiel 76**N-alpha-[[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-(2-benzyl-3-phenylpropionyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]-N-epsilon-[[benzyloxycarbonyl]lysine-methylester**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (80 mg, 0,142 mMol) und das Produkt der Herstellung 9 (70 mg, 0,142 mMol) wurden nach der Methode der Beispiele 16 und 69, ausgenommen die Verwendung von 99:1 $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ als Elutionsmittel bei der Chromatographie, gekuppelt, wodurch das vorliegende Titelprodukt erhalten wurde, 113 mg roh, 80 mg chromatographiert; $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) enthält delta 1,6 (s, 9H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

Beispiel 77**N-alpha-[[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-(2-benzyl-3-phenylpropionyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]]-N-epsilon-[[benzyloxycarbonyl]]lysine-methylester**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (80 mg) wurde in 3 ml 4:1 Essigsäure:H₂O gelöst, während 24 Stunden gehalten, unter Zusatz von Toluol vom Lösungsmittel befreit, mit 3 ml 1:1 Äther:Hexan verrieben und filtriert, wodurch das Titelprodukt als weißes Pulver erhalten wurde, 40 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) zeigt keine C(CH₃)₃-Peaks und enthält delta 3,8 (s, 3H, OCH₃).

Beispiel 78**N-alpha-[[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-(2-benzyl-3-phenylpropionyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl]]lysine-methylester**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (40 mg) in 1 ml Methanol und 1 ml Essigsäure wurden während 1,5 Stunden über 40 mg 10%igem Pd/C hydriert. Der Katalysator wurde durch Filtration abgetrennt und das Filtrat zu einem Öl eingeeengt und zweimal unter Zusatz von Toluol eingedampft, wodurch ein weißes Pulver erhalten wurde, das mit Äther verrieben und filtriert das vorliegende Titelprodukt lieferte, 18 mg; ¹H-NMR (CD₃OD) enthält delta 3,8 ppm (s, 3H).

Dieses Produkt wird nach der Methode des Beispiels 30 in das entsprechende Lysinamid-Derivat umgewandelt.

Beispiel 79**S-4-Methyl-2-(t-butoxycarbonylamino)pentanal**

N-(t-Butoxycarbonyl)leucin-methylester (28,0 g 0,114 Mol) wurde nach der Methode des Beispiels 1 in das vorliegende Titelprodukt übergeführt, 21,7 g (88%), in Form eines schwach gelben Öls; DC Rf 0,36 (2:3 Äthylacetat:Hexan); ¹H-NMR (CDCl₃) delta (90 MHz) 0,97 (d, J = 6, 6H), 1,1–1,8 (m, 3H), 1,4 (s, 9H), 3,3–5,0 (m, 2H), 9,53 (s, 1H).

Beispiel 80**Äthyl-4RS-5S-7-methyl-5-(t-butoxycarbonyl-amino)-4-hydroxy-2-octinoat**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (10,4 g, 0,048 mMol) wurde nach der Methode des Beispiels 2, ausgenommen die Anwendung von Gradientelution mit 3:17 bis 1:4 Äthylacetat:Hexan bei der Chromatographie, in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt, 5,45 g; DC Rf 0,40 (3:7 Äthylacetat:Hexan); IR (CHCl₃) 3438, 3340, 2233, 1711 cm⁻¹; ¹H-NMR (CDCl₃) delta (300 MHz) 0,97 (t, J = 7, 6H), 1,34 (t, J = 6, 3H), 1,48 (s, 9H), 1,48 (m, 2H), 1,70 (m, 1H), 3,3–3,4 (m, 1H), 3,81–3,96 (m, 1H), 4,28 (q, J = 7, 2H), 4,45–4,58 (m, 1H), 4,68–4,78 (m, 1H).

Anal. Calc. für C₁₈H₂₇NO₅:

C, 61,32; H, 8,68; N, 4,47

Gef. C, 61,38; H, 8,58; N, 4,42

Beispiel 81**4S,5S-7-Methyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-gamma-octanolacton**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels wurde nach der Methode des Beispiels 3, ausgenommen die Anwendung von Gradientelution mit 2:3 bis 1:0 Äthylacetat:Hexan bei der Chromatographie, in das gewünschte weniger polare (4S,5S)-Lacton-Produkt umgewandelt und durch Verreiben mit Hexan kristallisiert, 3,10 g (78%); Schmp. 76–77 °C; IR (CHCl₃) 3439, 1775, 1711 cm⁻¹; ¹H-NMR (CDCl₃) delta (300 MHz) 0,92 (d, J = 6, 6H), 1,44 (s, 9H), 1,28–1,81 (m, 3H), 2,06–2,32 (m, 2H), 2,48–2,58 (m, 2H), 3,79–3,92 (breites s, 1H), 4,42–4,58 (m, 2H).

Anal. Calc. für C₁₄H₂₅NO₄:

C, 61,97; H, 9,29; N, 5,16

Gef. C, 62,15; H, 9,26; N, 5,12

Das mehr polare (4R,5S)-Lacton wurde auch bei der Chromatographie in wesentlich niedrigerer Ausbeute isoliert und durch Verreiben in Hexan kristallisiert, 0,68 g; Schmp. 113,5–116 °C.

Beispiel 82**2R,4S,5S-7-Methyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-2-(2-methyl-2-propenyl)-gamma-octanolacton****Methode A**

Das Titelprodukt des vorhergehenden Beispiels (das weniger polare 4S,5S-Epimer; 0,51 g, 0,0019 Mol) wurde nach der Methode des Beispiels 4 in das vorliegende Titelprodukt (zum größeren Teil), zusammen mit dessen mehr polaren 2S,4S,5S-Epimer, umgewandelt. Die Rohprodukte (0,60 g) wurden an einer 4,5 × 20 cm Säule von Kieselgel unter Elution mit je 1 l 1:9, 3:17, 1:5, 1:4, 3:7 und 1:1 Äther:Hexan und Auffangen von 23 ml Fraktionen chromatographiert. Die Fraktionen 51–85 lieferten das gereinigte Titelprodukt, 0,21 g; Schmp. 128–132 °C.

[alpha]_D²⁰ –23,7 °C (c = 0,529, CH₃OH)

Das mehr polare 2S,4S,5S-Epimere wurde aus den Fraktionen 89–120 isoliert, 105 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 4,8 (2s, 2H, Vinyl-Protonen) und 1,75 (s, 3H, Vinylmethyl); ein Teil dieses Epimers wurde durch langsames Eindampfen aus CH₂Cl₂:Hexan kristallisiert, was nadelförmige Kristalle vom Schmp. 99–101 °C lieferte.

Methode B

Zu einer Suspension von Lithium-hexamethyldisilazid bei –78 °C, hergestellt durch tropfenweisen Zusatz von 5,1 ml (8,11 mMol) einer 1,6 M Lösung von n-Butyllithium in Hexan zu 1,79 ml (1,39 g, 8,49 mMol) Hexamethyldisilazan in 3,5 ml THF bei 0 °C, wurde tropfenweise eine Lösung von 1,00 g (3,69 mMol) 4S,5S-Lacton des vorhergehenden Beispiels in 3 ml THF zugesetzt. Am Ende des Zusatzes wurde die Lösung klar und wurde weitere 15 Minuten bei –78 °C rühren gelassen. Eine Lösung von 0,548 g (4,06 mMol) frisch destilliertes Methallylbromid in 2 ml THF wurde dann im Verlauf von 5 Minuten tropfenweise zugesetzt. Die Mischung konnte sich während 2 Stunden langsam auf –40 °C erwärmen, bevor die Reaktion mit 2 ml gesättigter NH₄Cl unterbrochen wurde.

Nach dem Erwärmen auf Raumtemperatur wurde die Reaktionsmischung zwischen 30 ml Äther und 30 ml 10%iger Zitronensäure verteilt. Die organische Schicht wurde abgetrennt und mit 10%iger Zitronensäure (3 × 30 ml) und gesättigter NaHCO₃ gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und zu 1,11 g einer rohen Mischung von cis(2S) und trans(2R) eingedampft. Diese Lactone wurden an 88 g Kieselgel mit Äther-Hexan (1:9 bis 3:7) als Elutionsmittel getrennt. Die Fraktionen, die das weniger polare trans(2S)-Lacton [DC Rf 0,55 (1:1 Äther:Hexan)] enthielten, wurden vereinigt und zu 0,613 g (51%) eines weißen Feststoffs eingedampft, Schmp. 132–135°C. Geringe Verunreinigungen (wie das DC zeigte) wurden durch Verreiben in Hexan entfernt, wodurch 0,562 g (47%) des analytisch reinen Titel-2R,4S,5S-Lactons erhalten wurde, Schmp. 133–135°C. Für die Röntgenanalyse geeignete Kristalle wurden durch langsames Eindampfen aus Hexan-Methylenchlorid erhalten. ¹H-NMR (CDCl₃) delta (250 MHz) 0,90 (J, J = 6, 3H), 0,92 (d, J = 6, 3H), 1,42 (s, 9H), 1,70 (s, 3H), 1,92–2,15 (m, 2H), 2,26–2,39 (m, 1H), 2,57 (dd, J = 15 und 3, 1H), 2,72–2,88 (m, 1H), 3,77–3,90 (m, 1H), 4,34 (d, J = 9, 1H), 4,33–4,51 (m, 1H), 4,70 (s, 1H), 4,81 (s, 1H); ¹³C-NMR (75 MHz) delta 21,8, 23,0, 24,7, 28,3, 30,0, 37,9, 39,5, 41,8, 51,7, 79,8, 80,7, 112,8, 141,9, 156,0, 179,3; IR (CHCl₃) 3439, 1768, 1712, 1654 cm⁻¹; [alpha]_D^{25,0°C} (C = 0,5, CH₃OH). Anal. Calc. für C₁₈H₃₁NO₄: C, 66,43; H, 9,60; N, 4,30. Gef. C, 66,47; H, 9,59; N, 4,27. Einkristall-Röntgenanalysen bestätigten die Richtigkeit der Struktur und die stereochemische Zuordnung für diese Verbindungen. Die Fraktionen, die das mehr polare cis(2S)-Lacton (DC Rf 0,44 1:11 Äther:Hexan) enthielten, wurden vereinigt und zu 39 mg (3%) eines weißen Feststoffs eingedampft, Schmp. 96–98°C; ¹H-NMR (CDCl₃) delta (250 MHz) 0,92 (d, J = 6, 6H), 1,43 (s, 9H), 1,72 (s, 3H), 2,02–2,14 (m, 1H), 2,23–2,36 (m, 1H), 2,60–2,87 (m, 2H), 3,74–3,89 (m, 1H), 4,35–4,47 (m, 2H), 4,69 (s, 1H), 4,78 (s, 1H); ¹³C-NMR (75 MHz) delta 21,9, 22,0, 23,0, 24,8, 28,3, 30,7, 38,8, 38,9, 42,3, 50,1, 79,6, 80,4, 112,6, 142,0, 155,9, 178,7; IR (CHCl₃) 3443, 1774, 1714, 1656 cm⁻¹; [alpha]_D^{0,6°C} (C = 0,5, CH₃OH). Anal. Calc. für C₁₈H₃₁NO₄: C, 66,43; H, 9,60; N, 4,30; Gef. C, 66,94; H, 9,45; N, 4,27.

Beispiel 83**2R,4S,5S-7-Methyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-2-(2-methylpropyl)-gamma-octanolacton**

Eine Lösung von 438 mg (1,35 mMol) des Titellactons des vorhergehenden Beispiels in 10 ml Äthylacetat, enthaltend 44 mg 10%iges Pd/C, wurde 2 Stunden auf einer Parr Shaker-Apparatur bei 50 psi hydriert. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators und Abdampfen des Lösungsmittels wurden 437 mg (99%) des vorliegenden Titelprodukts in Form eines weißen Feststoffs erhalten, Schmp. 130–131°C. ¹H-NMR (CDCl₃) delta (300 MHz) 0,84–0,97 (m, 12H), 1,41 (s, 9H), 1,86–1,96 (m, 1H), 2,30–2,42 (m, 1H), 2,56–2,68 (m, 1H), 3,76–3,89 (m, 1H), 4,35 (d, J = 8, 1H), 4,45 (breites t, 1H); ¹³C-NMR (75 MHz) delta 21,3, 21,8, 22,9, 23,0, 24,8, 26,1, 28,3, 31,0, 37,7, 40,5, 41,9, 51,7, 79,8, 80,5, 156,0, 180,3; IR (CHCl₃) 3439, 1769, 1713 cm⁻¹; [alpha]_D^{-32,1°C} (C = 1,0, CH₃OH). Anal. Calc. für C₁₈H₃₃NO₄: C, 66,02; H, 10,16; N, 4,28. Gef. C, 66,07; H, 10,03; N, 4,05. Nach den verschiedenen Verfahren der vorhergehenden Beispiele wird das vorliegende Produkt in analoge Renin-hemmende Produkte, worin R¹ 2-Methylpropyl anstelle von Cyclohexylmethyl ist, umgewandelt.

Beispiel 84**Benzyl-3-[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-(2-tetrahydropyranloxy)-2-(2-methylpropyl)hexanoylamino]propionat**

Das Produkt des Beispiels 8 (0,30 g, 0,64 mMol) und Benzylbeta-alanin-hydrochlorid (0,15 g, 0,70 mMol) wurden bei 0°C in 5 ml CH₂Cl₂ vereinigt. N-Methylmorpholin (0,154 ml, 1,41 mMol) wurden unter Rühren zugesetzt, gefolgt von Diäthylcyanophosphonat (0,109 ml, 0,70 mMol). Nach Rühren bei 0°C während 16 Stunden und bei Raumtemperatur während 1 Stunde wurde die Mischung zur Trockene eingedampft und der Rückstand in Äthylacetat (20 ml) aufgenommen, mit 2 × 20 ml gesättigter NaHCO₃, 1 × 20 ml H₂O und 1 × 20 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und zu 0,394 g Rohprodukt eingengt, das an 45 g Kieselgel unter Elution mit 99:1 CHCl₃:CH₃OH das vorliegende gereinigte Titelprodukt lieferte, 0,30 g; DC Rf 0,8 (19:1 CHCl₃:CH₃OH).

Beispiel 85**Benzyl-3-[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)-hexanoylamino]propionat**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (300 mg) wurde 16 Stunden mit 10 ml 4:1 Essigsäure:H₂O gerührt und im Hochvakuum und unter Zusatz von Toluol vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt erhalten wurde, 273 mg.

Beispiel 86**Benzyl-3-[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoylamino]propionathydrochlorid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (273 mg) wurde in 3 ml Äther gelöst und bei 0°C mit 3 ml 3,7 N HCl in Dioxan behandelt. Nach 4 Stunden bei 0°C wurde die Reaktionsmischung vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand mit Äther-Hexan verrieben, wodurch das Titelprodukt in Form eines weißen Feststoffs erhalten wurde, 248 mg.

Beispiel 87**Benzyl-3-[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-[N-alpha-(N-(t-butoxycarbonyl)phenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoylamino]propionat**

Mit Ausnahme der Verwendung von 39:1 CHCl₃:CH₃OH als Elutionsmittel bei der Chromatographie wurde die Methode des Beispiels 84 verwendet, um das Produkt des vorhergehenden Beispiels (248 mg, 0,589 mMol) und das Produkt der Herstellung 1 (357 mg, 0,707 mMol) in Gegenwart von N-Methylmorpholin (0,155 ml, 1,413 mMol) und Diäthylcyanophosphonat (0,11 ml, 0,707 mMol) zu kuppeln, wodurch das gereinigte Titelprodukt erhalten wurde, 0,225 g; DC 0,5 (9:1 CHCl₃:CH₃OH).

Beispiel 88**Benzyl-3-[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-[N-(t-butoxycarbonyl)phenylalanyl]histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoylamino]propionat**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (342 mg) wurde nach der Methode des Beispiels 85 in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt, 305 mg; DC Rf 0,2 (9:1 CHCl₃:CH₃OH).

Beispiel 89**3-[2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-(t-butoxycarbonyl)-phenylalanylhistidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoylamino]propionsäure**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (0,305 g) wurde unter Verwendung von 10 ml reinem Methanol als Lösungsmittel gemäß dem Beispiel 13 hydriert. Nach Entfernung des Katalysators wurde das Filtrat vom Lösungsmittel befreit, wodurch das vorliegende Titelprodukt erhalten wurde, 0,234 g; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,5 ppm (s, 9H).

Beispiel 90**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(2-methyl-2-propenyl)-N-methylhexanamid**

Das trans(2R)-Titelprodukt des Beispiels 4 (0,20 g, 0,55 mMol) wurde in 10 ml CH₃OH gelöst, auf 0°C abgekühlt und die Lösung mit CH₃NH₂ gesättigt. Nach dem Stehen bei 0°C während 60 Stunden wurde die Mischung vom Lösungsmittel befreit und der feste Rückstand mit Hexan verrieben, wodurch das Titelprodukt erhalten wurde, 0,220 g.

Beispiel 91**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methyl-2-propenyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (0,220 g) wurde während 0,5 Stunden bei -11°C mit 2 ml Trifluoressigsäure gerührt. Die Reaktionsmischung wurde vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand in 5 ml Äthylacetat aufgenommen, mit 5 ml gesättigter NaHCO₃ und 5 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt erhalten wurde, 0,169 g.

Beispiel 92**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-alpha-(N-(t-butoxy-carbonylphenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(2-methyl-2-propenyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (169 mg, 0,57 mMol) und das Produkt der Herstellung 1 (288 mg, 0,57 mMol) wurden bei 0°C in 15 ml CH₂Cl₂ mit 1-Hydroxybenzotriazol (77 mg, 0,57 mMol) und Dicyclohexylcarbodiimid (118 mg, 0,57 mMol) vereinigt. Nach dem Rühren bei Raumtemperatur während 18 Stunden wurde der Dicyclohexylharnstoff durch Filtration entfernt, das Filtrat vom Lösungsmittel befreit und der erhaltene Rückstand in 10 ml Äthylacetat aufgenommen, mit 1 x 5 ml gesättigter NaHCO₃, 1 x 5 ml 5%iger HCl und 1 x 5 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄), vom Lösungsmittel befreit und an 35 g Kieselgel unter Verwendung von 40:1 CHCl₃:CH₃OH als Elutionsmittel chromatographiert, wodurch das gereinigte Titelprodukt erhalten wurde, 0,129 g.

Beispiel 93**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-(t-butoxycarbonyl)-phenylalanylhistidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methyl-2-propenyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (0,129 g) wurde nach der Methode des Beispiels 85, mit Verreibung des Produkts mit Äther am Schluß, in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt, 75 mg; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,5 ppm (s, 9H).

Beispiel 94**Äthyl-4-[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-t-butoxycarbonyl-amino]-4-(2-tetrahydropyranloxy)-2-(2-methylpropyl)hexanoylamino]butyrat**

Die Methode des Beispiels 84 wurde, ohne Chromatographie, verwendet, um das Produkt des Beispiels 8 (300 mg, 0,64 mMol) mit Äthyl-4-aminobutyrat-hydrochlorid (118 mg, 0,70 mMol) zu kuppeln, wodurch das Titelprodukt erhalten wurde, 385 mg.

Beispiel 95**Äthyl-4-[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl-amino)-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoyl-amino]butyrat**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (0,385 g) wurde gemäß Beispiel 85 mit 4:1 Essigsäure:H₂O behandelt, wodurch rohes, Lacton-enhaltendes Produkt (330 mg) durch Gefriertrocknung isoliert wurde. Das Titelprodukt wurde durch Chromatographie an Kieselgel isoliert, wobei das Lacton mit 1:1 Äther:Hexan und das Titelprodukt mit 19:1 CHCl₃:CH₃OH eluiert wurden, 161 mg; DC Rf 0,6 (9:1 CHCl₃:CH₃OH).

Beispiel 96**Äthyl-4-[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoylamino]butyrat-hydrochlorid**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (0,161 g) wurde in 5 ml Äther gelöst und auf 0°C abgekühlt. 7,4N HCl in Dioxan (3 ml) wurde zugesetzt und die Mischung während 3,5 Stunden bei 0°C gerührt, dann vom Lösungsmittel befreit und im Hochvakuum getrocknet, wodurch das Titelprodukt erhalten wurde, 0,141 g; DC Rf 0,1 (9:1 CHCl₃:CH₃OH).

Beispiel 97**Äthyl-4-[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-[N-alpha-(N-(t-butoxycarbonyl)phenylalanyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoylamino]butyrat**

Das Produkt des vorhergehenden Beispiels (140 mg, 0,323 mMol) und das Produkt der Herstellung 1 (179 mg, 0,355 mMol) wurde nach der Methode des Beispiels 87 gekuppelt, isoliert und gereinigt, wodurch das Titelprodukt erhalten wurde, 136 mg. Dieses Produkt wurde nach der Methode des Beispiels 88 in Äthyl-4-[2R,4S,5S-6-cyclohexyl-5-[N-(t-butoxycarbonyl)phenylalanyl-histidyl]amino-4-hydroxy-2-(2-methylpropyl)hexanoylamino]butyrat umgewandelt.

Beispiel 98**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-2-(p-chlorbenzyl)-gamma-hexanolacton**

Das weniger polare 4S,5S-Produkt des Beispiels 3 (2,5g, 0,008 Mol) und 4-Chlorbenzylbromid (1,81g, 0,008 Mol) wurde nach der Methode des Beispiels 39 in das vorliegende chromatographierte Titelprodukt in Form eines farblosen gummiartigen Produkts umgewandelt, 1,91g; DC Rf0,6 (3:1 Hexan:Äthylacetat) 0,7 (2:1 Hexan:Äthylacetat mit 1% Essigsäure).

Beispiel 99**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-2-(p-methylbenzyl)-gamma-hexanolacton**

Die Methode des Beispiels 39 unter Verwendung von 5:1 Hexan:Äthylacetat als Elutionsmittel bei der Chromatographie wurde verwendet, um das 4S,5S-Produkt des Beispiels 3 (1,5g, 0,0048 Mol) und alpha-Brom-p-xylol (0,98g, 0,0053 Mol) in das vorliegende Titelprodukt in Form eines weißen gummiartigen Produkts umzuwandeln, 0,985g; DC Rf0,55 (2:1 Hexan:Äthylacetat), 0,75 (1:1 Hexan:Äthylacetat).

Beispiel 100**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-2-(p-methoxybenzyl)-gamma-Hexanolacton**

Das 4S,5S-Produkt des Beispiels 3 (3,79g, 0,0118 Mol) und p-Methoxybenzylbromid (2,61g, 0,130 Mol) wurden nach der Methode des Beispiels 99 in das chromatographierte Titelprodukt in Form eines weißen gummiartigen Produkts umgewandelt, 1,06g; DC Rf0,4 (3:1 Hexan:Äthylacetat).

Beispiel 101**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-2-(3,4-dichlorbenzyl)-gamma-hexanolacton**

Das 4S,5S-Produkt des Beispiels 3 (2,0g, 0,0064 Mol) und 3,5-Dichlorbenzylbromid (1,68g, 0,007 Mol) wurden nach der Methode des Beispiels 39 unter Verwendung von 3:1 Hexan:Äthylacetat als Elutionsmittel bei der Chromatographie in das Titelprodukt in Form eines klaren gummiartigen Produkts umgewandelt, 1,36g; DC Rf0,22 (3:1 Hexan:Äthylacetat), 0,9 (1:2 Hexan:Äthylacetat mit 1% Essigsäure).

Beispiel 102**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl-amino)-2-(o-chlorbenzyl)-gamma-hexanolacton**

Das 4S,5S-Produkt des Beispiels 3 (2,0g, 0,0064 Mol) und o-Chlorbenzylchlorid (1,44g, 0,007 Mol) wurden nach der Methode des Beispiels 39 unter Verwendung von 6:1 Hexan:Äthylacetat als Elutionsmittel bei der Chromatographie in das Titelprodukt in Form eines klaren gummiartigen Produkts umgewandelt, 1,51g; DC Rf0,75 (3:1 Hexan:Äthylacetat), 0,65 (2:1 Hexan:Äthylacetat mit 1% Essigsäure).

Beispiel 103**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-2-(m-chlorbenzyl)-gamma-hexanolacton**

Das 4S,5S-Produkt des Beispiels 3 (2,0g, 0,0064 Mol) und m-Chlorbenzylchlorid (0,92ml, 1,44g, 0,007 Mol) wurden nach der Methode des vorhergehenden Beispiels in das chromatographierte Titelprodukt in Form eines farblosen gummiartigen Produkts übergeführt, 2,11g; DC Rf0,4 (3:1 Hexan:Äthylacetat), 0,75 (2:1 Hexan:Äthylacetat mit 1% Essigsäure).

Beispiel 104**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(p-chlorbenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Verfahren des Beispiels 90 unter Anwendung einer Reaktionszeit von 2 Stunden bei Raumtemperatur und ohne Hexan-Verreibung wurde benützt, um das Produkt des Beispiels 98 (1,0g) in das vorliegende Titelprodukt in Form eines weißen Feststoffs umzuwandeln, 1,07g, DC Rf0,75 (2:1 Hexan:Äthylacetat mit 1% Essigsäure), 0,6 (18:2:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH:Essigsäure).

Beispiel 105**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl)-4-hydroxy-2-(p-methylbenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 99 (0,885g) wurde unter Anwendung der Methode des vorhergehenden Beispiels in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt, wobei das Produkt an Kieselgel unter Verwendung von 1:1 Hexan:Äthylacetat als Elutionsmittel chromatographiert wurde, 0,518g; DC Rf0,1 (1:1 Äthylacetat:Hexan), 0,55 (18:2:1 CHCl₃:C₂H₅OH:Essigsäure).

Beispiel 106**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(p-methoxybenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 100 (1,06g) wurde nach der Methode des Beispiels 4 in das vorliegende Titelprodukt in Form eines annähernd weißen Feststoffs umgewandelt, 1,07g; DC Rf0,2 (2:1 Äthylacetat:Hexan mit 1% Essigsäure), 0,8 (9:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH mit 1% konzentriertem NH₄OH).

Beispiel 107**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(3,4-dichlorbenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 101 (1,36g) wurde nach der Methode des Beispiels 104 in das vorliegende Titelprodukt in Form eines weißen gummiartigen Produkts umgewandelt, 1,39g; DC Rf0,25 (1:1 Hexan:Äthylacetat mit 1% Essigsäure), 0,55 (9:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH mit 1% konzentriertem NH₄OH).

Beispiel 108**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(o-chlorbenzyl)-N-methylhexanamid**

Die Methode des Beispiels 104, ausgenommen eine Reaktionszeit von 16 Stunden bei Raumtemperatur, wurde angewendet, um das Produkt des Beispiels 102 (1,51g) in das vorliegende Titelprodukt in Form eines weißen gummiartigen Produkts umzuwandeln, 1,56g; DC Rf0,09 (2:1 Hexan:Äthylacetat mit 1% Essigsäure).

Beispiel 109**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylamino)-4-hydroxy-2-(m-chlorbenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 103 (2,11 g) wurde nach der Methode des Beispiels 104 in das vorliegende Titelprodukt in Form eines weißen gummiartigen Produkts übergeführt, 1,68 g; DC Rf0,25 (2:1 Hexan:Äthylacetat mit 1 % Essigsäure), 0,5 (9:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH mit 1 % Essigsäure).

Beispiel 110**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(p-chlorbenzyl)-N-methylhexanamid-hydrochlorid**

Das Produkt des Beispiels 104 (1,07 g) wurde während 10 Minuten unter N₂ in 10 ml 3,78 N HCl in Dioxan gerührt und dann vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde dreimal mit 10 ml Äther vereinigt und erneut abgedampft, wodurch das Titelprodukt als Feststoff erhalten wurde, 1,11 g; DC Rf0,18 (18:2:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH:Essigsäure).

Beispiel 111**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(p-methylbenzyl)-N-methylhexanamid-hydrochlorid**

Das Produkt des Beispiels 105 (0,454 g) wurde nach der Methode des vorhergehenden Beispiels in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt, 0,4 g; DC Rf0,1 (18:2:1 CHCl₃:C₂H₅OH:Essigsäure).

Beispiel 112**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(p-methoxybenzyl)-N-methylhexanamid-hydrochlorid**

Das Produkt des Beispiels 106 (1,07 g) wurde nach der Methode des Beispiels 110 in quantitativer Ausbeute in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt (Gewichtsausbeute 1,14 g, 0,22 g größer als die Theorie) DC Rf0,2 (9:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH mit 1 % konzentriertem NH₄OH).

Beispiel 113**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(3,4-dichlorbenzyl)-N-methylhexanamid-hydrochlorid**

Das Produkt des Beispiels 107 (1,38 g) wurde nach der Methode des Beispiels 110 in quantitativer Ausbeute in das vorliegende Titelprodukt übergeführt (Gewicht 1,52 g, 0,30 g größer als die Theorie); DC Rf0,25 (CH₂Cl₂:C₂H₅OH 9:1 mit 1 % konzentriertem NH₄OH).

Beispiel 114**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(o-chlorbenzyl)-N-methylhexanamid-hydrochlorid**

Das Produkt des Beispiels 108 (1,56 g) wurde nach der Methode des Beispiels 110 in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt, 1,4 g; DC Rf0,1 (9:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH mit 1 % Essigsäure).

Beispiel 115**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-amino-4-hydroxy-2-(m-chlorbenzyl)-N-methylhexanamid-hydrochlorid**

Das Produkt des Beispiels 109 (1,67 g) wurde nach der Methode des Beispiels 110 in quantitativer Ausbeute in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt (0,23 g größer als die Theorie); DC 0,1 (9:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH mit 1 % Essigsäure).

Beispiel 116**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-(t-butoxycarbonyl)-phenylalanyl-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)-histidyl]amino-4-hydroxy-2-(p-chlorbenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 110 (1,11 g, 0,0023 Mol) wurde unter Stickstoff mit 8 ml CH₂Cl₂ gerührt. Der Reihe nach wurden Triäthylamin (0,42 ml, 0,0030 Mol), das Produkt der Herstellung 1 (1,20 g, 0,0024 Mol), 1-Hydroxybenzotriazol (0,583 g, 0,0038 Mol) und Dicyclohexylcarbodiimid (0,495 g, 0,0024 Mol) zugesetzt und die Mischung während 24 Stunden gerührt. Die Reaktionsmischung wurde mit 25 ml CH₂Cl₂ verdünnt, mit 2 × 12 ml 1 N NaOH und 1 × 12 ml gesättigter NaCl gewaschen, getrocknet (Na₂SO₄) und zu einem Schaum eingengt, 1,31 g. Letzterer wurde an Kieselgel mit 19:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH als Elutionsmittel chromatographiert, wodurch das gereinigte Titelprodukt erhalten wurde, 0,70 g; DC Rf0,65 (18:2:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH:Essigsäure).

Beispiel 117**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-(t-butoxycarbonyl)-phenylalanyl-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)-histidyl]amino-4-hydroxy-2-(p-methylbenzyl)-N-methylhexanamid**

Die Methode des vorhergehenden Beispiels mit Ausnahme, daß die Reagentien bei 0°C vereinigt wurden, die Reaktionsmischung sich dann erwärmen konnte und 5:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH als Elutionsmittel bei der Chromatographie angewendet wurde, wurde benutzt, um das Produkt des Beispiels 111 (0,4 g) in das vorliegende Titelprodukt überzuführen, 0,60 g; DC Rf0,9 (18:2:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH:Essigsäure).

Beispiel 118**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-(t-butoxycarbonyl)-phenylalanyl-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)-histidyl]amino-4-hydroxy-2-(p-methoxybenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 112 (0,92 g, korrigiert wegen Reinheit) wurde nach der Methode des vorhergehenden Beispiels unter Verwendung von 20:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH als Elutionsmittel bei der Chromatographie in das vorliegende Titelprodukt in Form eines weißen Feststoffs umgewandelt, 0,73 g; DC Rf0,7 (9:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH), 0,85 (9:1 CH₂Cl₂:CH₃OH mit 1 % konzentriertem NH₄OH).

Beispiel 119**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-(t-butoxycarbonyl)-phenylalanyl-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)-histidyl]amino-4-hydroxy-2-(3,4-dichlorbenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 113 (1,22 g korrigiert wegen Reinheit) wurde nach der Methode des Beispiels 117 unter Verwendung von 24:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH als Elutionsmittel bei der Chromatographie in das vorliegende Titelprodukt umgewandelt, 1,08 g; DC Rf 0,75 (9:1 CHCl₃:C₂H₅OH).

Beispiel 120**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-(t-butoxycarbonyl)-phenylalanyl-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidyl]-amino-4-hydroxy-2-(o-chlorbenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 114 (1,33 g, korrigiert wegen Reinheit) wurde nach der Methode des Beispiels 119 in das chromatographierte Titelprodukt in Form eines weißen Feststoffs übergeführt, 1,02 g; DC Rf 0,55 (9:1 CH₂Cl₂:Äthylacetat mit 1 % Essigsäure).

Beispiel 121**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-[N-(t-butoxycarbonyl)-phenylalanyl-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)-histidyl]amino-4-hydroxy-2-(m-chlorbenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 115 (1,45 g, korrigiert wegen Reinheit) wurde nach der Methode des Beispiels 119 in das chromatographierte Titelprodukt in Form eines weißen gummiartigen Produkts übergeführt, 1,68 g; DC Rf 0,62 (9:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH mit 1 % Essigsäure).

Beispiel 122**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl-phenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(p-chlorbenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 116 (0,25 g) wurde mit 2 ml Eisessig und 0,5 ml H₂O vereinigt, unter N₂ während 8 Stunden gerührt und dann zur Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde mit 3 × 0,5 ml Toluol verrieben und dann in 3 × 5 ml Äther aufgeschlämmt, wobei jedesmal neuerlich eingedampft wurde, wodurch 83 mg Rohprodukt erhalten wurde. Letzteres wurde an 5 g einer gebundenen-Phase-Octadecylsilan (C₁₈) Umkehrphasen-Packung in einer 10 mm i. d. Kurzwegkolonne mit 1:1 CH₃OH:H₂O als initiale mobile Phase gereinigt. Das Rohprodukt wurde in 2 ml 1:1 CH₃OH:H₂O gelöst, filtriert und auf die Kolonne gegeben. Die Kolonne wurde mit 4 Kolonnenvolumina 1:1 CH₃OH:H₂O, 2 Kolonnenvolumina 6:4 CH₃OH:H₂O, 2 Kolonnenvolumina 7:3 CH₃OH:H₂O und 2 Kolonnenvolumina 8:2 CH₃OH:H₂O zur Entfernung der mehr polaren Verunreinigungen eluiert. Das Titelprodukt wurde mit 2 Kolonnenvolumina 9:1 CH₃OH:H₂O eluiert und als weißer Feststoff gewonnen, 30 mg; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) enthält delta (ppm) 1,28 (s, 9H, t-Butyl) und 6,99 (d, J = 7 Hz, 1H, Imidazol-Wasserstoff).

Beispiel 123**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonylphenyl-alanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(p-methylbenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 117 (100 mg) wurde nach der Methode des vorhergehenden Beispiels mit Ausnahme, daß das Produkt etwas später in 2 Kolonnenvolumina 100%igem CH₃OH eluiert wurde, in das gereinigte Titelprodukt in Form eines weißen Feststoffs übergeführt, 41 mg; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) delta (ppm) enthält 1,25 (s, 9H, t-Butyl), 6,83 (d, J = 12 Hz, 1H, Imidazol-Wasserstoff).

Beispiel 124**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl-phenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(p-methoxybenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 118 (0,362 g) wurde nach der Methode des vorhergehenden Beispiels in das vorliegende gereinigte Titelprodukt in Form eines weißen Feststoffs übergeführt, 0,126 g; DC Rf 0,55 (9:1 CH₂Cl₂:CH₃OH mit 1 % konzentriertem NH₄OH; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) delta (ppm) enthält 1,27 (s, 9H, t-Butyl), 2,42 (d, J = 4 Hz, 3H, NCH₃) und 3,66 (s, 3H, OCH₃).

Beispiel 125**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl-phenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(3,4-dichlorbenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 119 (1,08 g) wurde nach der Methode des Beispiels 122, ohne Chromatographie, in das vorliegende Titelprodukt in Form eines weißen Feststoffs übergeführt, 0,90 g; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) delta (ppm) enthält 1,29 (s, 9H, t-Butyl), 2,47 (d, J = 5 Hz, 3H, NCH₃).

Beispiel 126**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl-phenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(o-chlorbenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 120 (1,01 g) wurde nach dem Verfahren des vorhergehenden Beispiels in das rohe Titelprodukt übergeführt (0,48 g) und durch Chromatographie an Kieselgel unter Verwendung von 9:1 CH₂Cl₂:CH₃OH als Elutionsmittel gereinigt, 0,22 g; DC Rf 0,5 (9:1 CH₂Cl₂:CH₃OH mit 1 % konzentriertem NH₄OH); ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) delta (ppm) enthält 1,27 (s, 9H, t-Butyl), 2,45 (d, J = 4 Hz, 3H, NCH₃).

Beispiel 127**2R,4S,5S-6-Cyclohexyl-5-(t-butoxycarbonyl-phenylalanyl-histidyl)amino-4-hydroxy-2-(m-chlorbenzyl)-N-methylhexanamid**

Das Produkt des Beispiels 121 (0,94 g) wurde nach dem Verfahren des vorhergehenden Beispiels in das chromatographierte Titelprodukt in Form eines weißen Feststoffs übergeführt, 0,58 g; DC Rf 0,15 (9:1 CH₂Cl₂:C₂H₅OH mit 1 % Essigsäure); ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆) delta (ppm) enthält 1,27 (s, 9H, t-Butyl), 2,45 (d, J = 5 Hz, 3H, NCH₃).

Herstellung 1**N-alpha-[N-t-Butoxycarbonylphenylalanyl]-N(imidazol)-(butoxycarbonyl)histidin**

Eine Aufschlammung von 36,4 g L-Histidin-methylester-dihydrochlorid in Dichlormethan (1000 ml) wurde auf 5°C gekühlt und mit 52 ml Triäthylamin behandelt. Nach 10 Minuten wurden 40 g t-Butoxycarbonyl-phenylalanin zugesetzt, gefolgt von 1-Hydroxybenzotriazol (30,6 g) und, nach weiteren 5 Minuten, Dicyclohexylcarbodiimid (30,8 g). Die Mischung wurde dann filtriert und mit Dichlormethan gewaschen. Das mit der Waschflüssigkeit vereinigte Filtrat wurde vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand in 1000 ml Äthylacetat gelöst. Nachdem weitere 10 Minuten gerührt wurde, wurde die Mischung filtriert und das Filtrat mit 1 N NaOH (3 × 150 ml) und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und eingeeengt, wodurch 45,9 g des Zwischenproduktes t-Butoxycarbonyl-phenylalanyl-histidin-methylester als farbloser Feststoff erhalten wurden. Ohne weitere Reinigung wurden 40 g dieses festen Zwischenproduktes in 600 ml Methanol gelöst und mit 200 ml Wasser versetzt. Die Mischung wurde auf 0°C gekühlt und mit 40 g wasserfreiem Kaliumcarbonat behandelt. Nach Rühren während 2,5 Stunden bei 15–20°C und sodann während 1,5 Stunden bei 28°C wurde auf 10°C gekühlt und mit 12 N HCl auf pH 4,2 eingestellt. Die erhaltene Lösung wurde auf etwa 250 ml eingeeengt und mit 70 ml Wasser versetzt, gefolgt von 660 ml Dioxan. Bei 0°C wurde der pH auf 13,5 gebracht, und 29 ml Di-(t-butyl)dicarbonat wurden zugesetzt. Nach 30 Minuten (während welcher Zeit die Temperatur auf 20°C erhöht wurde) hat sich der pH auf 9,5 erniedrigt, und es wurden 10 ml Di-(t-butyl)dicarbonat zugesetzt. Nach einer weiteren Stunde war der pH 8,0 und die Reaktion war vollständig. Die Mischung wurde eingeeengt, um das Dioxan zu entfernen und 300 ml Wasser wurden zugesetzt. Die Mischung wurde zweimal mit Äther gewaschen. Äthylacetat (500 ml) wurde zugesetzt und der pH mit konzentrierter HCl bei 10°C auf 1,2 gebracht. Die organische Schicht wurde abgetrennt und die wäßrige Schicht zweimal mit Äthylacetat gewaschen. Die Äthylacetatschichten wurden vereinigt mit Wasser und gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und eingeeengt, was nach mehrmaligem Abdampfen zusammen mit Äther und Trocknen bei 25°C bis zur Gewichtskonstanz einen farblosen Schaum von 44 g Gewicht lieferte. Hochdruckflüssigkeitschromatographie mit 60/40 MeCN/pH 2,1 0,1 M Phosphat an Zorbax 25 cm × 4,6 mm bei 214 nm, 1,5 ml/min, Retentionszeit 3,23 Minuten (94% der Gesamtabsorption bis 10 Minuten); ¹H-NMR (CDCl₃) ppm: 1,40 (s, 9H, C(CH₃)₃), 1,60 (s, 9H, C(CH₃)₃), 3,0–3,4 (m, 4H, CH₂), 4,40 (m, 1H), 4,71 (m, 1H), 5,32 (m, 1H), 6,89 (br, 1H), 8,13 (s, 1H), 7,1–7,4 (m, 7H).

Herstellung 2**1,5-Di(benzyloxycarbonylamino)pentan**

Unter N₂ wurde 1,5-Diaminopentan (2,86 ml, 2,5 g, 0,0245 Mol) in 50 ml CH₂Cl₂ gelöst und auf 0°C gekühlt. Unter Rühren wurde tropfenweise unter Aufrechterhaltung der Temperatur in der Nähe von 0°C Benzyloxycarbonylchlorid (3,67 ml, 4,17 g, 0,0245 Mol) zugesetzt. Die Mischung wurde auf Raumtemperatur erwärmt, mit 2 × 50 ml 5%iger HCl, 1 × 50 ml gesättigter NaHCO₃ und 1 × 50 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt als weißer Feststoff erhalten wurde, 4 g; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 5,2 ppm (s, 4H, zwei Benzyl-CH₂-Gruppen). Die Ausbeute wird durch die Verwendung von zwei Moläquivalenten Säurechlorid stark erhöht.

Herstellung 3**5-(Benzyloxycarbonylamino)pentylamin-hydrobromid**

Unter Stickstoff wurde das Produkt der vorhergehenden Herstellung (4,0 g, 0,0108 Mol) in CH₂Cl₂ (11 ml) und Äther (5,4 ml) aufgeschlämmt. 30%iges HBr in Essigsäure (2,7 ml) wurde unter Rühren zugesetzt. Innerhalb 2 Minuten begannen sich aus der erhaltenen Lösung Feststoffe auszuscheiden. Nach 20 Minuten wurden 5 ml Äther zugesetzt, und das Titelprodukt wurde durch Filtration und Waschen mit Äther gewonnen, 2,7 g. ¹H-NMR (CD₃OD) enthält delta 5,2 ppm (s, 2H, Benzyl-CH₂).

Herstellung 4**N-alpha-Methylhistidin-methylester-dihydrochlorid**

N-alpha-Methylhistidin (Reinhold et al., J. Med. Chem. 11, S. 258, 1968, 4,0 g 0,0195 Mol) wurde bei 0°C in 40 ml Methanol aufgeschlämmt, trockene HCl während 8 Minuten eingeleitet (nach 3 Minuten trat Lösung ein), während 4 Stunden zum Rückfluß erhitzt und mit Äther zusammen vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt als weißes Pulver erhalten wurde, 4,94 g.

Herstellung 5**N-alpha-Methyl-N-alpha-[N-(t-butoxycarbonyl)-phenylalanyl]histidin-methylester**

Das Produkt der vorhergehenden Herstellung (1,6 g, 0,0087 Mol), N-(t-Butoxycarbonyl)phenylalanin (2,55 g, 0,096 Mol), 1-Hydroxybenzotriazol (2,44 g, 0,016 Mol) und Dicyclohexylcarbodiimid (1,98 g, 0,0096 Mol) wurden bei 0°C während 4 Stunden in 10 ml CH₂Cl₂ vereinigt. Die Reaktionsmischung wurde mit 10 ml frischem CH₂Cl₂ verdünnt und filtriert, um ein erstes festes Produkt zu erhalten. Das Filtrat wurde vom Lösungsmittel befreit, der Rückstand in 15 ml Äthylacetat aufgenommen und abermals zur Gewinnung eines zweiten festen Produktes filtriert. Das zweite Filtrat wurde mit 2 × 7,5 ml 1 N NaOH und 1 × 7,5 ml H₂O gewaschen, worauf nach Kühlen auf 0°C ein drittes festes Produkt durch Filtration abgetrennt wurde. Das dritte Filtrat wurde zur Trockene eingedampft und der Rückstand mit Äthylacetat verrieben, was ein viertes festes Produkt lieferte. Die ersten und zweiten Feststoffe (DCU) wurden verworfen. Die dritten und vierten Feststoffe, enthaltend sehr wenig DCU, wurden vereinigt, wobei 2,47 g Titelprodukt erhalten wurden.

Herstellung 6**N-alpha-Methyl-N-alpha-[N-(t-butoxy-carbonyl)phenylalanyl]histidin**

Das Produkt der vorhergehenden Herstellung (2,32 g, 0,054 Mol) in 70 ml Aceton und 20 ml H₂O wurde während 3,5 Stunden mit 1,1 N NaOH (5,4 ml, 1,1 Äquivalente) hydrolysiert. Das Aceton wurde abgedampft und der wäßrige Rückstand mit verdünnter HCl auf pH 5,8 eingestellt. Die erhaltene Lösung des Titelproduktes wurde ohne Isolierung in der nächsten Stufe verwendet.

Herstellung 7**N-alpha-Methyl-N-alpha-[N-t-butoxycarbonyl]-phenylalanyl-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidin**

Die gesamte Lösung des Produkts von der vorhergehenden Herstellung wurde mit H₂O auf 30 ml verdünnt und mit 30 ml Dioxan weiter verdünnt und auf 0°C gekühlt. Der pH wurde mit verdünnter NaOH auf 11,0 eingestellt, und Di(t-butoxy-carbonyl)anhydrid [(t-Boc)₂O; 1,61 ml, 0,007 Mol, ca. 1,3 Äquivalente) wurde zugesetzt und die Temperatur während einer Stunde bei 0°C gehalten und dabei ein pH von 8,5–11,0 durch Zusatz von verdünnter NaOH aufrechterhalten. Das Bad wurde entfernt, zusätzliche 0,5 ml Anhydrid zugesetzt und der pH rasch bei 10,5 stabilisiert. Das Dioxan wurde abgedampft und der wäßrige Rückstand mit 2 × 30 ml Äthylacetat gewaschen. Die vereinigten organischen Schichten wurden mit 1 × 30 ml H₂O rückgewaschen und die Waschflüssigkeit mit der ursprünglichen wäßrigen Schicht vereinigt, mit 50 ml frischem Äthylacetat bedeckt und der pH mit verdünnter HCl auf 1,4 eingestellt. Die saure Äthylacetatschicht wurde abgetrennt, mit einer weiteren 30 ml Äthylacetat-Waschflüssigkeit der sauren wäßrigen Schichten vereinigt, mit 30 ml frischem H₂O rückgewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und zusammen mit Äther vom Lösungsmittel befreit, wodurch das Titelprodukt erhalten wurde, 1,9 g.

Herstellung 8**N-alpha-(2-Benzyl-3-phenylpropionyl)-histidin-methylester**

Unter Stickstoff wurden 2-Benzyl-3-phenylpropionsäure (Dibenzylessigsäure, 5,0 g, 0,0208 Mol) und Histidin-methyl-ester-dihydrochlorid (4,72 g, 0,0208 Mol) in 100 ml CH₂Cl₂ vereinigt und auf 0°C gekühlt. Dicyclohexylcarbodiimid (4,29 g, 0,0208 Mol) und dann N-Methylmorpholin (4,58 ml, 0,0416 Mol) wurden zugesetzt und die Mischung gerührt, auf Raumtemperatur erwärmen gelassen und während 16 Stunden gerührt. Unlösliches Material wurde durch Filtration entfernt, das Filtrat mit 2 × 100 ml H₂O, 2 × 100 ml gesättigter NaHCO₃ und 1 × 100 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und zu einem Rückstand von 6,8 g Gewicht eingedampft. Der Rückstand wurde an 600 g Kieselgel unter Verwendung von 99:1 CHCl₃:CH₃OH als Elutionsmittel chromatographiert, wodurch das gereinigte Titelprodukt erhalten wurde, 4,5 g; ¹H-NMR (CDCl₃) delta enthält 3,8 (s, 3H, OCH₃).

Herstellung 9**N-alpha-(2-Benzyl-3-phenylpropionyl)-N(imidazol)-(t-butoxycarbonyl)histidin**

Das Titelprodukt der vorhergehenden Herstellung (4,5 g, 0,0108 Mol) und K₂CO₃ (4,66 g, 0,0378 Mol) wurden in 25 ml CH₃OH und 8 ml H₂O vereinigt und 16 Stunden gerührt. Das Methanol wurde abgedampft und der wäßrige Rückstand mit 25 ml Dioxan und 15 ml H₂O verdünnt. Die Mischung und Di-(t-butyl)dicarbonat (2,8 g, 0,013 Mol) wurden 16 Stunden gerührt. Das Dioxan wurde abgedampft und der basische wäßrige Rückstand mit 20 ml Äther extrahiert, mit 5%iger HCl auf pH 2,5 eingestellt und mit 30 ml frischem Äther extrahiert. Die letztere organische Schicht wurde mit gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wurde mit 15 ml 1:1 Äther:Hexan verrieben und filtriert, wodurch das Titelprodukt erhalten wurde, 1,6 g; ¹H-NMR (CDCl₃) enthält delta 1,6 (s, 9H, C(CH₃)₃).